

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica



**ELABORACIÓN DE UN MEDIO DE CULTIVO (GEL ESTRATIFICADO)
PARA LA ANIDACIÓN Y DESARROLLO DE *Dactylopius coccus Costa*
(COCHINILLA) PARA LA OBTENCIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO EN
CONDICIONES DE LABORATORIO**

Tesis presentada por la Bachiller:

Lacunza Murillo, Miriam Fabiola

Para optar el Título Profesional de
Ingeniero Biotecnólogo

Asesor:

Blgo. Paz Aliaga, Carlos Eitel Ivan

AREQUIPA - PERU

2018

UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Programa Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Expediente N°. 14013593
N° Trámite en Fac. 202-2014
Fecha Recep. Fac. 18-03-2014

FORMATO UNICO PARA TRAMITACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

DE: LACUNZA MURILLO, Miriam Fabiola

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO BIOTECNOLOGO

"ELABORACION DE UN MEDIO DE CULTIVO (GEL ESTRATIFICADO) PARA EL DESARROLLO Y ANIDACION DE *Dactylopius coccus* C. (COCHINILLA) EN LA CONDICION DE LABORATORIO "in vitro"

DICTAMINADORES: 1) *Ig. Cinthia Córdova Barrios* 2) *Ing. Jaime Barreda del Carpio*

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, el Jurado Dictaminador del Plan de Tesis presentado por la recurrente, cumplimos con informar que se ha revisado, formulado las observaciones y corregido, debiendo cambiar el título a: "ELABORACION DE UN MEDIO DE CULTIVO (GEL ESTRATIFICADO) PARA LA ANIDACION, DESARROLLO Y REPRODUCCION DE *Dactylopius coccus* Costa (COCHINILLA) PARA LA OBTENCION DE CARMIN EN CONDICIONES DE LABORATORIO", luego de lo cual consideramos que se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente

FIRMAS: (Devolver antes de 8 días hábiles) FECHA 08-05-14

ASESOR: *Blgo. Carlos Eitel Ivan Paz Aliaga*

DICTAMEN ASESORÍA: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como asesor del trabajo de investigación presentado por la recurrente, tengo a bien informar que luego de verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes y debiendo cambiar el título a: "ELABORACION DE UN MEDIO DE CULTIVO (GEL ESTRATIFICADO) PARA LA ANIDACION Y DESARROLLO DE *Dactylopius coccus* Costa (COCHINILLA) PARA LA OBTENCION DE ACIDO CARMINICO EN CONDICIONES DE LABORATORIO", considero que el presente trabajo está APTO para continuar con el trámite, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.

Atentamente

FIRMA FECHA 22-12-15

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

1) *Dr. José Villanueva Salas* 3) *Mgter. Jaime Barreda del Carpio*
2) *Dr. Jaime Cárdenas García*

DICTAMEN FINAL: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, atendiendo a su designación como Dictaminadores del presente Borrador de Tesis sugiriendo se cambie el título a: "ELABORACION DE UN MEDIO DE CULTIVO (GEL ESTRATIFICADO) PARA LA ANIDACION Y DESARROLLO DE *Dactylopius coccus* Costa (COCHINILLA) PARA LA OBTENCION DE ACIDO CARMINICO EN CONDICIONES DE LABORATORIO", y luego de hechas las observaciones y correcciones pertinentes, cumpliendo con las exigencias mínimas establecidas para un trabajo de investigación de Tesis profesional, por lo que consideramos APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente

FIRMA (Devolver antes de 15 días hábiles) FECHA 18/04/18

JURADOS: PRESIDENTE: *Dr. José Villanueva Salas*

VOCAL *Dr. Jaime Cárdenas García*

SECRETARIO: *Mgter. Jaime Barreda del Carpio*

FECHA 02/05/18 HORA 19.05 LOCAL SUM C-402

FIRMA DEL DECANO

FECHA 26/04/18

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
RESUMEN	X
ABSTRACT.....	XII
INTRODUCCIÓN.....	XIII
HIPÓTESIS.....	XV
OBJETIVOS.....	XVI
OBJETIVO GENERAL.....	XVI
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	XVI
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	1
1.1 Origen y Generalidades de <i>Opuntia ficus-indica</i>	2
1.1.1 Etimología.....	2
1.1.2 Nombres Comunes	2
1.1.3 Clasificación Taxonómica.....	3
1.1.4 Descripción Botánica <i>Opuntia ficus-indica</i>	4
1.3 Características Morfológicas.....	5
1.3.1 El Tallo.....	5
1.3.2 Cladodios	5
1.3.3 Hojas	6
1.3.4 Flores	7
1.3.5 Fruto.....	7
1.4 Condiciones Agroecológicas de <i>Opuntia ficus-indica</i>	8
1.4.1 Importancia y Usos de la <i>Opuntia ficus-indica</i>	9
1.5 Origen y Generalidades de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	10
1.5.1 Etimología.....	11
1.5.2 Nombres Comunes	11
1.5.3 Clasificación Taxonómica.....	11
1.6 Morfología de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	12
1.7 Ciclo Biológico	13
1.7.1 Huevo.....	16
1.7.2 Ninfa I.....	16

1.7.3 Ninfa II.....	17
1.7.4 Hembra adulta <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla).....	18
1.7.5 Pre pupa, pupa y macho adulto <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla).....	19
1.8 Parámetros biológicos y daños en las plantas	20
1.9 Condiciones Agro Ecológicas	21
1.10 Métodos de Infestación	22
1.10.1 Infestación Natural.....	23
1.10.2 Infestación Artificial	23
1.10.2.1 Métodos de Tul o Bolsitas.....	23
1.10.2.2 Métodos de la Penca	24
1.10.2.3 Métodos de la Gasa o Paño	24
1.11 Producción de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	24
1.12 Cosecha de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla).....	25
1.13 Clasificación de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	25
1.14 Usos de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	26
1.15 Ácido carmínico	27
1.15.1 Descripción General	27
1.15.2 Fórmula del ácido carmínico.....	28
1.15.3 Subproducto de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	28
1.15.4 Exportación de Carmín	29
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
2.1 Materiales.....	32
Material Biológico.....	32
Material de Vidrio	32
Equipos	32
Reactivos.....	33
Otros	33
2.2 Recolección de la muestra de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	34
2.2.1 Ubicación	34
2.2.2 Situación Geográfica y Climática.....	35
2.2.3 Recolección de la muestra.....	35
2.2.4 Traslado y almacenamiento de la muestra	35

2.3 Elaboración de Contenedores.....	36
2.3.1 Cámara	36
2.3.2 Contenedores que soporten el gel.....	36
2.4 Medio de Cultivo.....	37
2.4.1 Preparación del Medio de Cultivo	37
2.4.1.1 Hartina de nopal <i>Opuntia ficus-indica</i>	37
2.4.1.2 Agar - Agar.....	39
2.4.1.3 Extracción de Mucilago de nopal <i>Opuntia ficus-indica</i>	40
2.4.2 Elaboración del Medio de Cultivo.....	42
2.5 Anidación y Crecimiento de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla).....	43
2.5.1 Infestación Inducida.....	43
2.5.2 Monitorio Macroscópico.....	44
2.6 Secado de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla).....	45
2.7 Determinación del porcentaje del ácido carmínico	45
2.8 Métodos de Análisis Físico - Químicos para <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla).....	46
2.8.1 Tamizado.....	46
2.8.2 Impurezas	48
2.8.3 Humedad	48
2.8.4 Extracción de grasas	49
2.8.5 Análisis de Ácido Carmínico (Método FCCII).....	51
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
3.1 Fase de Establecimiento del medio de cultivo utilizado como soporte.....	54
3.1.1 Establecer concentración del Agar - Agar como integrante del medio de cultivo	54
3.1.2 Establecer concentración de Harina de Tuna <i>Opuntia ficus-indica</i> como integrante del medio de cultivo	55
3.1.3 Concentración del mucilago de nopal <i>Opuntia ficus-indica</i> como integrante del medio de cultivo.....	56
3.2 Anidación y crecimiento de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla).....	61
3.2.1 Identificación Macroscópica	61
3.3 Determinación del Porcentaje del ácido carmínico	63
3.3.1 Resultados experimentales obtenidos	63

3.4 Evaluación de las Características Físico - Químicas de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla).....	65
CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES.....	66
4.1 Conclusiones	67
4.2 Recomendaciones	68
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
ANEXOS.....	74
Anexo 1 Fórmulas esctructurales propuestas para carmín	75
Anexo 2 Represetnación esquemática de la forma, superficie y bordes de diferentes tipos de colonias bacterianas desarrolladas sobre medio sólidos.....	78
Anexo 3 Fotos Cultivo en Campo, distrito de La Joya, provincia Arequipa - Perú	79
Anexo 4 Certificado de identificación de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	83
Anexo 5 Informe de ensayo físico químico de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla), muestra de campo distrito de La Joya, provincia de Arequipa - Perú.....	84
Anexo 6 Informe de ensayo físico químico de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) muestra de laboratorio	86



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1 Estructura morfológica <i>Opuntia ficus-indica</i>	3
Figura 1-2 Descripción de <i>Opuntia ficus-indica</i> ; a) hábito; b) cladodio; c) aréola del cladodio; d) flor; e) aréola de la flor; f) sección longitudinal de la flor; g) fruta; h) vista dorsal de la semilla; i) vista ventral de la semilla. Extraído de: Agrocienza (2005)	4
Figura 1-3 Parámetros morfo métricos del cladodio de <i>Opuntia ficus-indica</i> ; a) largo; b) ancho; c) perímetro y d) grosor. Extraído de: Cultivo de la tuna (2009)	6
Figura 1-4 Hojas del Cladodio de <i>Opuntia ficus-indica</i> ; a) cladodios mostrando las aréolas y espinas; b) cladodios tiernos mostrando las hojas caducas. Extraído de: Cultivo de la tuna (2009)	6
Figura 1-5 Diversidad de tonalidades y colores de las flores de <i>Opuntia ficus-indica</i> . Extraído de: Cultivo de la tuna (2009)	7
Figura 1-6 Fruto de <i>Opuntia ficus-indica</i> ; a) planta tuna con frutos en distintas fases de maduración; b) diversidad de formas y colores de los frutos de tuna; c) cáscaras y pulpa gelatinosa de los frutos tuna. Extraído de: Cultivo de la tuna (2009)	8
Figura 1-7 Insecto <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	12
Figura 1-8 Grupo de poros presentes en <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010)	13
Figura 1-9 Hemra adulta <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010)	13
Figura 1-10 Ciclo biológico de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: IDESI Ayacucho – FONCODES. cartilla tecnología productiva tuna y cochinilla (2003) Elaboración: Solid Perú (2007)	14
Figura 1-11 Huevos de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010)	16
Figura 1-12 Ninfa I de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010)	17
Figura 1-13 Hemra adulta <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010)	18
Figura 1-14 Capa pulverulencia cérica en Hemra adulta <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010)	18

Figura 1-15 Pre pupa <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010)	19
Figura 1-16 Macho adulto <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010).....	19
Figura 1-17 Evolución de los estados de desarrollo de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) en Segart, Sierra Calderona – Valencia Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010).....	20
Figura 1-18 Estructura del Ácido Carmínico.....	28
Figura 1-19 Destino de la exportación de carmín de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) 2016 - Agrodaperú.....	30
Figura 2-1 Cámara Cerrada	36
Figura 2-2 Contenedor para el soporte del gel.....	36
Figura 2-3 <i>Opuntia ficus-indica</i> Cladodios limpios y cortados.....	37
Figura 2-4 Diagrama de flujo para la obtención de harina de <i>Opuntia ficus-indica</i> (nopal). Extraído de: Sepulveda et.al (1995)	38
Figura 2-5 Elaboración de harina de <i>Opuntia ficus-indica</i>	39
Figura 2-6 Elaboración de medio de cultivo	40
Figura 2-7 Diagrama de flujo para la extracción del mucilago de <i>Opuntia ficus-indica</i> (nopal). Extraído de: Abraján M. (2008)	40
Figura 2-8 Proceso de extracción de Mucilago de <i>Opuntia ficus-indica</i>	41
Figura 2-9 Esquema del medio de cultivo (gel estratificado) para la anidación del insecto <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochiilla)	42
Figura 2-10 Pencas <i>Opuntia ficus-indica</i> infestadas con <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) provenientes del distrito de La Joya, Arequipa – Perú	43
Figura 2-11 Insectos <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) anidando el medio de cultivo (gel estratificado).....	45
Figura 2-12 Insectos <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) en procesode secado.....	45
Figura 3-1 Gráfica compatativa del medio de cultivo (gel estratificado) incorporando mucilago de <i>Opuntia ficus-indica</i>	57
Figura 3-2 Gráfica compatativa del ancho y longitud de crecimiento de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) en las tres experimentaciones durante las 15 semanas	59

Figura 3-3 Gráfica comparativa de longitud de crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en las tres experimentaciones durante las 15 semanas60

Figura 3-4 Gráfica comparativa de ancho de crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en las tres experimentaciones durante las 15 semanas61



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1 Condiciones agroecológicas de <i>Opuntia ficus-indica</i> . Extraído de: Conociendo la cadena productiva de la tuna y cochinilla en Ayacucho	9
Tabla 1-2 Utilización de <i>Opuntia ficus-indica</i> (nopal). Extraído de: Conociendo la cadena productiva de la tuna y cochinilla en Ayacucho.....	10
Tabla 1-3 Medidas tomadas a los distintos estados de desarrollo de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) sobre <i>Opuntia ficus-indica</i> (nopal) con los resultados Guerra (1991). El número de individuos medidos ha oscilado entre 2 y 13 Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010).....	15
Tabla 1-4 Condiciones agro ecológicas para la producción de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: Bustamante (2006).....	21
Tabla 1-5 Flujo de proceso productivo de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla). Extraído de: Equipo Solid Perú, resultados análisis de la información recogida (2007)	26
Tabla 1-6 Características del extracto colorante de <i>Dactylopius coccus</i> (cochinilla). Extraído de: Gibaja, 1998	29
Tabla 2-1 Diagrama de bloques del proceso de experimentación.....	33
Tabla 2-2 Situación geográfica y climática. Extraído de: Estudios de las variables meteorológicas en el desierto de La Joya, Arequipa - Perú.....	35
Tabla 2-3 Composición del medio de cultivo (gel estratificado) para la anidación de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)	42
Tabla 2-4 Ciclo de Desarrollo de la hembra de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) Extraído de: Marin y Cisneros	44
Tabla 3-1 Identificación del peso del Agar – Agar para la consistencia del medio de cultivo	55
Tabla 3-2 Identificación del peso de la harina de <i>Opuntia ficus-indica</i> como ingrediente del medio de cultivo	55
Tabla 3-3 Identificación del medio de cultivo (gel estratificado) incorporando mucilago de <i>Opuntia ficus-indica</i>	56
Tabla 3-4 Promedio de medidas biométricas del largo y ancho del insecto <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) bajo condiciones de laboratorio	57

Tabla 3-5 Medidas biometricas del primer ensayo (largo y ancho) del insecto <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) bajo condiciones de laboratorio.....	58
Tabla 3-6 Medidas biometricas del segundo ensayo (largo y ancho) del insecto <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) bajo condiciones de laboratorio.....	58
Tabla 3-7 Medidas biometricas del tercer ensayo (largo y ancho) del insecto <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) bajo condiciones de laboratorio.....	58
Tabla 3-8 Comparación de la longitud del crecimiento de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) en los tres medios de cultivo durante las 15 semanas de experimentación .	59
Tabla 3-9 Comparación del ancho del crecimiento de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) en los tres medios de cultivo durante las 15 semanas de experimentación .	60
Tabla 3-10 Comparación del crecimiento de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) tomando como modelo la medición estándar del insecto de campo, distrito de la La Joya, provincia de Arequipa – Perú	61
Tabla 3-11 Medición del crecimiento de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) de campo, distrito de la La Joya, provincia de Arequipa – Perú	62
Tabla 3-12 Identificación marcrocópica de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) de campo, distrito de la La Joya, provincia de Arequipa – Perú	62
Tabla 3-13 Resultados de la absorción en proporción del peso de la muestra para la muestar de campo, distrito de la La Joya, provincia de Arequipa – Perú	63
Tabla 3-14 Porcentaje del ácido carminico para la muestra de campo, distrito de la La Joya, provincia de Arequipa – Perú	64
Tabla 3-15 Resultados de la absorción en proporción al peso de la muestra para la muestra de laboratorio	64
Tabla 3-16 Obtención de ácido carmínico para la muestra de laboratorio	64
Tabla 3-17 Composición físico – químico de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) en la fase seca	65

RESUMEN

Dentro de la familia *Dactylopiidae* se encuentra la especie cuyo nombre científico es *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). Estos son más conocidos por su pigmento rojo que contiene su cuerpo y por ser utilizadas como agentes de control biológico de ciertas especies de *Opuntia*. El insecto se instala, como parásito en las hojas de la *Opuntia ficus-indica* (tuna), de cuya savia se nutre. Su alimentación es de tipo fitófago, por medio de sus largas trompas, que separadas de su huésped original, no vuelven jamás a adherirse.

La importancia de la presente investigación se basa en encontrar una alternativa para la producción de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) evitando la contaminación de plagas o la presencia de enfermedades que impidan su ciclo de desarrollo. En ese sentido se buscó la elaboración de un gel estratificado que permitiera proveerle los medios nutricionales adecuados para su anidación y crecimiento del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). Frente a esto fue necesario establecer un ambiente cerrado (cámara de crianza) a una temperatura ambiente. Seguidamente se

implementó el soporte del gel estratificado para lo cual fue necesario utilizar una jarra y un filtro de estructura metálica tipo panel con 11 cm de diámetro, el cual cumplía la función de soportar el medio de cultivo. En cuanto a la jarra medidora se adaptó una bomba, la cual tenía como función recircular el líquido de nopal.

Una vez que el insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) anido en el gel estratificado se procedió hacer un seguimiento del ciclo biológico cultivado bajo condiciones de laboratorio. Así mismo para la identificación del insecto fue necesaria su observación macroscópica por un estereoscopio, reconociendo su color rojo – violeta y su textura blanda. En cuanto a su crecimiento se hicieron lecturas de sus medidas biométricas dando como promedio de longitud de 1.04 mm y de ancho 0.42 mm. Finalmente se determinó el porcentaje de ácido carmínico en *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), el cual dio un porcentaje de 25%.

Palabras Claves: *Dactylopius coccus* (cochinilla), anidación, colorantes naturales, gel estratificado, ácido carmínico, tuna



ABSTRACT

Within the family *Dactylopiidae* is the species whose scientific name is *Dactylopius coccus Costa* (cochineal). These are best known for their red pigment that contains their body and for being used as biological control agents of *Opuntia* species. The insect is installed, as a parasite on the leaves of *Opuntia ficus-indica* (tuna), whose sap is nourished. Its feeding is of type of adjustment, by means of its long horns, that separated of its original guest, without never returning to adhere.

The importance of the research is based on finding an alternative for the production of *Dactylopius coccus Costa* (cochineal) avoiding the contamination of the particles or the presence of diseases that impede its development cycle. In this sense, the elaboration of a stratified gel was sought that would provide the adequate nutritional means for its nesting and growth of the insect *Dactylopius coccus Costa* (cochineal). Against this it was necessary to establish a closed environment (aging chamber) at an ambient temperature. Next, implement the stratified gel support so that it is necessary, use a jar and a filter of metal structure type panel with 11 cm of diameter, which fulfills the function of supporting the culture medium. As for the measuring jug, a pump was adapted, which had the function of recirculating the cactus liquid.

Once the insect *Dactylopius coccus Costa* (cochineal) was nested in the stratified gel, the biological cycle cultivated under laboratory conditions was followed up. Likewise, for the identification of the insect, its macroscopic observation was necessary by a stereoscope, recognizing its red - violet color and its soft texture. In terms of growth, the readings of its biometric measurements are on average 1.04 mm and 0.42 mm wide. Finally, the percentage of carminic acid in *Dactylopius coccus Costa* (cochineal) was determined, which gave a percentage of 25%.

Key Words: *Dactylopius coccus Costa* (cochineal), nesting, natural dyes, stratified gel, carminic acid, tuna

INTRODUCCIÓN

Dentro del universo de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) comprende el mundo biológico del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) y de su hospedero *Opuntia ficus-indica* (nopal), el proceso productivo de comercialización, los factores geográficos que determinan su productividad y las relaciones sociales de producción que se establecen en torno a *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). (1)

Al insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se le conoce como cochinilla fina o grana, el cual es utilizado como fuente de pigmento el carmín, cuyo colorante es ácido carmínico. Se debe mencionar que el ácido carmínico es muy apreciado sobre todo por sus extraordinarias cualidades de resistencia a la luz y temperatura. El ácido carmínico producido por *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) fina tiene actualmente una gran demanda en el mundo por su inocuidad en salud pública, su alta estabilidad y su poder como colorante. En la antigüedad el uso de este pigmento se consideraba milenario en América, por lo cual se le denominaba el oro rojo. (2)

Los estudios más recientes sobre el origen de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) sostienen la hipótesis que es de origen sudamericano basándose en teorías ecológicas y mediante un análisis filogenético. Este insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se hospeda exclusivamente en plantas cactáceas siendo la más común *Opuntia ficus-indica*. (3)

En la actualidad *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) es cultivada en varios países, pero su principal productor a nivel mundial es Perú. Perú abastece el 90% de la demanda mundial, de la cual Arequipa provee el 70% de materia prima, luego están Nazca, Lima y Ayacucho. El carmín es el principal producto exportado que tiene como destinos Dinamarca, EE.UU. y Brasil. (4)

En años recientes, el uso de colorantes sintéticos en productos de consumo humano se ha visto asociado a daños a la salud, dentro de los cuales podemos mencionar el rojo ponceau 4R- (E 124), rojo allura AC (E 129), litol rubina BK (E 180), azorrubina

carmoisina (E 122) y amaranto (E 123) Por esta razón existe una marcada tendencia mundial a sustituir dichos colorantes por los de origen natural. El uso del ácido carmínico se ha extendido a tinciones histológicas, bacteriológicas, fotografía y a la elaboración de pinturas. (5)

Solo el 34% de las empresas peruanas (medianas y grandes) produce casi el 60% de la producción nacional. De tal manera que todos los productos derivados de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), por ser sustancias no tóxicas ni cancerígenas, sustituyen a los colorantes sintéticos rojos, prohibidos principalmente en alimentos, cosméticos y medicamentos. (6)

Si bien es cierto, la demanda tanto nacional como internacional se ha venido deteriorando por la inestabilidad en los precios debido a la especulación en toda la cadena, con lo cual pone en una situación difícil a los productores y a la exportación de sus derivados (carmín y ácido carmínico). La producción intensiva y formalizada de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), podría ser una alternativa para mejorar los escasos ingresos de los habitantes de las zonas áridas y semiáridas de nuestro país.

El presente trabajo pretende elaborar un gel estratificado a nivel in vitro que permita el desarrollo de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) bajo condiciones controladas evitando de esta forma el debilitamiento continuo de la *Opuntia ficus-indica* por la constante producción.

Hipótesis

Si *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) requiere de un soporte que le brinde los nutrientes para su crecimiento y desarrollo, es posible mejorar sus condiciones de crecimiento y multiplicación utilizando un medio de cultivo consistente mediante un gel estratificado en condiciones ambientales controladas.

Objetivos

Objetivo general

Elaborar un medio de cultivo (gel estratificado) para la anidación y desarrollo del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) para la obtención de ácido carmínico en condiciones de laboratorio.

Objetivos específicos

1. Elaborar un gel estratificado como medio para la anidación y desarrollo del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla).
2. Evaluar las medidas biométricas de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) durante su anidación y crecimiento en el gel estratificado.
3. Determinar el porcentaje de ácido carmínico en *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) bajo condiciones de campo y laboratorio.



CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Origen y generalidades de *Opuntia ficus-indica*

La tuna pertenece a la familia cactácea, la cual es nativa de México, donde fue domesticada. El centro primitivo de diferenciación de las cactáceas fue el Golfo de México y el Caribe, desde donde emigraron para constituir las dos zonas geográficas actuales: América del Norte y América del Sur. Esta planta habita en zonas áridas y semiáridas. En el Perú se encuentra en las regiones andinas, donde se desarrolla en forma espontánea y abundante. Existen alrededor de 250 especies de cactus, aunque la única que se cultiva es *Opuntia ficus - indica* por ser empleada con fines de alimentación humana y animal, preparaciones antidiabéticas y utilizada como hospedante del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). (7)

La penca de la tuna *Opuntia ficus indica* crece en valles interandinos del Perú entre los 1800 a 2700 metros sobre el nivel del mar. La especie *Opuntia ficus-indica* se adapta a zonas áridas caracterizadas por condiciones secas, lluvias erráticas y suelos pobres expuestos a la erosión. El proceso de domesticación de esta especie se orientó a la producción de plantas con cladodios sin espinas y frutos grandes y dulces. En el siglo XVI la especie *Opuntia ficus-indica* fue llamativo para los españoles debido a su morfología, propiedades antiescorbúticas, sus frutos comestibles y por ser hospedante del insecto *Dactylopius coccus Costa*.(cochinilla). (8)

1.1.1 Etimología

El nombre del género *Opuntia* fue asignado por Tournefort en 1700 por la semejanza a una planta espinosa oriunda en Opus, Grecia. El nombre *ficus indica* había sido usado en “frases diagnósticas ya mucho antes por Linneo, para designar varias especies. (9) (10)

1.1.2 Nombres comunes

La *Opuntia ficus-indica* (tuna) es conocida con diferentes nombres en varios lugares

del mundo: “tunera”, “nopal”, “chumbo”, “higo español”, “higo de india”, “tuna sin espina”, “tuna sin espina”. (11)

1.1.3 Clasificación taxonómica

En el libro “Oro Rojo en el Perú” de Bustamante publicado en el año 2006 establece la clasificación taxonómica de la tuna, la cual se muestra en la Figura N° 1-1. (11) (12)

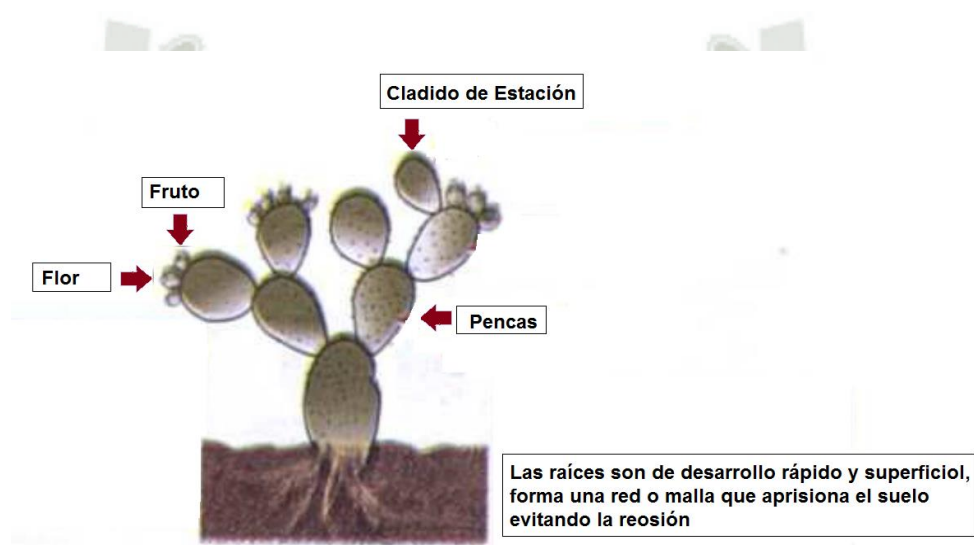


Figura 1-1 Estructura morfológica *Opuntia ficus-indica*

Reino	: Vegetal
División	: Antophyta
Clase	: Dicotiledónea
Subclase	: Archyclamidea o Coripétala
Orden	: Opuntiales (Cactales)
Familia	: Opuntiaceae (Cactáceas)
Género	: <i>Opuntia</i>
Especie	: <i>O. ficus-indica</i>
Sub especie	: <i>Opuntia megacabtha</i> (tuna sin espina) y <i>O. Atreptocantha</i>

1.1.4 Descripción botánica *Opuntia ficus-indica*

Determinar las relaciones sistemáticas de esta especie representa un enorme reto, porque ha sido sometida por miles de años a presiones de selección artificial por diferentes grupos culturales, en distintos ambientes con diversos propósitos. Pero la principal característica de la *Opuntia ficus-indica* es la ausencia parcial o total de espinas. Sin embargo *Opuntia ficus-indica* puede diferenciarse de otras especies por la combinación de cladodios elípticos, de gran talla, frutos grandes y dulces como puede visualizarse en la Figura N° 1-2 (13) (14)

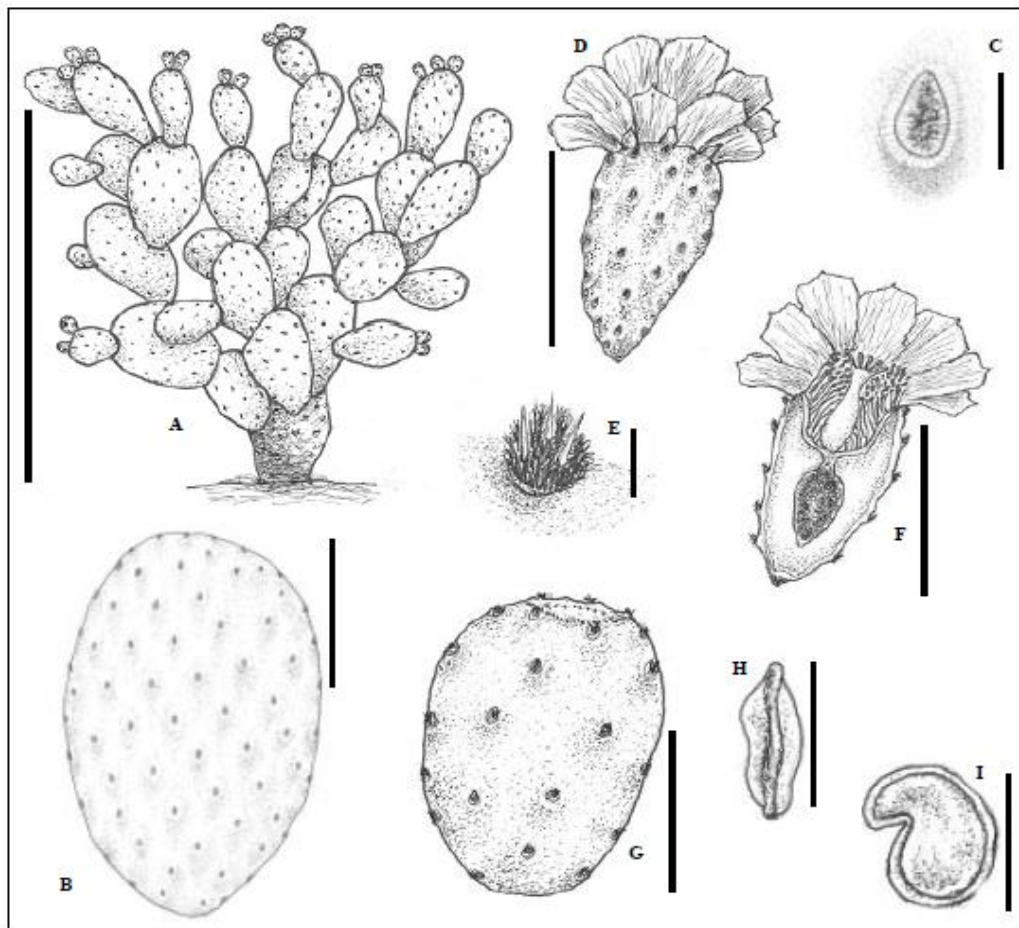


Figura 1-2 Descripción de *Opuntia ficus-indica*; a) hábito; b) cladodio; c) aréola del cladodio; d) flor; e) aréola de la flor; f) sección longitudinal de la flor; g) fruta; h) vista dorsal de la semilla; i) vista ventral de la semilla, extraído de: Agrocienia (2005) (15)

Su sistema radicular es extenso siendo sus raíces fibrosas y pudiendo alcanzar hasta 2 m a los tres años. Sus raíces pueden penetrar en el suelo y llegar hasta los 80 cm de profundidad. Pero la longitud de las raíces depende a las condiciones hídricas y el manejo del riego y fertilización. (16)

1.3 Características morfológicas

1.3.1 El tallo

Está constituido por pencas o cladodios de apariencia ovoides y aplanados unidos unos a otros. A los dos años de crecimiento va tomando forma cilíndrica hasta formar un tronco. En el Perú las variedades más usuales desarrollan portes de aproximadamente 1.5 m de altura. (16)

El tallo, a diferencia de otras especies de cactáceas, está conformado por un tronco y ramas aplanadas que posee cutícula gruesa de color verde de función fotosintética y de almacenamiento de agua en los tejidos. (15)

1.3.2 Cladodios

La presencia de hojas y de espinas son adaptaciones para reducir la pérdida de agua de las plantas a través de la transpiración. Los estomas se ubican en ambas caras del cladodio y se encuentra levemente hundido en la epidermis. Tienen la particularidad de permanecer cerrados durante el día y abiertos en la noche, situación que evita la pérdida de agua por transpiración en el día, permitiendo durante las horas nocturnas la entrada de anhídrido carbónico, materia prima indispensable para fotosíntesis. (15)

Los cladodios están unidos unos a otros formando numerosas ramificaciones. La cutícula del cladodio evita la deshidratación provocada por las altas temperaturas del verano. La hidratación normal del cladodio alcanza hasta un 95% de agua en peso. Además se ubican para aprovechar al máximo la luminosidad, por lo que los cladodios que crecen en invierno tienen una orientación diferente de los que crecen durante el verano. (11)

Los cladodios usualmente son similares a una raqueta de tenis variando sus medidas, dependiendo de su edad. Para un cladodio de tres años sus medidas son las siguientes: largo oscila entre 27 a 63 cm, anchura 14 a 31 cm y grosor con un área de 356 a 1182 cm², como se visualiza en la Figura N° 1-3. (16)

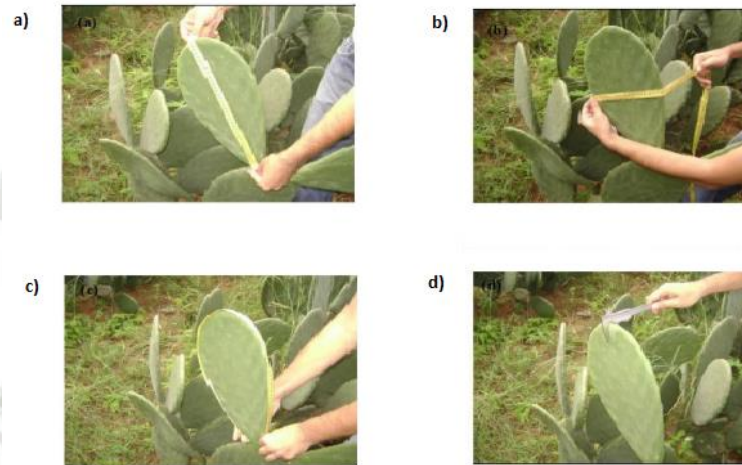


Figura 1-3 Parámetros morfo métricos del cladodio de *Opuntia ficus-indica*; a) largo; b) ancho; c) perímetro y d) grosor, extraído de cultivo de la tuna (2009) (17)

1.3.3 Hojas

Los cladodios o pencas desarrollan hojas diminutas que caen a los 10 a 15 días y son reemplazadas por un conjunto de espinillas de longitud variable dispuestas en areolas. Los cladodios desarrollados tienen 52-69 areolas por cada cara, Figura N° 1-4. (16)

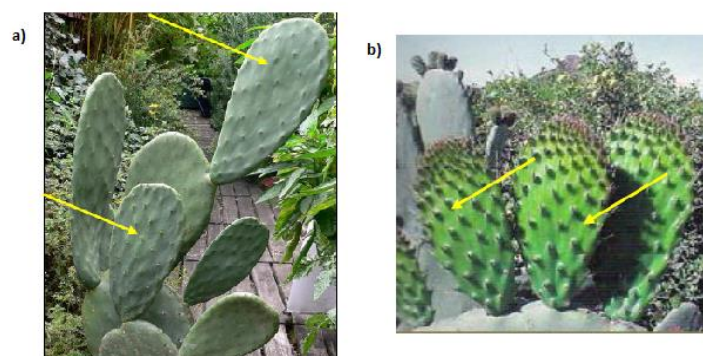


Figura 1-4 Hojas del cladodio de *Opuntia ficus-indica* (nopal); a) cladodios mostrando las areolas y espinas; b) cladodios tiernos mostrando las hojas caducas, extraído de: cultivo de la tuna (2009) (17)

Cuando se produce la renovación de pencas, en las axilas se hallan las aréolas de las cuales brotan las espinas, de aproximadamente 4 a 5 mm de longitud. Las hojas desaparecen cuando las pencas han alcanzado su desarrollo. (16)

1.3.4 Flores

Son solitarias, hasta diez por cladodio localizadas en la parte apical del margen del cladodio, de 6 a 7 cm de longitud. Las flores de la tuna presentan ovario ínfero y numerosos estambres (más cortos que los pétalos y el pistilo), Figura N° 1-5. (17)



Figura 1-5 Diversidad de tonalidades y colores de las flores de *Opuntia ficus-indica* extraído de: cultivo de la tuna (2009) (17)

Cada aréola produce por lo general una flor, aunque no en una misma época de floración, unas pueden brotar el primer año, otras el segundo y tercero. Las flores se abren a los 35 a 40 días de su brotación. Sus pétalos son de colores vivos: amarillo, anaranjado, rojo, rosa. Pétalos numerosos de color amarillo claro a rojizo o blanco. Sus flores son de antesis diurna y puede haber hasta 25 flores por cladodio. (16)

1.3.5 Fruto

Es una baya de forma usualmente esférica, cilíndrica o elíptica. Sus colores son amarillo pálido a rojo púrpura. Con menos frecuencia encontramos combinaciones

amarillo/verde o amarillo/rojo, como se visualiza en la Figura N° 1-6, siendo también variable la cantidad de pulpa entre las variedades. (15)

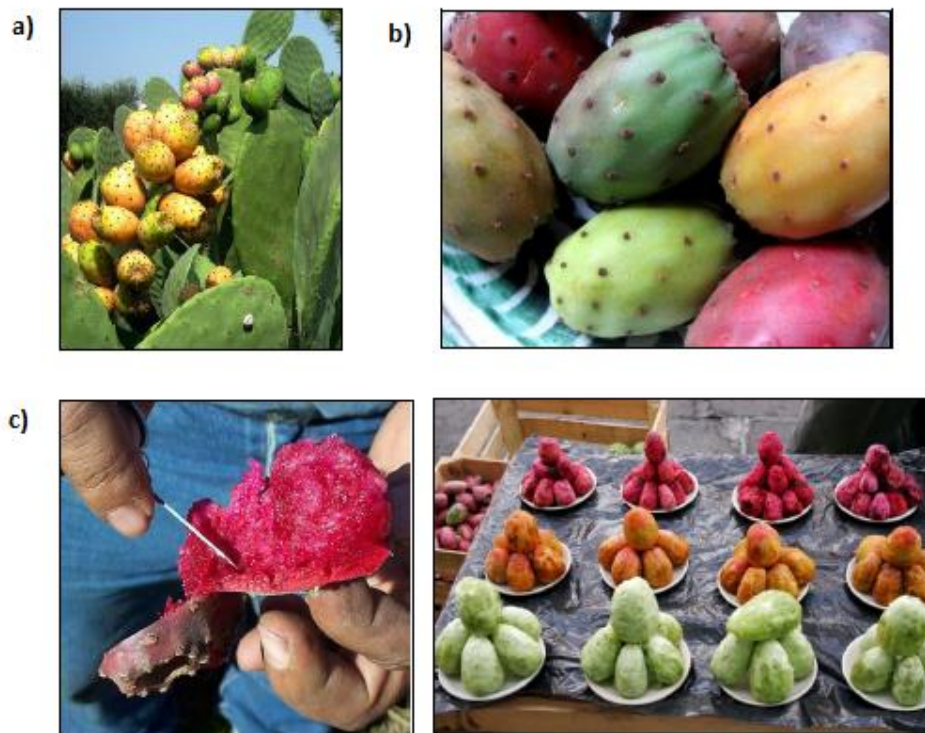


Figura 1-6 Fruto de *Opuntia ficus-indica*; a) planta tuna con frutos en distintas fases de maduración b) diversidad de formas y colores de los frutos de tuna c) cáscara y pulpa gelatinosa de los frutos tuna, extraído de: cultivo de la tuna (2009) (17)

La forma y tamaño de los frutos son variables de acuerdo a la especie. Son comestibles, agradables y dulces; la pulpa es gelatinosa conteniendo numerosas semillas. Presentan espinas finas y frágiles de 2 a 3 mm de longitud. La pulpa presenta semillas de 4 - 4.5 mm de longitud, las que se consumen junto con la pulpa. La epidermis de los frutos es similar a la del cladodio. La cáscara de los frutos varía en grosor. (17)

1.4 Condiciones agroecológicas de *Opuntia ficus-indica*

La *Opuntia ficus-indica* como planta rústica crece y se desarrolla en zonas áridas y semiáridas con tierras pobres, calcáreas y desérticas. Esta necesita poco agua y la

almacena en la época de lluvias. Para la producción óptima requiere las siguientes condiciones agroecológicas, según la Tabla N° 1-1. (18)

Tabla 1-1 Condiciones agroecológicas de *Opuntia ficus-indica*, extraído de: conociendo la cadena productiva de tuna y cochinilla en Ayacucho (11)

Factor	Características
Altitud	Los tunales que producen fruta y <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) están cosechados entre 2000 a 2800 metros de altitud. En las zonas de menor altitud (muy bajas) se producen problemas fitosanitarios y en las zonas muy altas, sus productos son de baja calidad.
Clima	Los tunales se ubican en quebradas de clima templado seco (7 a 9 meses secos y 3 a 4 meses lluviosos). La temperatura oscila entre 14 y 26°C en temporada de verano y 6 a 14°C en invierno.
Suelo	En el libro de INIA del año de 1998 indica que el suelo de textura franca, bien drenado y con menos 0.6m de profundidad es apropiado para el cultivo de tuna. La absorción de CO ₂ y el crecimiento de la planta están influenciados por los macro nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre) y micro nutriente (boro)

1.4.1 Importancia y usos de la *Opuntia ficus-indica*

Las raíces forman una malla que agarra el suelo, evitando de esta forma la erosión por las lluvias, sobre todo en terrenos de laderas. Con las tunas espinosas se forman cercos vivos, separando parcelas y protegiendo a los cultivos de daño de los animales. Asimismo los tunales producen flores, lo cual es aprovechado por las abejas para instalar sus colmenas y producir miel. También es utilizado el mucilago para el consumo humano como depurador del colesterol. (11)

El fruto de *Opuntia ficus-indica* es utilizada como alimento para ser consumida en fresco. Una vez madura se industrializa en jugos, mermeladas, frutas en almíbar, licores,

etc. Los frutos verdes (dos meses de edad) sirven para elaborar fruta abrillantada en almíbar. A continuación se muestra en la Tabla N° 1-2 la utilización de la penca. (11)

Tabla 1-2 Utilización de *Opuntia ficus-indica* (nopal), extraído de: conociendo la cadena productiva de tuna y cochinilla en Ayacucho (11)

Nopal	Utilización
Pencas entre 9 y 2 años de edad	Se utilizan para la producción de <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla)
Pencas con pala seca de cebada y trigo	Se utilizan para alimentar animales durante épocas secas
Pencas tiernas de 2 y 3 semanas	Se utilizan para preparar ensaladas y encurtidos
Pencas de 1 y 2 años se cortan en pequeños trozos; se dejan secar y se muelen	Se obtiene harina para consumo humano y animal
La goma de las pencas mezclada con barro y paja	Se utilizan como adherente en el tarrajeo de paredes de viviendas, también como floculante y clarificante de agua turbia.

1.5 Origen y generalidades de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

El insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) es originario de México y de los países como Ecuador, Perú y Bolivia. En su cuerpo *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) contiene mayor pigmento rojo, por lo que ha sido una de las más explotadas. Por esta razón en los siglos XV y XIX fue introducido en diversos países de la región mediterránea. (18) (19) (20)

La producción de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) es una explotación de tipo agrícola – biológico, por lo que es producida por un insecto parásito de los nopales y se alimenta de ellos. El hospedante natural por lo general es *Opuntia ficus-indica*, en el cual el insecto crece y se desarrolla en él y finalmente es sacrificado para extraer el pigmento. En la época pre colombinas fue utilizado para teñir de rojo intenso la lana y el algodón (11) (18)

1.5.1 Etimología

Las etimologías latina y francesa para la palabra “cochinilla” establecen que se le nombraba de esa manera debido a su parecido con algunos insectos que viven en los espacios húmedos y oscuros “*porcellio scaber*” y por analogía se le aplicó el nombre. Sin embargo el uso de la palabra “grana” se le denomina al producto comercial ya procesado. (21)

1.5.2 Nombres comunes

El primer nombre con que se le conoció a *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla) por parte del europeo Sahagún 1989 fue el vocablo náhuatl *nocheztli*, cuyo significado es “sangre de tuna”. Asimismo en ese periodo se le agregó el nombre de “grana”. Existen autores que señalan que grana procede de la palabra latina “*granum*” que significa grano, debido a su estado reseco y guarda un parecido a una semilla (22) (23)

El otro nombre por el cual fue denominado fue “cochinilla”, el cual puede generar polémica. Esta polémica proviene por autores que señalan su procedencia de la lengua latina de “*coccinum*” que significa “escarlata” (24) (25)

1.5.3 Clasificación taxonómica

La familia *Dactylopiidae* formada por nueve especies del *Dactylopius* pertenece a la súper familia *Coccoidea*. El autor Costa en 1835 fue quien denominó a *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla). Nombre el cual prevalece hasta nuestros días siendo su clasificación taxonómica se muestra en la Figura N° 1-7. En el libro “Oro Rojo en el Perú” establece la clasificación taxonómica de la tuna. (12) (26)

Reino : Animal
Phylum : Arthropoda
Subphylum : Mandibulata
Clase : Insecto
Orden : Hemíptera
Suborden : Sternorrhyncha
Superfamilia : Coccoidea
Familia : *Dactylopiidea*

Género : *Dactylopius*
Especie : *Dactylopius coccus Costa*

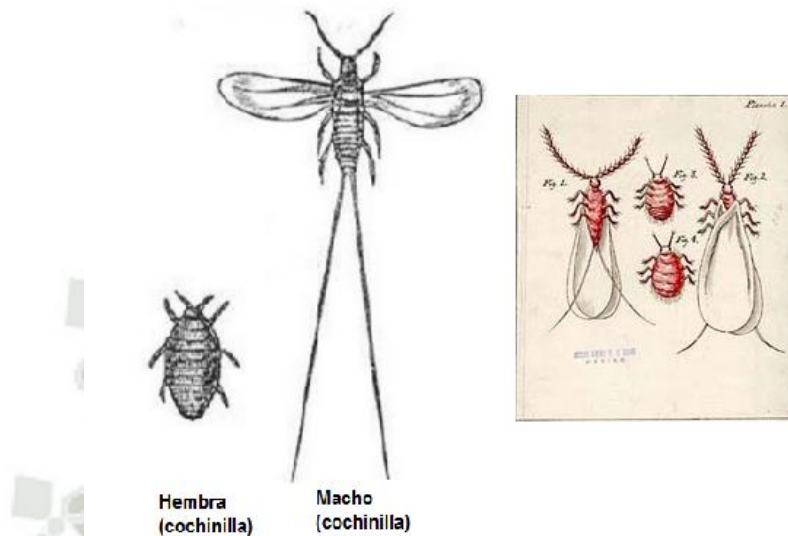


Figura 1-7 Insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

1.6 Morfología de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

Las descripciones de la especie de *Dactylopius coccus Costa* (Cochinilla) se han efectuado siempre a base de preparaciones microscópicas de hembras adultas jóvenes. Desafortunadamente, las hembras adultas presentan muy pocas características fácilmente distinguibles, por lo que crea confusiones en la determinación de la identidad de las especies. Pero en su etapa de Ninfa I presenta particularidades para diferenciar la especie. (27)

A nivel microscópico existen una serie de estructuras que permiten distinguir a *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) entre otras especies. La primera característica es la presencia de poros, los cuales son de forma pentagonal. En *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) son de margen ancho y forman grupos numerosos siendo más de 16 poros en algunos grupos. Los grupos en el abdomen llegan hasta 30 poros, como se visualiza en la Figura N° 1-8. (30)



Figura 1-8 Grupo de poros presentes en *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá – Oltra, M. Granero. (2010) (30)

El cuerpo de la hembra adulta es globoso. Las sedas son en forma de pelo, no siendo muy abundantes y se concentran en los últimos segmentos abdominales. Los poros y las sedas aparecen formando líneas que siguen los segmentos corporales, la cual se observa en la Figura N° 1-9. (30)



Figura 1-9 Hembra adulta *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) mostrando el característico bandeo de poros y sedas, extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010) (28)

1.7 Ciclo Biológico

Según un estudio del ciclo biológico de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en el campo de La Molina Lima - Perú, bajo condiciones de temperatura fluctuantes entre 16.5° a 21." C, humedad relativa con 80 y 86%, la cual corresponde a los meses de

Marzo a Agosto. Por lo que se observa en los dos primeros estadios (huevo y ninfa I) la hembra y el macho son similares. (28)

A partir de este estadio de ninfa II presentan las diferencias. En el caso de las hembras, la ninfa II muda para convertirse en hembra adulta. En el caso de los machos, la ninfa II forma un cocón en cuyo interior muda para dar lugar a la pre-pupa, que posteriormente, previa muda, pasa al estado de pupa; de éste emerge el macho adulto, según Figura N° 1-10. (28)

Las ninfas recién nacidas permanecen cerca de la madre y comienzan a cubrirse de cera junto a otras ninfas. Estas presentan movilidad de 1 a 5 días para fijarse en un lugar sombreado y de esta forma alimentarse hasta completar su desarrollo. (29)

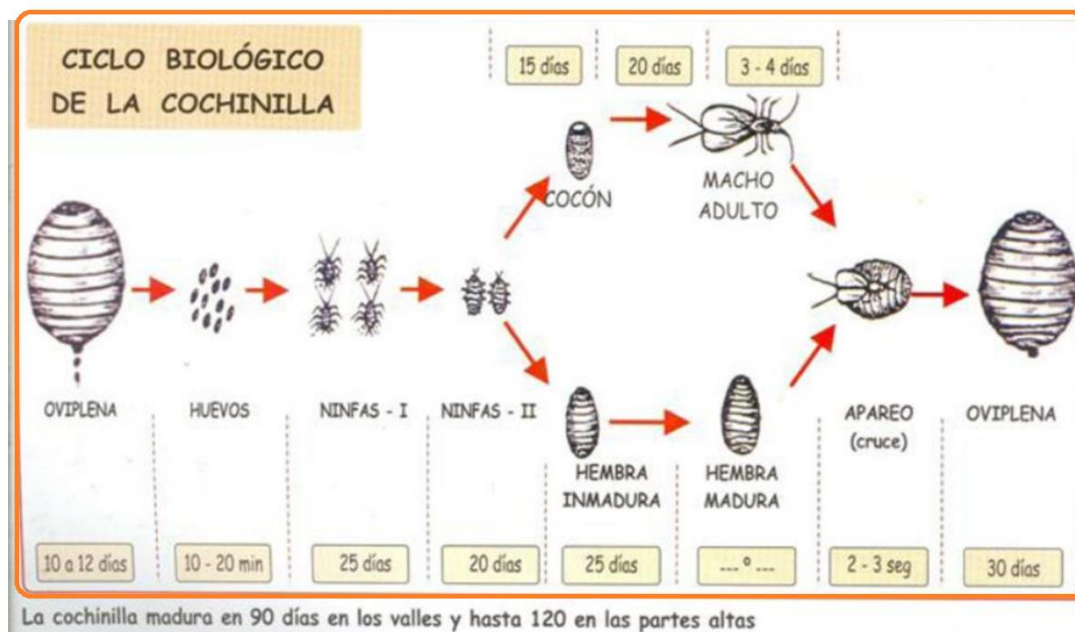


Figura 1-10 Ciclo biológico de *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla) extraído de: IDESI Ayacucho – FONCODES cartilla tecnología productiva tuna y cochinilla (2003) elaboración: Solid Perú (2007) (11) (30)

Los huevos eclosionan en 15 a 20 minutos. La Ninfa I se inicia como migrante por uno o dos días, luego se fija sobre el cladodio de *Opuntia ficus indica* por un período de 20 a 23 días. La Ninfa II dura de 13 a 18 días. En el caso de las hembras, la Ninfa II da lugar a la hembra adulta cuyo período pre-oviposición de 30 a 68 días, y un período de post-

oviposición de 10 a 20 días. Las hembras ovipositan en promedio 419 huevos, con un mínimo de 293 y un máximo de 586 huevos (Tabla N° 1-3) (28)

Tabla 1-3 Medidas tomadas a los distintos estados de desarrollo de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) sobre *Opuntia ficus-indica* con los resultados Guerra (1991). El número de individuos medidos ha oscilado entre 2 y 13. 1 (H) hembra adulta, extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá-Oltra, M. Granero (2010) (28)

Estado Desarrollo	<i>Dactylopius coccus Costa</i>		<i>Dactylopius coccus Costa</i> sobre <i>Opuntia ficus-indica</i> (Guerra, 1991)	
	Ancho	Largo	Ancho	Largo
Huevos	0.30 ± 0.02 mm	0.70 ± 0.03 mm	0.30 mm	0.70 mm
Larva Móvil	0.40 ± 0.03 mm	0.70 ± 0.05 mm	0.50 mm	1 mm
L1 fija	0.70 ± 0.07 mm	1 ± 0.09 mm	-	-
1° muda	0.80 ± 0.06 mm	1.30 ± 0.05 mm	0.60 mm	1.10 mm
L2 (al inicio)	0.80 ± 0.02 mm	1.30 ± 0.01 mm	-	1 mm
L2 macho	0.80 ± 0.02 mm	1.70 ± 0.09 mm	0.30 mm	1.30 mm
L2 hembra	0.80 ± 0.02 mm	1.30 ± 0.03 mm	-	-
2° muda	1.70 ± 0.01 mm	2.50 ± 0.01 mm	-	-
H joven (1)	1.70 ± 0.07 mm	2.50 ± 0.10 mm	-	-
H grávida (1)	4 ± 0.38 mm	5 ± 0.38 mm	3.50 - 4.50 mm	4-60 mm
Capullo macho	1.10 ± 0.08 mm	2.50 ± 0.16 mm	1.40 mm	2.50 mm
Pre pupa	0.90 ± 0.02 mm	1.80 ± 0.01 mm	-	-
Pupa	0.70 ± 0.01 mm	1.70 ± 0.02 mm	-	-
Macho adulto	0.70 ± 0.01 mm	1.70 ± 0.01 mm	1.50 mm	1.25 mm

.En los machos la Ninfa II da lugar a un cocón en cuyo interior se forman la pre-pupa y la pupa. El adulto vive por 3 días. El ciclo del macho en total toma de 51 a 63 días. En la Tabla N° 1-3 se pueden visualizar las medidas en los distintos estadios del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). (28)

El ciclo vital del insecto en el caso de las hembras desde el huevo hasta que es adulta dura 120 días y del macho dura 80 días. Para el desarrollo del insecto depende de diferentes factores ambientales, siendo la temperatura la que mayor efecto tiene sobre la duración del ciclo biológico. (29)

1.7.1 Huevo

Los huevos son ovalados de color rojo oscuro brillante. Miden menos de 1 mm de largo de superficie lisa y lustrosa, es decir semi transparente al estado inicial, posteriormente presenta un color rojo vivo o morado lila. Esta etapa dura 3 a 4 horas luego eclosionan (31). El insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se encuentran adheridos entre ellos formando una cadena en la masa algodonosa de cera de la madre, como se muestra en la Figura N° 1-11. (30)



Figura 1-11 Huevos de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá – Oltra, M. Granero (2010) (28)

1.7.2 Ninfa I

Es conocida como ninfa migrante o móviles. Son ovaes de color rojo oscuro de 0.8 mm por 0.4 mm de ancho, como se visualiza en la Figura N°1-12. Posee patas y antenas más claras bien desarrolladas dirigidas hacia delante, que están formadas por segmentos, sobre el dorso del cuerpo cerca de la base de las antenas. Además presenta algunos poros reunidos en pequeños grupos. Las patas bien desarrolladas, que sobrepasan ampliamente los límites del cuerpo. Lateralmente se encuentra un par de ojos esféricos de color negro. (30)



Figura 1-12 Ninfa I de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá – Oltra, M. Granero (2010) (30)

Poco después del nacimiento empieza la producción de cera y el insecto queda recubierto de pulverulencia y filamentos céreos blancos dispersos por la parte dorsal. (30)

En este estadio se movilizan buscando en la penca un lugar propicio para fijarse hasta ser adulta y morir. El tiempo de movilización puede ser entre unos minutos hasta 2 – 3 días hasta que se fija en la planta y empieza alimentarse. En esta etapa es donde se nota mayor mortalidad del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) debido a factores del medio ambiente como las lluvias y el viento. (28)

1.7.3 Ninfa II

El insecto ha duplicado su tamaño desde su nacimiento. Después de la muda el cuerpo del insecto es de un color rojo oscuro y brillante. En este estadio permanece fija, pero en pequeñas excepciones tienden a desplazarse. Su tamaño varía según las condiciones de la planta de tuna, siendo de 2.5 mm de longitud por 2 mm de ancho. (30)

A medida que avanza el desarrollo empiezan a observarse diferencias entre hembra y machos. Los machos son más alargados que las hembras. En este estado los filamentos céreos son más cortos y finos que en el primer estadio. Los machos suelen ser menos que las hembras y los filamentos más largos se sitúan al final del abdomen, lo que permite diferenciar los dos sexos. Al final del segundo estado los machos empiezan a producir abundantes filamentos céreos alrededor de su cuerpo formando un capullo

dentro del cual continuará su desarrollo y donde se producirá la segunda, tercera y cuarta muda. (27)

1.7.4 Hembra adulta *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

La hembra adulta muda cuando el cuerpo alcanza una longitud de 1.7 mm de ancho – 2.5 mm de largo. La exuvia es como la primera muda pero cuatro veces más grande. En el cuerpo de la hembra joven se observa segmentos abdominales marcados, los cuales forman pliegues que se extienden según la hembra vaya creciendo. La hembra grávida llega a cuadruplicar su tamaño, su cuerpo se hace más globoso, como se visualiza en la Figura N° 1-13. (28)



Figura 1-13 Hembra adulta *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá – Oltra, M. Granero (2010) (30)



Figura 1-14 Capa pulverulencia cerosa en hembra adulta *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá – Oltra, M. Granero (2010) (30)

En la Figura N° 1-14 se observa a *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) distribuida de forma individual y que están recubiertas de una fina capa de pulverulencia cérica.

1.7.5 Pre pupa, pupa y macho adulto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

El capullo del macho es alargado, blanco y con reflejos brillantes. En uno de los extremos del capullo se encuentra un orificio por el cual se expulsan las sucesivas mudas. Después de la segunda muda se pasa al tercer estado de desarrollo o pre pupa. En esta fase empieza a diferenciarse la cabeza del resto del cuerpo y se observan el esbozo de las patas y alas, según Figura N° 1-15. En el cuarto estado se diferencian claramente las patas y las antenas, y los esbozos de las alas aparecen. En su cuarta muda aparece el macho adulto, como se visualiza en la Figura N° 1-16 (30)



Figura 1-15 Pre pupa *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá – Oltra, M. Granero (2010) (30)



Figura 1-16 Macho adulto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá – Oltra, M. Granero (2010) (30)

Son visibles las patas, antenas y los artejos. Los cuatro ocelos negros destacan por encima del color rojo de su cuerpo y se distinguen fácilmente. Las dos alas son membranosas, blancas, más largas que la longitud de su cuerpo y con dos venas (la radical y la media) no visiblemente conectadas. Al final del abdomen presenta dos filamentos de seda caudales blancos y largos que pueden ser hasta tres veces más largo que su cuerpo. Los machos adultos de *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla) no tienen piezas bucales, por lo que no se alimentan, como muestra la Figura N° 1-16, (29) (30)

1.8 Parámetros biológicos y daños en las plantas

Los cladodios que inicialmente no presentaban zonas secas y pudriciones, con el tiempo y a causa del aumento poblacional de *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla), empiezan a presentarse los daños sobre la planta. Estos signos no llegaron a colapsar los cladodios.

En la Figura N° 1-17 se puede observar la evolución de los estados de desarrollo del *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla) en la localidad de Segart - España. A partir de la segunda generación larvaria el número de daños va aumentando en el cladodio.

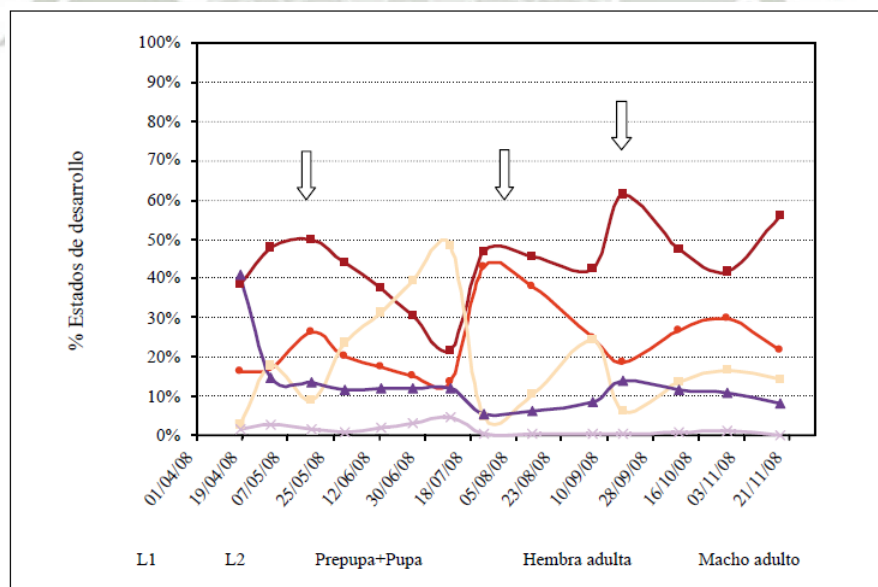


Figura 1-17 Evolución de los estados de desarrollo de *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla) en Segart, Sierra Calderona - Valencia. Extraído de: E. Rodrigo, M. Catalá – Oltra, M. Granero (2010) (30)

En el caso que la infestación haya sido muy elevado puede producir la muerte de los cladodios. Las pudriciones pueden deberse a algún tipo de patógeno que *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) inoculo en la planta por su forma de alimentarse. Un agente externo introducido por *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) que produce necrosis en los tejidos del cladodio. (29) (30)

En las plantas dejadas al aire libre infestadas con *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) a una temperatura media 22.2°C y 58.6 mm de precipitación, el tiempo de desarrollo desde ninfa I a hembra adulta fue de 78 días. A partir de esas hembras nacieron las primeras larvas, siendo el tiempo de generación de 87 días. (29) (30)

1.9 Condiciones agro ecológicas

Las variedades de tuna morada y blanca son preferidas por *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) debido al reducido espesor de su epidermis, lo cual facilita la inserción rápida de migrante. El tamaño de sus espinas u hojas protegen al insecto de la intensidad de las precipitaciones lluviosas y granizadas. (11)

Los factores que influyen en la producción de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se indican en la Tabla N° 1-4 a continuación:

Tabla 1-4 Condiciones agro ecológicas para la producción de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), extraído de: Bustamante (2006) (11) (12)

Factor	Favorable	Desfavorable
Temperatura	Entre 14 y 26°C	A temperaturas mayores a 26 ° C, se produce la muerte de ninfas. A temperaturas menores a 14°C, el ciclo de vida se alarga y también produce muerte de ninfas
Humedad	Entre 50 y 75%	A humedad mayor de 75%, el ciclo de vida se alarga. A humedad menor a 50% se acorta.
Insolación	-	La mayoría de las ninfas se establecen en

		cladodios de superficies sombreadas
Vientos	Para la siembra natural de ninfas en las pencas	Arrastra y mata a las ninfas en crecimiento
Precipitación	-	Las lluvias fuertes lavan los tunales, arrastrando a las ninfas antes de que se hayan fijado, durante los procesos de muda. Las lluvias torrenciales desprenden a las cochinillas de cualquier edad. Las lluvias moderadas eliminan la capa de cera, lo cual deja expuestas a las cochinillas a sus enemigos naturales
Altitud	1500 – 2500 msnm	A mayor altitud de 2500 msnm el ciclo de vida se alarga.

1.10 Métodos de infestación

En la costa se inicia con una infestación en el mes de setiembre para cosechar en el mes de diciembre y a su vez re infestar en el mismo mes y a partir de esas poblaciones planificar las futuras, en base a las colonias de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) dejadas en la última recolección.(11)

En la sierra la mejor época para infestar es al final del periodo de lluvias. Se promueve un sistema de cultivo protegido de las lluvias, vientos (cobertores de polipropileno). También se protege la infestación en época de lluvias, cuando se realiza sobre cladodios doblado. (27)

En plantas adultas con sistemas radiculares bien desarrollados, es decir aquellas plantas que no muestran deshidratación durante los meses de junio, julio, agosto. Es recomendable re infestación de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en los últimos

días de junio y setiembre. Parte de la cosecha o recolección de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) debe ser utilizada en la propagación del insecto. (5)

Este método consiste en insertar un segmento de la penca infestada, que contenga *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) hembras oviplenas sobre una penca libre de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), teniéndose en cuenta los siguientes aspectos:

- Seleccionar las plantas madre bien infestadas
- Cortar secciones de pencas que tengan más de 20 hembras oviplenas
- Cada sección (infestada) se debe colocar de tal manera que la sección infestada haga contacto con la planta receptora sujetándola con espinas. Esta operación no debe hacerse con pencas que están a menos de 40 cm del suelo.

1.10.1 Infestación natural

La planta en si constituye el hospedero de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) y que permite la supervivencia de la especie frente a las condiciones adversas del medio ambiente. (32)

Este tipo de infestación es producida por las ninfas migrantes. Estas se trasladan por si solas entre las pencas siendo favorecidas por el viento, los animales e insectos. (32)

1.10.2 Infestación artificial

Para la infestación se requiere de hembras adultas en oviposición para colocarlas sobre las pencas de la tuna utilizando infestadores. La infestación artificial se requiere de métodos o sistemas desarrollados por el productor, los cuales sus principales son los siguientes. (32)

1.10.2.1 Método de tul o bolsitas

Este método consiste en colocar 10 a 20 *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) hembras oviplenas, recién colectadas en una bolsita de tul de 10 por 10 cm e insertar inmediatamente en el cladodio o penca que desea infestar. Fijadas con la ayuda de espinas de la propia tuna, las pencas elegidas para la propagación debe tener una edad

de 6 meses a 12 meses de edad. Este proceso debe efectuarse de preferencia en las mañanas a la salida del sol. (29)

1.10.2.2 Método de la penca

Consiste en recolectar pencas infestadas de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) que tengan gran cantidad de colonias hembras adultas ovíparas. Estas son colocadas en diferentes pisos de las plantas y sujetándolas con una espina a una altura no menor de 40 cm del suelo. El insecto se adhiere a la planta. (29)

1.10.2.3 Método de la gasa o paño

Se traslada el *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en un cajón o bandeja cubriéndolas con gasa de algodón. Una vez que se observa presencia de ninfas, el algodón será retirado y conducido al campo para ser colocadas en lugares estratégicos de la planta. Las ninfas migran a la planta, de esta forma infestan la superficie de la penca. (29)

1.11 Producción de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

En la propagación de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), la hembra desprendida de la penca se mantiene viva hasta los 24 días y es capaz de producir huevos, en consecuencia la propagación de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) consiste en mantener un número de hembras adultas sobre el cladodio con la finalidad de que aquellas dejen su descendencia sobre las pencas, esperando que muchas de ellas logren sobrevivir y constituyen los plantales de madres que forman futuras colonias del insecto que puede cosechar el hombre cada 3 meses o alrededor de ella. (5)

Rendimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) de 100 kg de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) fresca sucia se obtiene 33.2 kg de seca sucia. De 100 kg de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) seca sucia se obtiene 85 a 90 kg de limpia y tamizada (en zaranda de 2 mm de diámetro), tipo exportación. El *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) fresca, con el secado a la sombra, experimenta una reducción de entre 3.3 kg y 1 kg.

En la clasificación de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) seca se obtiene en promedio: 73.58% de primera (en zaranda 2 mm diámetro), 10.45% de segunda (1 mm) y 7.96% de tercera calidad (0.2 mm); el 8.01% son polvillos y otras impurezas. (12)

1.12 Cosecha de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

La cosecha de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se realiza en forma manual. Se recolecta las hembras adultas, las cuales poseen la mayor calidad de ácido carmínico. El recojo debe estar orientada hacia las hembras adultas que han cumplido su ciclo evitando en lo posible el recojo de inmaduros. (11)

Esta cosecha de hembras adultas se efectuará antes de la postura realizándose 3 a 4 veces al año dependiendo de la altitud del piso ecológico. La cosecha que es manual usando espátula y recipientes colectores, se realiza a partir del tercer mes de haber infestado la tuna, es la época de su máxima concentración de ácido carmínico. (12)

Además se debe tener cuidado de no lesionar al insecto ya que disminuye su valor comercial, en esta etapa se recomienda emplear trabajadores que tengan experiencia y conocimiento sobre la edad, tamaño y época de la recolección, para evitar daños que perjudiquen su valor comercial. (11)

Para la cosecha de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se puede reconocer fácilmente a la hembra adultas “oviplenas”, por su tamaño que puede alcanzar 7 mm de largo y 6mm de ancho y cuando el cuerpo del insecto ha perdido algo de cera o presenta un aspecto humedecido en su superficie, es decir cuando aparece el “ojo de hormiga” que es un punto oscuro en la parte superior del abdomen. Al momento de la cosecha dejar 5 *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) adultas por penca (aparte de los demás estadios), para asegurar la futura cosecha. Tener en cuenta que no se debe cosechar en luna nueva, ya que las hembras en este periodo están ovipositando en gran cantidad. (5)

1.13 Clasificación de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

Una vez que esta seca *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) podemos clasificarla por el sistema de tamizado, el cual se describe a continuación: (11)

Con la ayuda de zarandas de 2 mm se clasifica la primera calidad de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), las cuales separan los insectos grandes de los pequeños. El residuo se tamiza, siendo su segunda clasificación. Con la zaranda de 1 mm se obtiene *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) de segunda calidad.

Por último se utiliza la zaranda de 0.2 mm obteniéndose *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) de tercera siendo impura por la presencia de espinas, ceras, etc.

1.14 Usos de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

Bustamante manifiesta que el 75% de los usos del carmín de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se concentran en la industria alimentaria, el 15% en la cosmética y el 10% en la farmacéutica y textil, principalmente en forma de laca. (12)

Entre los usos de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) está el de agente de control biológico contra diferentes especies de cactáceas. Por lo que *Opuntia ficus-indica* es una de las más utilizadas. (39)

En la Tabla N° 1-5 se muestra los pasos desde la propagación de la planta hasta la cosecha de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) (11)

Tabla 1-5 Flujo del proceso productivo de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), extraído de: Equipo Solid Perú, resultados análisis de la información recogida (2007)

Propagación de Plantas	Plantación de Pencas	Labores Culturales	Infestación de Cochinilla	Cosecha y Post cosecha
Identificación de plantas madres	Preparación del terreno	Limpieza de deshierbo	Cosecha y selección de semilla (cochinilla oviplena)	Provisión de herramientas y materiales
Selección y corte de pencas	Trazado a curva de nivel	Poda de formación y producción	Preparado de materiales e insumos	Cosecha

Deshidratación de pencas	Apertura de hoyos	Abonamiento	Infestación	Matanza
-	Transporte de pencas y abono	Riegos	-	Secado
-	Tratamiento de las pencas (desinfección)	Eliminación de frutos	-	Limpieza
-	Plantación de pencas	Control de plagas y enfermedades	-	Selección y Clasificación
-	-	-	-	Envasado
-	-	-	-	Almacenamiento

Así mismo indica que los colorantes para alimentos se utilizan en forma de tintes hidrosolubles, emulsiones en seco y laca. El colorante natural tiene ventajas respecto a los colorantes sintéticos por sus características de estabilidad al oxígeno, a la luz y al calor. Una de las desventajas del carmín con respecto a otros colorantes naturales es que no tiene cualidades nutraceuticas, como el beta-caroteno, las antocianinas, etc. (12)

Su uso en alimentos principalmente es en dulces, goma de mascar, frutas, gelatinas, mermeladas, sopas y salsas, productos de la panificación, bebidas alcohólicas bajo pH, aperitivos y jugos. La combinación de carmín de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) con aluminio y calcio forma la laca aluminio cálcica al 52%, está se usa como colorante en la industria láctea para elaborar yogurt y helados. El carmín hidrosoluble se usa en la industria carmínica, principalmente en la del cerdo para dar color. El ácido carmínico se utiliza en Japón para dar color al sustituto de la carne de cangrejo. (11)

1.15 Ácido carmínico

1.15.1 Descripción general

El ácido carmínico tiene asignado el código de aditivo E-120, el cual es un colorante que se utiliza fundamentalmente en productos de gama alta. Se comercializa en forma de polvo y en soluciones a nivel de laboratorio. (18)

1.15.2 Fórmula del ácido carmínico

El ácido carmínico o ácido antraquinón-7-glucopiranosil-3,5,6,8-tetrahidroxi-1-meti-2-carboxílico, de fórmula $C_{22}H_{20}O_{13}$ es un ácido orto-fenoxi-carboxílico de carácter hidrofílico. Su coloración es roja la cual puede variar hasta púrpura cuando el pH aumenta; anaranjado a pH = 3.0, rojo a pH = 5.5 y púrpura a pH = 7.0 (36)

La estructura del ácido carmínico como se visualiza en la Figura N° 1-18 consiste en un cromóforo de antraquinona, un residuo de glucosa y un grupo carboxilo. (37)

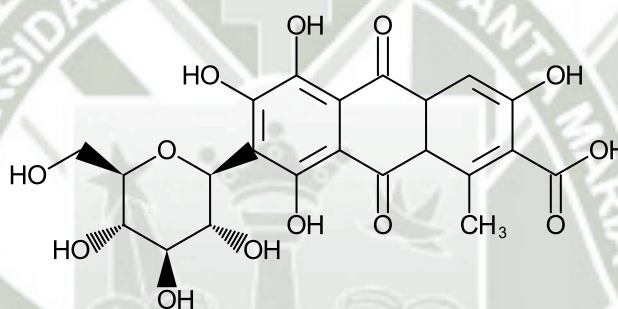


Figura 1-18 Estructura del ácido carmínico

Por esta razón el ácido carmínico presenta buena solubilidad en agua. Debido a su grupo carboxilo es un ácido débil por lo que su equilibrio de disociación, depende circunstancialmente del pH de la solución acuosa en la que se encuentre. (34)

Los estándares de calidad son regidos por la FDA (Food and Drug Administration), el porcentaje de ácido carmínico debe encontrarse entre 19 y 22%. (38)

1.15.3 Subproductos de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

Dactylopius coccus Costa (cochinilla) se clasifica según su contenido de ácido carmínico, en tres calidades: Premium (22.5% ácido carmínico), primera (19.5%) y

segunda (10%). Con el desarrollo tecnológico ha sido posible extraer mediante procesos químicos el ingrediente activo de la materia colorante. (12)

Tabla 1-6 Características del extracto colorante de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) extraído de: Gibaja, 1998 (36)

Características	Valor
pH	5.0 a 5.5
Proteínas	2.2%
Sólidos Totales	5.7 a 6.3%
Ácido carmínico	2.0%
Metanol	Ausente
Plomo	10 ppm
Arsénico	1 ppm

Bustamante (2006) indica que *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) fresca pasa por un proceso de secado y puede ser vendida en esta presentación. En la Tabla N° 1-6 se muestra las características del extracto de colorante de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). (12)

1.15.4 Exportación de carmín

El carmín es el principal producto exportado por Perú. Le sigue el ácido carmínico y la cochinilla y tiene como principales destinos Dinamarca, EE.UU. y Brasil según el artículo del diario Gestión. (37)

La exportación de Carmín de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en el 2015 se incrementó en 20% alcanzando los U\$ 34 millones a un precio en alza de U\$ 63.80 kilo promedio a Dinamarca se exporta U\$ 7.5 millones (22% del total), le sigue Brasil con

US\$ 3.5 millones (10%) Productos Naturales de Exportación vende US\$ 13.6 millones (40%) como se visualiza en el Figura N° 1.19 (37)

Según Cesar Torres el representante del Comité de Colorantes y Extractos Naturales de ADEX, refirió que en el primer bimestre del año 2017 los despachos de la cochinilla y sus derivados sumaron US\$ 14.7 millones, lo que representó una caída de 26% respecto al mismo periodo del año pasado. El valor FOB exportado en los dos primeros meses del 2017 del carmín de cochinilla en polvo y solución sumaron cerca de US\$ 13.6 millones, que representó un crecimiento del 6% en cantidad exportada respecto al 2016, informó ADEX. (39)

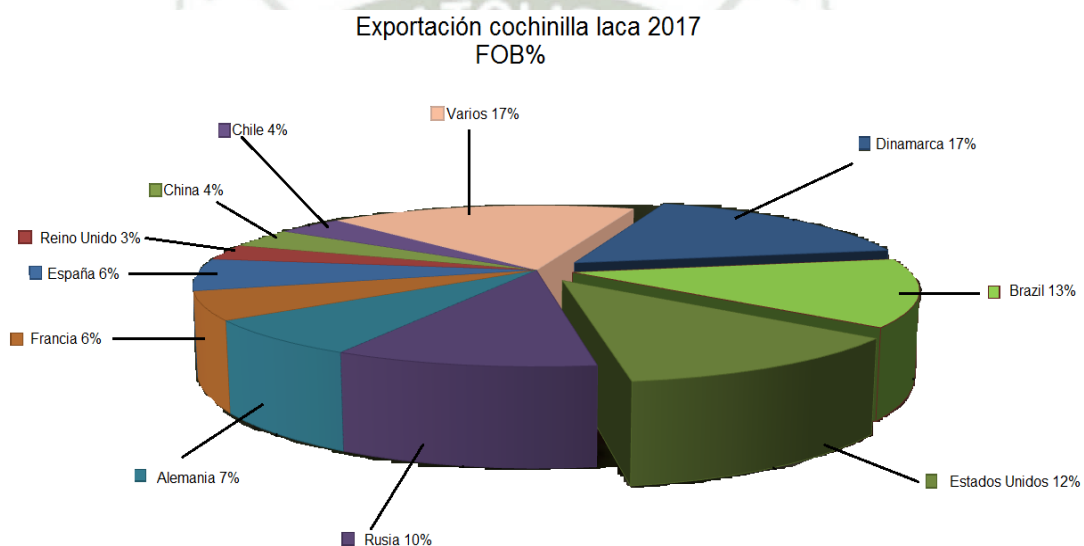


Figura 1-19 Destino de la exportación de carmín de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) 2016 - Agrodataperú

Las principales zonas productoras de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en el país son Arequipa (La Joya y La Cano), Nazca, Huarochirí (Lima) y Ayacucho. Arequipa es la región más importante que provee el 70% de la materia prima. (39)



2 CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

Material biológico:

- *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)
- *Opuntiae ficus-indica* (nopal)

Material de vidrio

- Placas Petri
- Baguetas
- Pipetas graduadas de 5 y 10 ml
- Probetas de 100 ml
- Fiolas de 500 ml y 1000 ml
- Termómetro de 100 °C
- Vasos Beaker de 200 ml

Equipos

- Balanza analítica con cuatro decimales– Velab, VE-204
- Estufa – Riossa, Serie E-33
- Baño De Agitación - Viking, Masson II
- Termo higrómetro - Marca Schwyz, Modelo Scth
- Estereoscopio – Forty
- Centrifugadora – Centaur 2
- Espectrofotómetro – Spectronic 20 GENESYS
- Autoclave
- Mechero Bunsen
- Molino – Zhongxing, FZ102
- Refrigeradora – Faeda
- Licuadora – Oster
- Cocinilla eléctrica

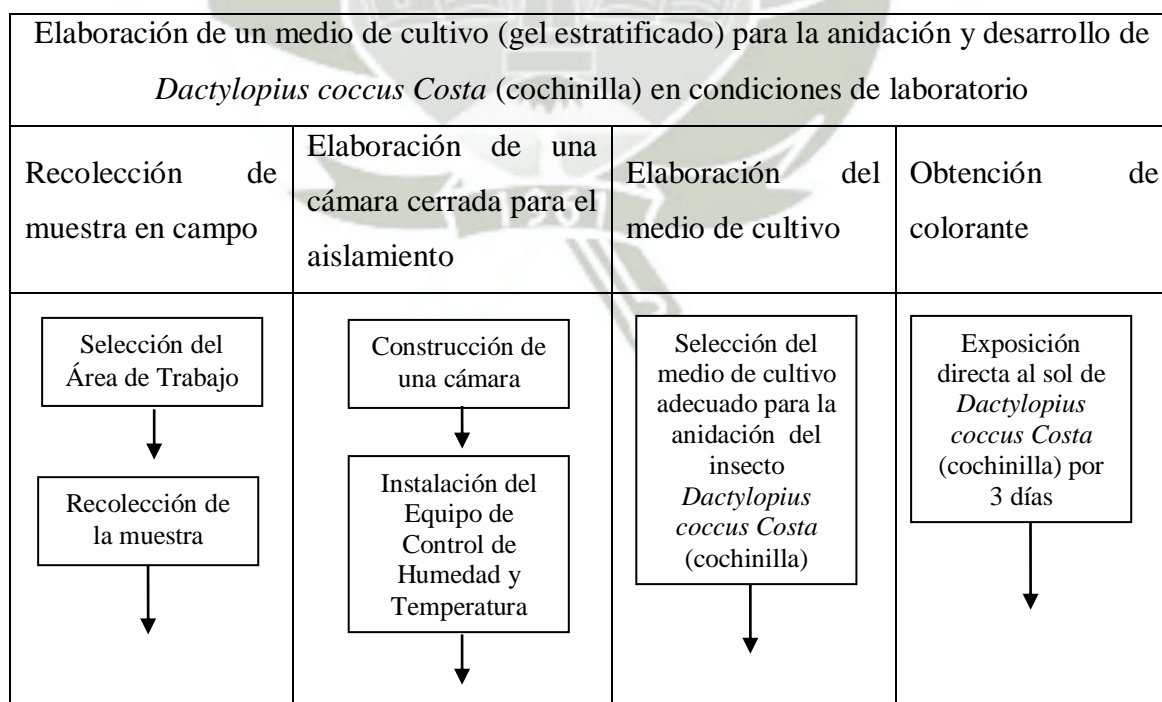
Reactivos

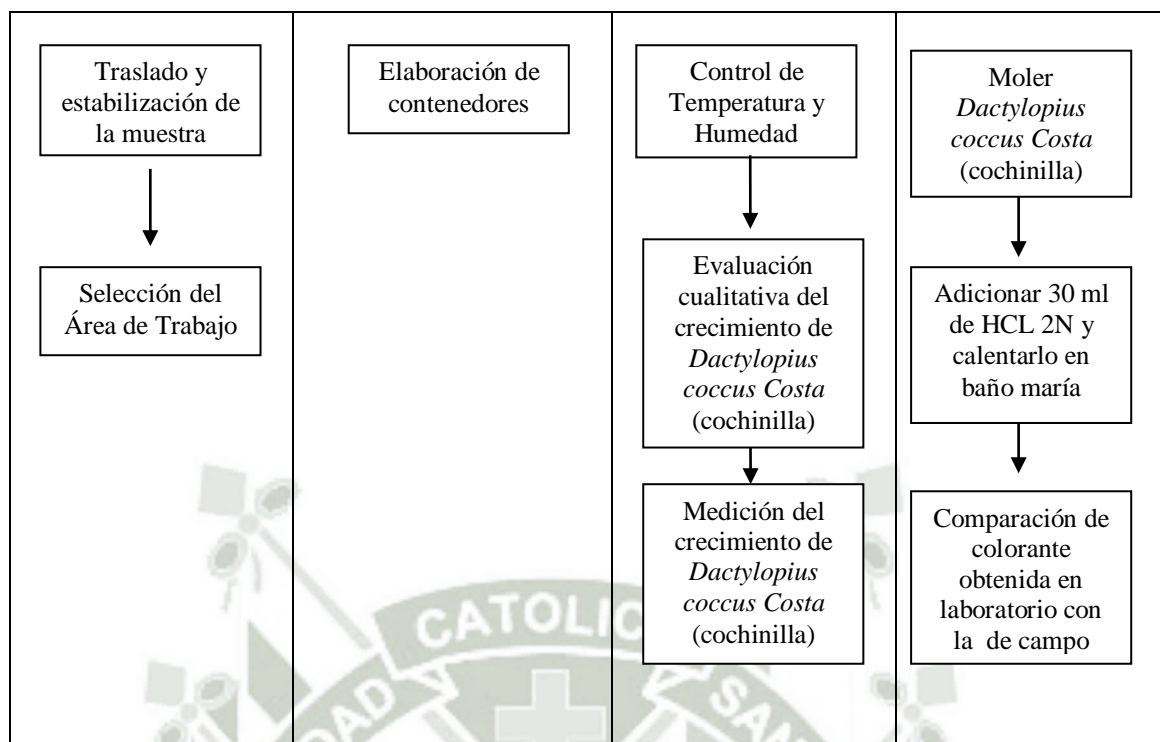
- Hipoclorito de Sodio
- Ácido clorhídrico
- Agar – Agar

Otros

- Agua destilada
- Mortero de Porcelana
- Gradillas
- Espátula
- Papel filtro
- Papel pH metro
- Piseta de Agua Destilada
- Bomba de Limpiaparabrisas Daewoo Tico
- Jarra de 500 ml
- Tecnopor
- Malla metálica

Tabla 2-1 Diagrama de bloques del proceso de experimentación





El presente trabajo se ejecutó en 4 fases. La primera consistió en la recolección de la muestra. La segunda fase se elaboró un medio de cultivo (gel estratificado) para el crecimiento del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). Finalmente se comparó el colorante natural del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) obtenida de laboratorio con la del campo. Se visualiza en la Tabla N° 2-1 el diagrama de bloque.

2.2 Recolección de la muestra de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

2.2.1 Ubicación

Los *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) seleccionados para su cultivo en condiciones de laboratorio fueron recolectados de la zona agrícola del Distrito de la Joya Provincia de Arequipa.

El *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) utilizadas en este estudio se encontraban infestando plantas de *Opuntiae ficus-indica*.

2.2.2 Situación geográfica y climática

El *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) obtenido como materia prima fue extraído del distrito de la Joya de la provincia de Arequipa, Perú según la situación geográfica y climática de la Tabla N° 2-2.

Tabla 2-2 Situación geográfica y climática, extraído de: estudio de las variables meteorológicas en el desierto de La Joya, Arequipa – Perú

Coordenadas Geográficas	
Latitud	16°32´ 16°32'45.3" Sur
Longitud	71°55'20.5" Oeste
Temperatura media anual	18.5°C
Temperatura máxima anual	25.8°C
Temperatura mínima anual	11.3°C
Humedad relativa	29.5%

2.2.3 Recolección de la muestra

Se recolecto 2 cladodios de dos años de edad de la variedad *Opuntia ficus-indica* infestadas de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) con gran cantidad de colonias. Para la obtención de una buena muestra fue necesario recorrer todo el cultivo con el fin de determinar un cultivo con secciones afectadas que contengan porciones sanas y enfermas. Esto fue necesario para obtener diferentes estados de desarrollo del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) (huevos, ninfas, larvas, pupas y adultos).

2.2.4 Traslado y almacenamiento de la muestra

Para el traslado al laboratorio se utilizó en una caja (40 cm de ancho, 60 cm de largo y 30 cm de alto). Estas fueron transportadas con mucho cuidado debido a que *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) es muy delicada y revienta con facilidad. Ya una vez en el laboratorio se mantuvo las muestras hidratadas en recipientes de agua para evitar la deshidratación del *Opuntia ficus-indica*.

2.3 Elaboración de los contenedores

2.3.1 Cámara

Para permitir el crecimiento del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en un ambiente controlado y estable se dispuso un ambiente cerrado. Se construyó una cámara cerrada de vidrio dividida en tres niveles, para lo cual se recubrió por dentro de tecnopor. En ella se acopló un termo higrómetro, el cual tiene la función de controlador la temperatura y humedad, como se visualiza en la Figura N° 2-1.



Figura 2-1 Cámara cerrada

2.3.2 Contenedores que soporten el gel

Aprovechando la forma original de una jarra se dispuso acoplar una bomba de agua de un limpia parabrisas, el cual ayudaba a la recirculación del mucilago. Asimismo se tuvo que dividir el envase con una estructura metálica tipo panel con diámetro 15 cm. Esta sirvió de soporte del gel en el cual anidaron los insectos *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). (Figura N° 2-2)



Figura 2-2 Contenedor para el soporte del gel

2.4 Medio de cultivo

Para el cultivo de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se utilizó un medio de cultivo sólido de agar. Este medio fue útil para proporcionar los nutrientes y permitir la sobrevivencia del insecto.

2.4.1 Preparación del Medio de Cultivo

En este trabajo se procedió a preparar un medio de cultivo, el cual sirvió de soporte para el insecto. Este medio de cultivo simula la estructura de una penca, conteniendo los nutrientes que le permitieron la anidación y el crecimiento del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla).

2.4.1.1 Harina de nopal (*Opuntia ficus-indica*)

Se seleccionaron pencas de nopal de la variedad *Opuntia ficus-indica*, de aproximadamente 200 y 500 g. Estos están libres de daños y ataques de insectos, como se muestra en la Figura N° 2-3.



Figura 2-3 *Opuntia ficus-indica* cladodios limpios y cortados

Una vez seleccionadas las pencas se siguió la metodología descrita para la preparación de harina de nopal, indicada en la Figura N° 2-4, la cual se describe a continuación:

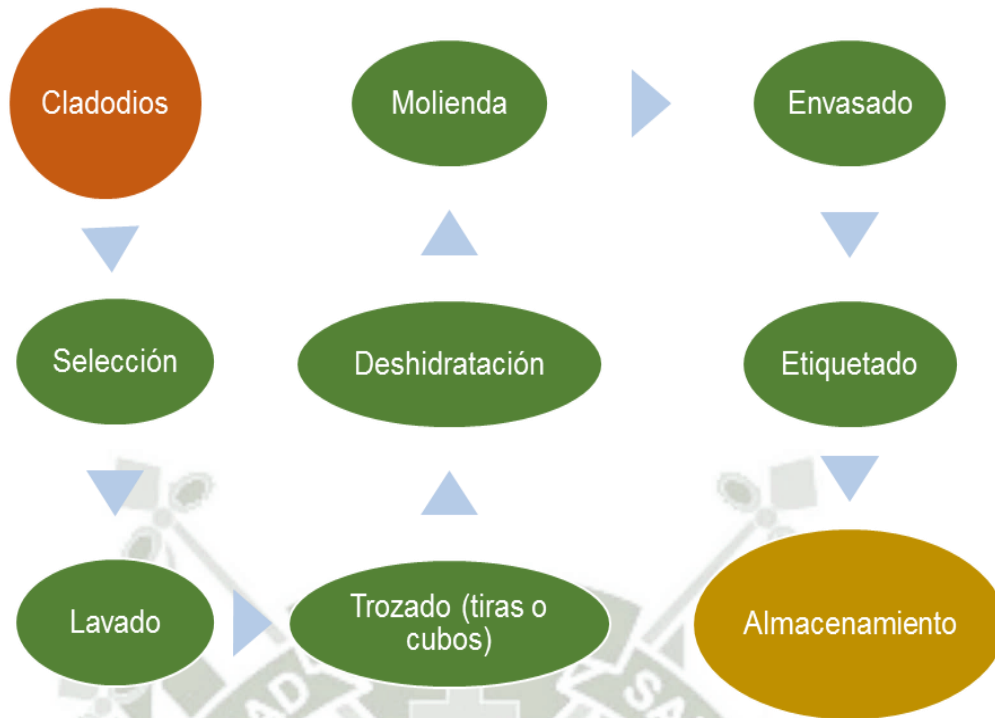


Figura 2-4 Diagrama de flujo para la obtención de harina de *Opuntia ficus-indica* (nopal), extraído de: Sepúlveda et. al. (1995) (40)

Tomando en cuenta la metodología de preparación establecido por Sepúlveda (1995) como se visualiza en la Figura N° 2-4, la preparación fue la siguiente:

- Lavado de las pencas quitando impurezas
- Desinfección de las pencas en una solución de hipoclorito de sodio (5%) durante 30 min
- Troceado de las pencas procurando tener un espesor de aproximadamente de 1cm.
- Las pencas cortadas se colocaron en bandejas y se llevan a un deshidratador de cabina comenzando por un secado a 80°C durante 2 horas y luego a 70 °C.
- Una vez seco se sometió a una molienda para lo cual se utilizó un molino de muelas y se pulverizan hasta obtener un polvo fino.
- Se envaso en un recipiente y se refrigero.

La elaboración de la harina de *Opuntia ficus – indica* se puede ver en la Figura N° 2-5 que se presenta a continuación.



Figura 2-5 Elaboración de harina de *Opuntia ficus-indica*

2.4.1.2 Agar - Agar

El gelificante más usado es el agar-agar, extracto de algas rojas, del cual existen versiones más o menos purificadas. El agar tiene la ventaja de que una vez gelificado no funde hasta cerca de los 100°C, lo que permite su uso para la inmensa mayoría de bacterias.

A continuación se procedió a preparar tres concentraciones diferentes para llegar a identificar la concentración adecuada que pueda simular la estructura de la penca. Las concentraciones son las siguientes para un volumen de 1 litro se utilizaron 10, 15 y 20 g de agar-agar, la cual se visualiza en la Figura N° 2-6. La preparación se describe a continuación.

- Se suspende la cantidad del medio en un litro de agua destilada
- Calentar con agitación suave hasta su completa disolución
- Hervir durante un minuto
- Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos
- Enfriar a una temperatura entre 45 – 50°C
- Vaciar a placas petri estériles



Figura 2-6 Elaboración de medio de cultivo

2.4.1.3 Extracción de mucilago de nopal (*Opuntia ficus-indica*)

Para la obtención de mucilago de nopal *Opuntia ficus-indica* se siguió el procedimiento elaborado por Abraján (2008) como se visualiza en Figura N° 2-7. (41)

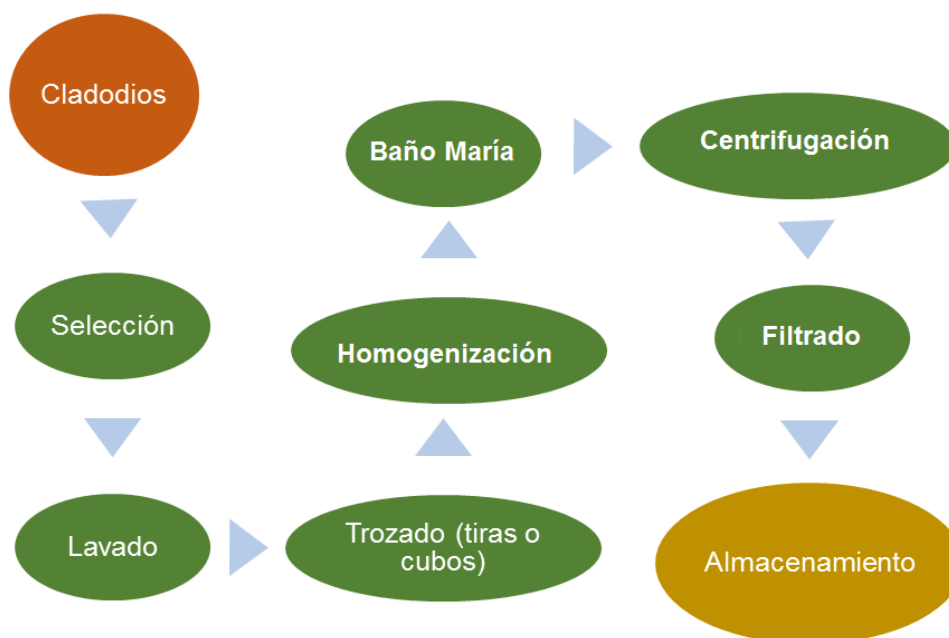


Figura 2-7 Diagrama de flujo para la extracción del mucilago de *Opuntia ficus-indica*
extraído de: Abraján M. (2008) (41)

Las pencas de la tuna *Opuntia ficus-indica* almacena considerables cantidades de agua, lo que permite a las plantas soportar largos periodos de sequía. Los nopales contienen sustancias viscosas generalmente conocidas como mucilago. El papel del mucilago es de retener el agua. (42) (43)

Para esta investigación no se completó todos los pasos que sugiere la metodología de Abraján (2008), debido a que no se requirió de mucilago deshidratado, como se visualiza Figura N° 2-8. La metodología se describe a continuación:

- Selección de las pencas en buenas condiciones
- Desinfección de las pencas en una solución de hipoclorito de sodio al 5% de concentración en un litro de agua por 10 a 15 minutos
- Remoción de la capa externa (epidermis) de la penca
- Troceado de las pencas en tira de 1 cm
- Homogenización de la penca con agua destilada (aproximadamente 100 ml) en una licuadora Oster, licuándolos a velocidad constante entre 2- 5 minutos. Luego se vertió la muestra en un beaker de 250 ml
- Los beakers fueron llevados a baño maría a 80°C por 5 minutos sin agitación
- La solución fue transvasado a tubos de Falcón de 50 ml y se llevaron a la centrifugadora a 4000 rpm por 30 minutos.
- Filtrado de los tubos en papel filtro
- Almacenamiento en el refrigerador



Figura 2-8 Proceso de extracción de mucilago de *Opuntia ficus-indica*

2.4.2 Elaboración del medio cultivo

Una vez identificados los ingredientes se procedió a la agrupación el medio de cultivo. Este medio de cultivo simula la estructura de una penca, conteniendo los nutrientes que le permitieron la anidación y el crecimiento del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), el cual se visualiza en la Figura N° 2-9

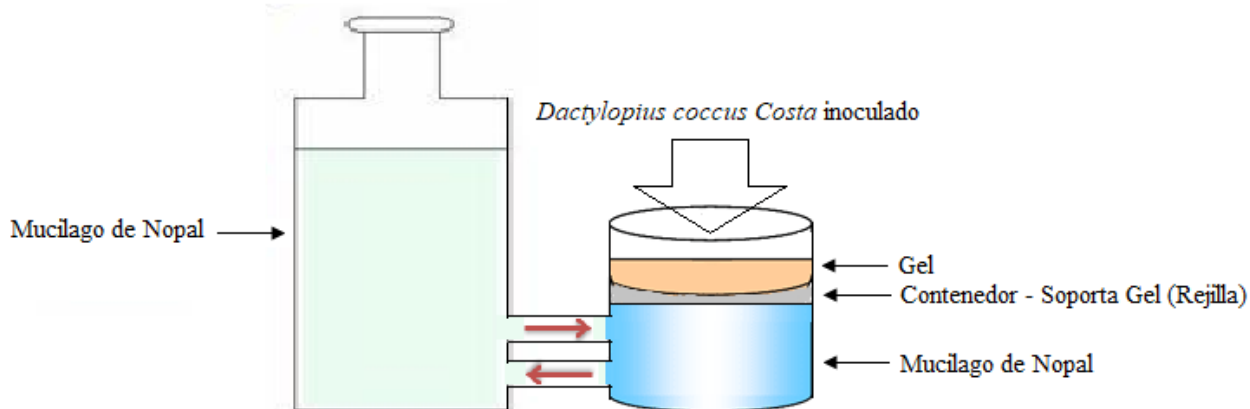


Figura 2-9 Esquema del medio de cultivo (gel estratificado) para la anidación del insectos *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

Tabla 2-3 Composición del medio de cultivo para la anidación de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

Blanco	Medio de Cultivo 1	Medio de Cultivo 2
15 gr. Agar Agar	15 gr Agar Agar	20 gr. Agar Agar
1lt Agua destilada	6 gr Harina de penca de Tuna	10 gr. Harina de penca de tuna
pH 5	1lt Agua destilada	1 lt Agua destilada
	pH 5	pH 5
	500 ml Mucilago de nopal líquido	500 ml Mucilago de nopal líquido

Para identificar la mejor composición del medio de cultivo (gel estratificado) se preparó dos medios de cultivo con concentraciones diferentes con el objetivo de identificar cual era el más apropiado para la anidación y crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), según lo descrito en la Tabla N° 2-3:

Procedimiento

- Se suspende la cantidad del medio en un litro de agua destilada
- Calentar con agitación suave hasta su completa disolución
- Hervir durante 1 minuto
- Esterilizar en autoclave a 121 °C (15 libras de presión) por 15 minutos
- Enfriar aproximadamente a 45°C
- Trasvasar a las placas Petri.
- Rotular
- Usar el medio de cultivo
- Conservar los restantes en refrigeración a 2-8°C

2.5 Anidación y crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

2.5.1 Infestación inducida

Una vez elaborado el medio de cultivo (gel estratificado) se procedió a infestarlo con *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). Para esta investigación se empleó *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), el cual se encontraba infestando pencas de *Opuntia ficus-indica* proveniente del distrito de La Joya, Arequipa – Perú.

Las pencas se encontraban con gran cantidad de colonias hembra impregnadas en su etapa de ovoposición, como se visualiza en la Figura N° 2-10.



Figura 2-10 Pencas *Opuntia ficus-indica* infestadas con *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) provenientes del distrito La Joya - Arequipa, Perú

2.5.2 Monitoreo macroscópico

Se procedió hacer un seguimiento del ciclo biológico de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en laboratorio. Para la identificación fue necesario su observación macroscópica por un estereoscopio. Es por ello que se tomó en cuenta el aspecto del insecto como son su color y textura, así mismo se tomaron sus medidas biométricas como es el largo y el ancho de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), como se visualiza en la Figura N° 2-11.



Figura 2-11 Insectos *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) anidando el medio de cultivo gel estratificado

Marín y Cisneros (1977) muestra el tiempo del ciclo biológico de la hembra de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), el cual se visualiza en la Tabla N° 2-4 (44)

Tabla 2-4 Ciclo de desarrollo de la hembra de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla);
extraído de Marín y Cisneros (44)

Estado	Tiempo
Huevo	15 – 20 días
Migrante	21 – 25 días
Ninfa II	13 – 18 días

Adulta	Pre oviposición	30 – 68 días
	Oviposición	28 – 50 días
	Post oviposición	10 – 20 días

Se hicieron lecturas de sus medidas biométricas cada semana de los meses de octubre a enero. Durante todo el periodo de muestreo se comparó su desarrollo con los otros insectos cultivados en los diferentes medios de cultivos, para lo cual se tuvo de referencia las medidas por Marín y Cisneros, Tabla N° 2-4.

2.6 Secado de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

Para la técnica de secado de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se tomó la técnica del secado al natural. Este método consiste en exponer al insecto a los rayos de sol, como medio de transferencia de calor. Los insectos fueron expuestos por un periodo de 6 días sobre una rejilla y papel filtro, como se visualiza en la Figura N° 2-12.



Figura 2-12 Insectos *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en proceso de secado

2.7 Determinación del porcentaje del ácido carmínico mediante técnicas de espectrofotométricas

Para la determinación del ácido carmínico se utilizó la técnica de espectrofotometría ultravioleta – visible. Esta se fundamenta en la medición de la transmitancia o absorbancia de una sustancia, en función de la longitud de onda de la radiación

electromagnética. La cantidad de energía absorbida es la diferencia entre la radiación incidente (I_0) y la transmitida (I), que se expresa normalmente como transmitancia o absorbancia.

De acuerdo a la ley de Beer, se establece que la absorbancia es proporcional al número de moléculas absorbentes por las que pasa la luz, de tal modo que:

$$A = E * b * c$$

Dónde:

E = Coeficiente de extinción molar, este es característico de una sustancia en condiciones definidas de longitud de onda, solvente y temperatura, cuyo camino óptico es de 1 cm y cuya concentración es del 1 %.

b = Paso óptico o espesor de la celda, expresado en cm.

c = concentración de la especie absorbente.

La unidad que se usa para describir las longitudes de onda es el nanómetro ($\text{nm} = 10^{-7}$, cm). El espectro visible se extiende aproximadamente desde 400 nm (violeta) hasta 750 nm (rojo), mientras que el de ultravioleta abarca el intervalo 100-400 nm.

Se determina la absorbancia utilizando un espectrofotómetro, para lo cual se hizo la lectura del blanco (HCL) del patrón y de las muestras a 494 nm.

2.8 Métodos de análisis físico – químicos para *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

2.8.1 Tamizado

Una vez secado y molida *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) fue necesario realizar su clasificación de calidad, para lo cual se utilizó el método de tamizado. Este consiste en tamizar el pulverizado de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) y posteriormente pesarlo, según el siguiente:

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) primera} = \frac{m_1}{M} \times 100$$

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) segunda} = \frac{m_2}{M} \times 100$$

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) tercera} = \frac{m_3}{M} \times 100$$

Dónde:

$m_1; m_2; m_3$ = Peso de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) retenida

M = Peso de muestra de laboratorio (0.2 g)

m_1 = Peso retenido (0.188 g)

m_2 = Peso retenido (0.008 g)

m_3 = Peso retenido (0.004 g)

Cálculos reemplazando las ecuaciones:

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) primera} = \frac{0.188}{0.2} \times 100 = 94\%$$

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) segunda} = \frac{0.008}{0.2} \times 100 = 4\%$$

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) tercera} = \frac{0.004}{0.2} \times 100 = 2\%$$

Dónde:

M = Peso de muestra de campo (100.024 g)

m_1 = Peso retenido (95.022 g)

m_2 = Peso retenido (3.734 g)

m_3 = Peso retenido (0.849 g)

Cálculos reemplazando las ecuaciones:

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) primera} = \frac{95.022}{100.024} \times 100 = 94.99\%$$

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) segunda} = \frac{3.734}{100.024} \times 100 = 3.731\%$$

$$\% \text{ Dactylopius coccus Costa (cochinilla) tercera} = \frac{0.849}{100.024} \times 100 = 0.847\%$$

2.8.2 Impurezas

Es necesario determinar el porcentaje de impurezas de las muestras de *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla). Por esta razón se retiraron todas las impurezas y se pesaron las mismas. Para su determinación del porcentaje de impurezas se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Impurezas} = \frac{x_1 - x_2}{x_1} \times 100$$

Dónde:

x_1 = Peso inicial de muestra de laboratorio (0.1890 g)

x_2 = Peso de muestra sin impurezas (0.1874 g)

Cálculos reemplazando la ecuación:

$$\% \text{ Impurezas} = \frac{0.1890 - 0.1874}{0.1890} \times 100 = 0.85\%$$

Después de retirar todas las impurezas se obtiene el porcentaje de impurezas del *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla) seca, el cual es 0.85%

Dónde:

x_1 = Peso inicial de muestra de campo (20.065 g)

x_2 = Peso de muestra sin impurezas (19.725 g)

Peso de impurezas = 0.340 g

Cálculos reemplazando la ecuación:

$$\% \text{ Impurezas} = \frac{20.065 - 19.725}{20.065} \times 100 = 1.694\%$$

2.8.3 Humedad

El porcentaje de la humedad es necesario debido a que una elevada concentración de humedad en la muestra puede ocasionar contaminación de esta misma, como podría ser

la presencia de hongos. Para la determinación del porcentaje de la humedad de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(P_2 - P_1)}{m} \times 100$$

Dónde:

P_1 = Peso del crisol con la muestra seca de laboratorio (45.5942 g)

P_2 = Peso del crisol con la muestra húmeda de laboratorio (45.7922 g)

m = Peso inicial de la muestra (1.5532 g)

Cálculos reemplazando la ecuación:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(45.7922 - 45.5942)}{1.5532} \times 100 = 12.747\%$$

El porcentaje de humedad es de 12.747% para la muestra de laboratorio. En cuanto al porcentaje de humedad para la muestra de campo fue de 9.58%. A continuación se muestran los cálculos.

Dónde:

P_1 = Peso del crisol con la muestra seca de campo (46.0431 g)

P_2 = Peso del crisol con la muestra húmeda de campo (46.2411 g)

m = Peso inicial de la muestra (2.0650 g)

Cálculos reemplazando la ecuación:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(46.2411 - 46.0431)}{2.0650} \times 100 = 9.588\%$$

2.8.4 Extracción de grasas

Se realizó el método de extracción por Soxhlet el cual consiste en la dilución de un componente empleando un disolvente adecuado (extracción sólido – líquido). En ese sentido se procedió a pesar *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) seca y molida.

Seguidamente es introducida en un cartucho de papel filtro en la cámara de extractor se Soxhlet. Posteriormente se coloca en la cámara el solvente aproximadamente 100 ml de hexano en una operación a 32°C por una hora. Conectando ambas cámaras con el refrigerante, asegurándose que circule el agua. Se calentó el solvente aproximadamente a 60°C, mientras los vapores ascienden por el brazo de vapor y al condensarse en el refrigerante caían a la cámara impregnando a la muestra. Según la fórmula indicada se realizaron los cálculos,

$$\% \text{ Grasas} = \frac{(m_2 - m_1)}{m} \times 100$$

Dónde:

m_1 = Peso del balón (117.941 g)

m_2 = Peso del balón con grasa de muestra de laboratorio (118.077 g)

m = Peso inicial de la muestra (1.5532 g)

Cálculos reemplazando la ecuación:

$$\% \text{ Grasas} = \frac{(118.077 - 117.941)}{1.5532} \times 100 = 8.775\%$$

El porcentaje de grasas es de 9.588% para la muestra de laboratorio. A continuación se muestran los cálculos para el porcentaje de grasas para la muestra de campo.

Dónde:

m_1 = Peso del balón (117.941 g)

m_2 = Peso del balón con grasa de muestra de campo (118.079 g)

m = Peso inicial de la muestra (2.0650 g)

Cálculos reemplazando la ecuación:

$$\% \text{ Grasas} = \frac{(118.079 - 117.941)}{2.0650} \times 100 = 6.692\%$$

2.8.5 Análisis de ácido carmínico (método FCCII)

La metodología en la determinación del porcentaje de ácido carmínico es necesario utilizar un estándar, para la presente investigación se aplicó uno de pureza de 94%. Después de la selección y limpieza de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) seca se procedió a molerla en un mortero y tamizarlo a una malla de 0.1 mm. Seguidamente se procede a la extracción para lo cual al fino pulverizado de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se le agrega agua destilada con agitación moderada a temperatura 95°C por un tiempo de 30 minutos. Luego es filtrada la solución a la cual se le añade un agente de separación másico obteniéndose un precipitado, que es recuperado por sedimentación. La torta es lavada con agua destilada y luego diluida con ácido clorhídrico. En ese sentido se procedió a determinar el porcentaje de ácido carmínico por el método de espectrofotométrico, el cual se detalla:

- La muestra pesada se transfiere a un vaso de precipitación de 250 ml
- Adicionar 30 ml de HCL 2N
- Calentar (a ebullición) en baño maría durante 10 minutos
- Enfriar la solución hasta 20°C y filtrar con papel
- Llevar el la solución filtrada a una fiola de 1 litro y enrasar con agua destilada
- Se hacen lecturas a 494 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro. El rango de absorbancia para FCCII debe ser de 0.68 a 0.72

- La muestra pesada se transfiere a un vaso de precipitación de 250 ml
- Adicionar 30 ml de HCL 2N
- Calentar a ebullición en baño maría durante 5 minutos hasta que este casi transparente o color anaranjado la solución
- Añadir aproximadamente 30 ml de agua destilada para enfriar
- Filtrar con papel filtro
- Lavar el filtrado con 250 ml de agua destilada
- Determinar la absorbancia a 494 nm utilizando como blanco agua destilada
- Para los cálculos se usó la siguiente formula

$$\% \text{ Ácido Carmínico} = \frac{Abs(494) * V}{p * d * 139}$$

Dónde:

$Abs(494)$ = Absorbancia, lectura de la solución a 494 nm

V = Volumen de dilución 1000 ml

p = Peso de muestra (0.10g)

d = Distancia óptica de las cubetas (1cm)

139 = Corresponde a un contenido de 100% de ácido carmínico

Cálculos reemplazando la ecuación para muestra Campo:

$$\% \text{ Ácido Carmínico} = \frac{0.799 * 10}{0.2599 * 1.39} = 22.11\%$$

Cálculos reemplazando la ecuación para muestra Laboratorio:

$$\% \text{ Ácido Carmínico} = \frac{0.385 * 10}{0.1078 * 1.39} = 25.69\%$$



3 CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Fase de establecimiento del medio de cultivo utilizado como soporte

Para introducir un cultivo vivo in vitro que se ha desarrollado en el exterior es imprescindible tomar una serie de medidas encaminadas a eliminar los posibles microorganismos que puedan estar establecidos sobre él. De estas consideraciones surge el establecimiento de los cultivos, es decir, la separación de la muestra y las operaciones relacionadas con su incubación in Vitro. Dependerá en gran medida del tipo de explante y del sistema de cultivo que se emplee, el cual estará condicionado al objetivo del estudio. Además un determinado sistema de cultivo puede ser de gran utilidad para un objetivo pero inútil para otros. (45)

En primer lugar hay que seleccionar el material adecuado estando libre de enfermedades y plagas. Si el material presentase algún problema habría que descartarlo o realizar los tratamientos adecuados. Una vez seleccionado el material, y previamente a la introducción in vitro, es conveniente someterle a una serie de tratamientos para reducir al máximo los microorganismos superficiales. Algunos microorganismos pueden tener una alta capacidad saprofita que les permite colonizar rápidamente el medio de cultivo e imposibilitar el desarrollo del material vegetal. El paso previo a la instalación in vitro de un material vegetal es la asepsia superficial. (45)

La fase de establecimiento in vitro comprendió la preparación del medio de cultivo, el cual se tuvo que asemejar a la textura de la penca de la tuna. El protocolo de este proceso dependió de las características del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla).

3.1.1 Establecer concentración del agar – agar como integrante del medio de cultivo

Para el establecimiento del medio de cultivo fue necesario como primer paso la preparación del agar – agar (extracto de algas rojas), el cual tiene la ventaja de que una vez gelificado no funde hasta cerca los 100°C. Para la identificación de la mejor concentración de agar - agar se prepararon tres concentraciones diferentes 10, 15 y 20 g para un volumen de 1 litro. Dando como resultado la Tabla N° 3-1.

Tabla 3-1 Identificación del peso del agar – agar para la consistencia del medio de cultivo

Peso de Agar – Agar	Consistencia del medio		
	Forma	Superficie	Borde
10 g	Irregular	Umbilicada	Ondulado
15 g	Circular (Homogéneo)	Plana (Homogéneo)	Redondeado (Homogéneo)
20 g	Circular	Plana	Redondo

Se probaron varias concentraciones de agar – agar con el fin de determinar su mejor composición para lo cual fue calificado según la representación esquemática de forma, superficies y bordes (Anexo N° 4). Para una concentración de agar – agar (10 g) no se estableció una adecuada consistencia. En cambio para una concentración de 15 g presento homogeneidad del medio, observándose una buena solidez del mismo. En ese mismo sentido la concentración de 20 g presento una adecuada consistencia del medio.

3.1.2 Establecer concentración de harina de tuna (*Opuntia ficus-indica*) como integrante del medio de cultivo

Nuevamente se evaluó tres concentraciones diferentes para un volumen de 1 litro. Se realizó esta identificación para determinar la concentración adecuada de harina como integrante del medio de cultivo (gel estratificado) para la anidación del insecto. En ese sentido fue necesario infestar el medio con el insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla), dando como resultado la Tabla N° 3-2:

Tabla 3-2 Identificación del peso de la harina de (*Opuntia ficus-indica*) como ingrediente del medio de cultivo

Peso de harina	Respuesta del insecto
6 g	Insecto mostro Aceptación
10 g	Insecto mostro Aceptación
14 g	Insecto Murió

Según lo analizado en el estereoscopio, los insectos que fueron cultivados en las placas de 6 y 10 gramos mostraron signos de aceptación. En las que se escuchó succión y se visualizó movilidad de las patas del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). En cambio el de 14 g el insecto murió.

3.1.3 Concentración de mucilago de nopal (*Opuntia Ficus-Indica*) como integrante del medio de cultivo

Según lo que menciona Habibi (2005) las metodologías de extracción del mucilago cambian según la fuente de mucilago (cladodio o fruto) y la parte concreta de la que se extraerá el hidocoloide (piel, pulpa o semillas) (46)

Se evaluó dos concentraciones diferentes de volumen de mucilago de nopal. Para la identificación de la cantidad más adecuado en base a las necesidades del insecto, dando como resultado la tabla N° 3-3:

Tabla 3-3 Identificación del medio de cultivo (gel estratificado) incorporando mucilago de nopal (*Opuntia ficus-indica*)

Blanco	Medio de Cultivo 1	Medio de Cultivo 2
15 gr. Agar Agar 1lt Agua destilada pH 5	15 gr Agar Agar 6 gr Harina de penca de Tuna 1lt Agua destilada pH 5	20 gr. Agar Agar 10 gr. Harina de penca de tuna 1 lt Agua destilada pH 5
	500 ml Mucilago de nopal líquido	500 ml Mucilago de nopal líquido

En la figura N° 3-1 se hace la comparación de los tres medios de cultivo empleados para la anidación de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla). Así mismo indicar que para la presente investigación fue necesario tener un medio “blanco” con el fin de comparar los dos medios de cultivo propuestos.

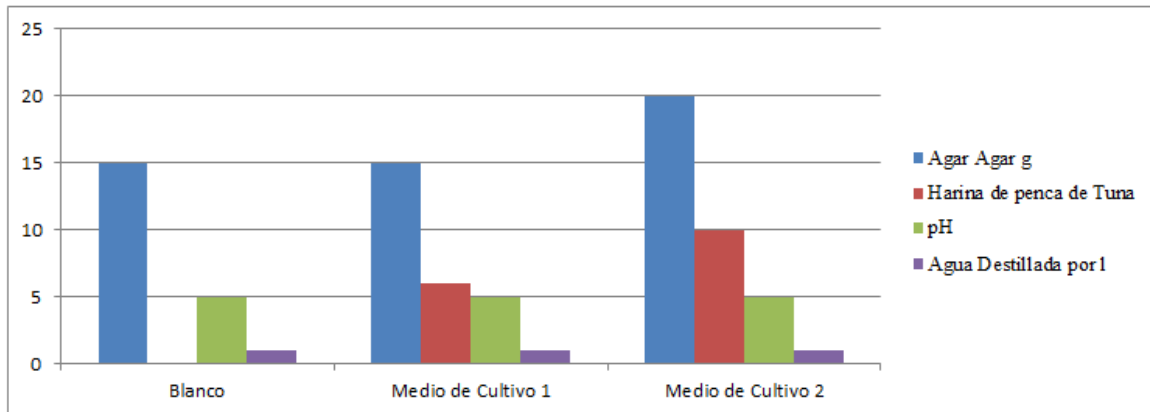


Figura 3-1 Gráfica comparativa del medio de cultivo (gel estratificado) incorporando mucilago de nopal (*Opuntia ficus-indica*)

Durante las 15 semanas de experimentación se procedió a medir los insectos semanalmente tanto el largo como el ancho del mismo. De esta forma se estableció las medidas mínimas y máximas, según este procedimiento el promedio de las medidas biométricas se visualiza en la tabla N° 3-4.

Tabla 3-4 Promedio de medidas biométricas del largo y ancho del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) bajo condiciones de laboratorio

	LARGO	ANCHO
Mínimo	1.02 mm	0.49 mm
Máximo	1.14 mm	0.58 mm
Promedio	1.06 mm	0.52 mm

En la presente investigación se realizaron tres repeticiones por lo cual en total duro 15 semanas la experimentación. Durante este tiempo se monitoreo el insecto, para lo cual se consideró sus características físicas siendo este caso el tamaño. En ese sentido en las tablas N° 3-5, 3-6 y 3-7 se puede visualizar los promedios de las medidas biométricas del largo y ancho de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en las diferentes repeticiones.

Tabla 3-5 Medidas biométricas del primer ensayo (largo y ancho) del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) bajo condiciones de laboratorio

Repeticiones Semanas		Blanco		Medio de Cultivo 1		Medio de Cultivo 2	
		Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho
Primera	1	1 mm	0.49 mm	1.02 mm	0.49 mm	1.02 mm	0.49 mm
	2	1 mm	0.49 mm	1.03 mm	0.49 mm	1.02 mm	0.50 mm
	3	1 mm	0.49 mm	1.03 mm	0.51 mm	1.03 mm	0.50 mm
	4	1 mm	0.49 mm	1.04 mm	0.51 mm	1.03 mm	0.50 mm
	5	1 mm	0.49 mm	1.04 mm	0.51 mm	1.03 mm	0.51 mm
Promedio		1.00 mm	0.49 mm	1.03 mm	0.50mm	1.03 mm	0.50 mm

Tabla 3-6 Medidas biométricas del segundo ensayo (largo y ancho) del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) bajo condiciones de laboratorio

Repeticiones Semanas		Blanco		Medio de Cultivo 1		Medio de Cultivo 2	
		Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho
Segunda	1	1 mm	0.50 mm	1.02 mm	0.50 mm	1.02 mm	0.50 mm
	2	1 mm	0.50 mm	1.02 mm	0.50 mm	1.02 mm	0.50 mm
	3	1 mm	0.50 mm	1.03 mm	0.51 mm	1.02 mm	0.50 mm
	4	1 mm	0.50 mm	1.04 mm	0.51 mm	1.02 mm	0.50 mm
	5	1 mm	0.50 mm	1.04 mm	0.51 mm	1.03 mm	0.50 mm
Promedio		1.00 mm	0.50 mm	1.03 mm	0.51mm	1.02 mm	0.50 mm

Tabla 3-7 Medidas biométricas del tercer ensayo (largo y ancho) del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) bajo condiciones de laboratorio

Repeticiones Semanas		Blanco		Medio de Cultivo 1		Medio de Cultivo 2	
		Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho
Tercer	1	1 mm	0.49 mm	1.02 mm	0.50 mm	1.02 mm	0.49 mm
	2	1 mm	0.49 mm	1.04 mm	0.51 mm	1,02 mm	0.50 mm

	3	1 mm	0.49 mm	1.04 mm	0.51 mm	1.02 mm	0.50 mm
	4	1 mm	0.49 mm	1.06 mm	0.52 mm	1.03 mm	0.51 mm
	5	1 mm	0.49 mm	1.06 mm	0.52 mm	1.03 mm	0.51 mm
Promedio		1.00 mm	0.49 mm	1.04 mm	0.51 mm	1.03 mm	0.50 mm

En la figura N° 3-2 precisamente se muestra la síntesis de las medidas biométricas durante las 15 semanas de experimentación. En ella se puede apreciar que hay similitud entre las tres repeticiones de la investigación.

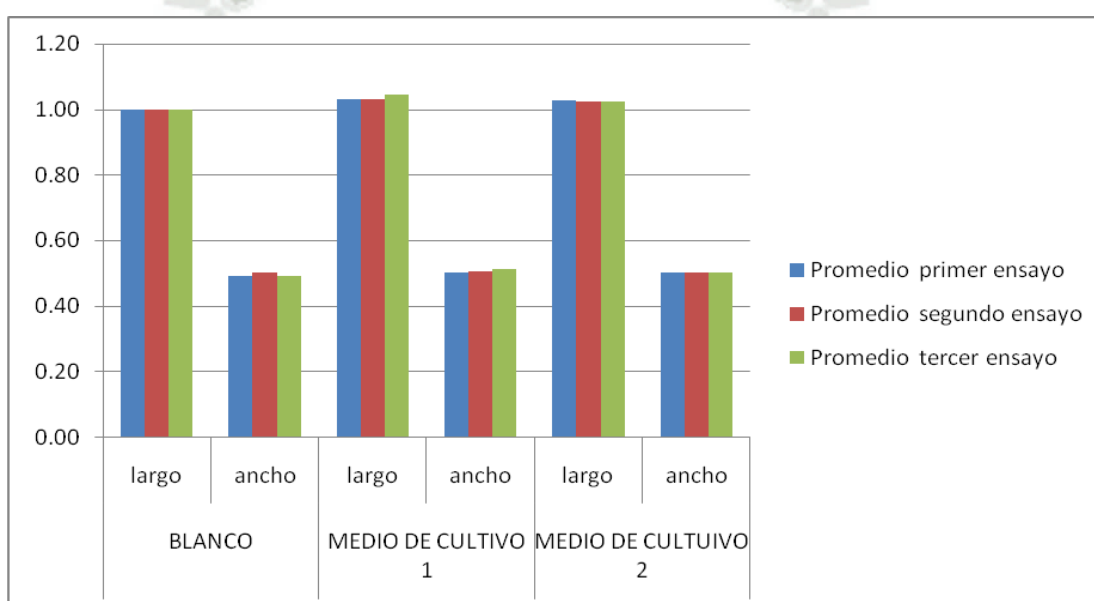


Figura 3-2 Gráfica comparativa de ancho y longitud de crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en las tres experimentaciones durante las 15 semanas

Tabla 3-8 Comparación de longitud de crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en los tres medios de cultivo durante las 15 semanas de experimentación

Medio de Cultivo	Promedio (mm)	Significancia
Blanco	1.00	A
Medio de Cultivo 2	1.02	a
Medio de Cultivo 1	1.04	a
F=0.80		Ft= 2.76
P>0.05		

En la Tabla N° 3-8 según el análisis de varianza se muestra que el crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en los tres medios de cultivo para las tres repeticiones no presento diferencias estadísticas significativas ($P>0.05$).

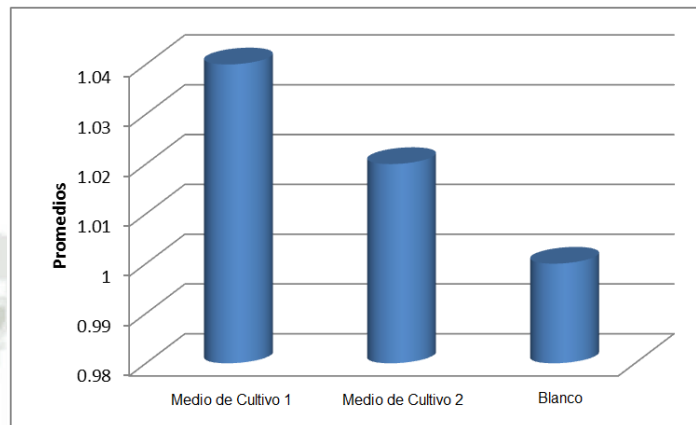


Figura 3-3 Gráfica comparativa de longitud de crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en las tres experimentaciones durante las 15 semanas

Asimismo se muestra que el promedio del crecimiento en el medio de cultivo (blanco) fue de 1.00 mm, en el medio de cultivo 2 fue de 1.02 mm y en el medio de cultivo 1 fue de 1.04 mm, la cual se expone en la figura N° 3-3.

Tabla 3-9 Comparación del ancho de crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en los tres medios de cultivo durante las 15 semanas de experimentación

Medio	Promedio (mm)
Blanco	0.49 mm
Medio de Cultivo 2	0.50 mm
Medio de Cultivo 1	0.51 mm

Asimismo se muestra que el promedio del crecimiento en el medio de cultivo (blanco) fue de 0.49 mm, en el medio de cultivo 2 fue de 0.50 mm y en el medio de cultivo 1 fue de 0.51 mm, la cual se expone en la Figura N° 3-4

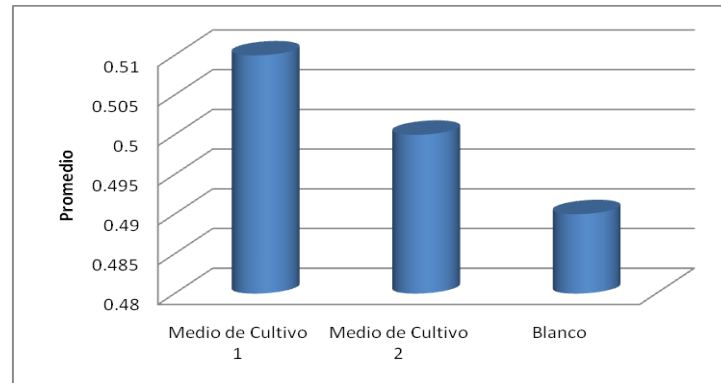


Figura 3-4 Gráfica comparativa de ancho de crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en las tres experimentaciones durante las 15 semanas

3.2 Anidación y crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

3.2.1 Identificación macroscópica

Para la siguiente investigación se ha considerado las características físicas de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) siendo las siguientes; el color, textura y tamaño. Asimismo debemos recordar que el *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) empleado fue en su fase de Ninfa migrante. Esta presenta la forma oval, color rojo y su tamaño es de 0.68 mm de longitud a 0.26 mm de ancho. La segunda muda *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) alcanza su cuerpo una longitud de 1.02 mm de largo y 0.49 mm de ancho como máximo. Una vez que llega a su fase de adultez el tamaño puede variar entre 2.5 a 2.9 mm por largo y de 1.60 a 2.0 mm de ancho, dependiendo de las condiciones de su cultivo.

Los resultados que se obtuvieron del crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se pueden apreciar en la Tabla N° 3-10

Tabla 3-10 Comparación del crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) tomando como modelo la medición estándar insecto de campo

Medidas Biométricas Estándar para <i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) de campo		Blanco	Medio de Cultivo 1	Medio de Cultivo 2
Largo	Ancho			
1.02 mm	0.49 mm	+	+++	++

Los resultados para la determinación del mejor crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) fue calificado por cruces donde: (+) significa crecimiento bajo, (++) crecimiento regular (+++) buen crecimiento.

En la Tabla N° 3-11 se puede apreciar el promedio de las medidas biométricas de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) a diferencia del crecimiento en campo. En cuanto al promedio de las medidas biométricas de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se puede concluir que el crecimiento de la ninfa II no es muy significativa a diferencia del crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en campo.

Tabla 3-11 Medición del crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) de campo distrito de La Joya y de laboratorio

Medidas Biométricas		<i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) de campo	<i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) de laboratorio
Largo	Mínimo	1.03 mm	1.00 mm
	Máximo	1.14 mm	1.09 mm
Ancho	Mínimo	0.49 mm	0.34 mm
	Máximo	0.58 mm	0.50 mm

Los resultados que se obtuvieron del color y textura se visualizan en la Tabla N° 3-12

Tabla 3-12 Identificación macroscópica de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) de campo distrito de La Joya y de laboratorio

Medidas Biométricas	<i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) de campo	<i>Dactylopius coccus Costa</i> (cochinilla) de laboratorio
Color	Rojo – violeta	Rojo – violeta
Textura	Blanda	Blanda

Los resultados que se obtuvieron en cuanto al color y textura de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) no variaron a diferencia del crecimiento en campo.

3.3 Determinación del porcentaje del ácido carmínico

Para evaluar la calidad del medio se tomaron en cuenta las características del insecto

Dactylopius coccus Costa (cochinilla), para lo cual se midió su porcentaje de ácido carmínico.

Para la determinación del ácido carmínico se aplicó los fundamentos espectrofotométricos, según la siguiente formula:

$$\% \text{ Ácido Carmínico} = \frac{ABS(494) * V}{P * d - 139}$$

$ABS(494)$ = Absorbancia a 494 nm

V = Volumen de dilución en ml (1000 ml)

p = Peso de la muestra (0.10 g)

Cálculos reemplazando la ecuación:

$$\% \text{ Ácido Carmínico} = \frac{(45.7922 - 45.5942)}{1.5532} \times 100 = 12.747$$

3.3.1 Resultados experimentales obtenidos

Las mediciones se realizaron a 494 nm de longitud de onda debido a es el indicado para las lecturas del color rojo. A continuación en la Tabla N° 3-13 se detalla las lecturas de absorbancia para la muestra de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) que creció bajo condiciones de campo del Distrito de la Joya – El Cano, Arequipa – Perú.

Tabla N° 3-13 Resultados de la absorbancia en proporción al peso de la muestra para la muestra de Campo, distrito de La Joya, provincia de Arequipa, Perú

Número de repeticiones	Peso de la Muestra	Lecturas de Absorbancia
L muestra de laboratorio 1	0.259 g	0.799
L muestra de laboratorio 2	0.262 g	0.785
L muestra de laboratorio 3	0.245 g	0.765
L muestra de campo Promedio	0.256 g	0.783

De acuerdo a la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos los estándares de calidad para el porcentaje de ácido carmínico debe encontrarse entre 20 y 22%. De acuerdo a la Tabla N° 3-14 el promedio del porcentaje se encuentra dentro del requisito.

Tabla 3-14 Porcentaje de ácido carmínico para la muestra de campo, distrito de La Joya, provincia de Arequipa, Perú

Número de repeticiones	Porcentaje de ácido carmínico muestra de campo
	$\% \text{ Ácido Carmínico} = \frac{ABS(494) * 100}{13.9 * W}$
Muestra de campo 1	22.117
Muestra de campo 2	21.522
Muestra de campo 3	22.399
Promedio	22.013

Tabla N° 3-15 Resultados de la absorbancia en proporción al peso de la muestra para la muestra de laboratorio

Número de repeticiones	Peso de la Muestra	Lecturas de Absorbancia
L muestra de laboratorio 1	0.107	0.385
L muestra de laboratorio 2	0.106	0.391
L muestra de laboratorio 3	0.104	0.375
L muestra de campo Promedio	0.106	0.384

Tabla N° 3-16 Obtención de ácido carmínico para la muestra de laboratorio

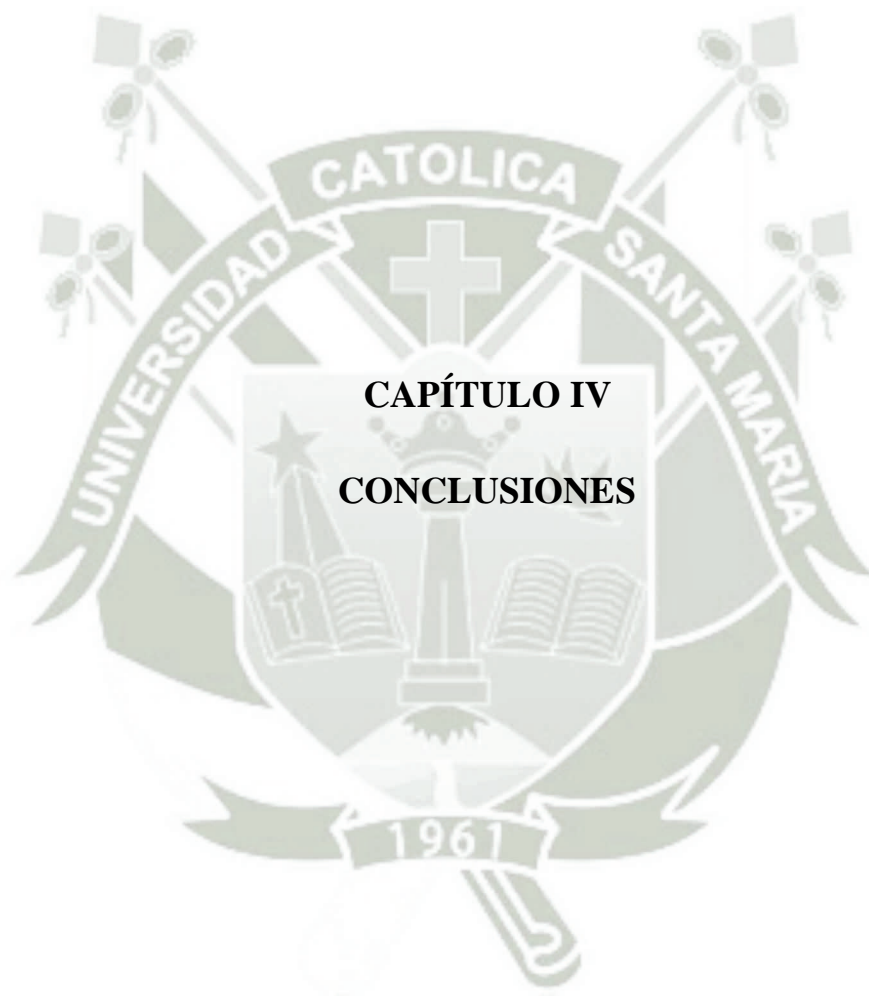
Número de repeticiones	Porcentaje de ácido carmínico muestra de campo
	$\% \text{ Ácido Carmínico} = \frac{ABS(494) * 100}{13.9 * W}$
Muestra de campo 1	25.693
Muestra de campo 2	26.437
Muestra de campo 3	25.718
Promedio	25.949

De acuerdo a los valores obtenidos en la Tabla N° 3-17 el valor obtenido del porcentaje de ácido carmínico se debe a que el insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se encuentra en su etapa de ninfa II y al no haber terminado su desarrollo y el porcentaje de ácido carmínico se encuentra en mayores concentraciones.

3.4 Evaluación de las características físico – químicas de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)

Tabla N° 3-17 Composición físico - química de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en fase seca

Componente	Composición promedio % P/P	
	Muestra de campo	Muestra de laboratorio
Apariencia	Insecto negro - plateado	Insecto negro - plateado
Humedad	12.74%	9.58%
Impurezas	1.69%	0.85%
Viscosidad	No viscoso	No viscoso
Grasas	8.77%	6.69%
Ácido Carmínico	22.01	25.94



CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES

4.1 Conclusiones

PRIMERA

Se determinó que para la elaboración de un gel estratificado como medio de anidación del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) no presenta una adecuada estructura debido a que el gel se desintegra con el paso del tiempo.

SEGUNDA

Las evaluaciones de las medidas biométricas de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) se evaluaron en su fase de Ninfa II, por lo cual los resultados obtenidos demuestran que el insecto cultivado bajo condiciones de laboratorio no presenta variación significativa en comparación del insecto cultivado en campo. El promedio de las medidas biométricas son de longitud 1.06 mm y de ancho 0.52 mm. Por otro lado la textura del insecto es blanda y el color de su cuerpo es rojo violeta igual al insecto cultivado en campo. Según los resultados podemos mencionar que según el análisis de varianza se muestra que el crecimiento de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) en los tres medio de cultivo no presento diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$). Asimismo se muestra que el promedio del crecimiento en el blanco fue de 1.00 mm, en la medio de cultivo 2 fue de 1.02 mm y en la medio de cultivo 1 fue de 1.04 mm. Concluyendo que el mejor resultado fue obtenido en el medio de cultivo 1.

TERCERA

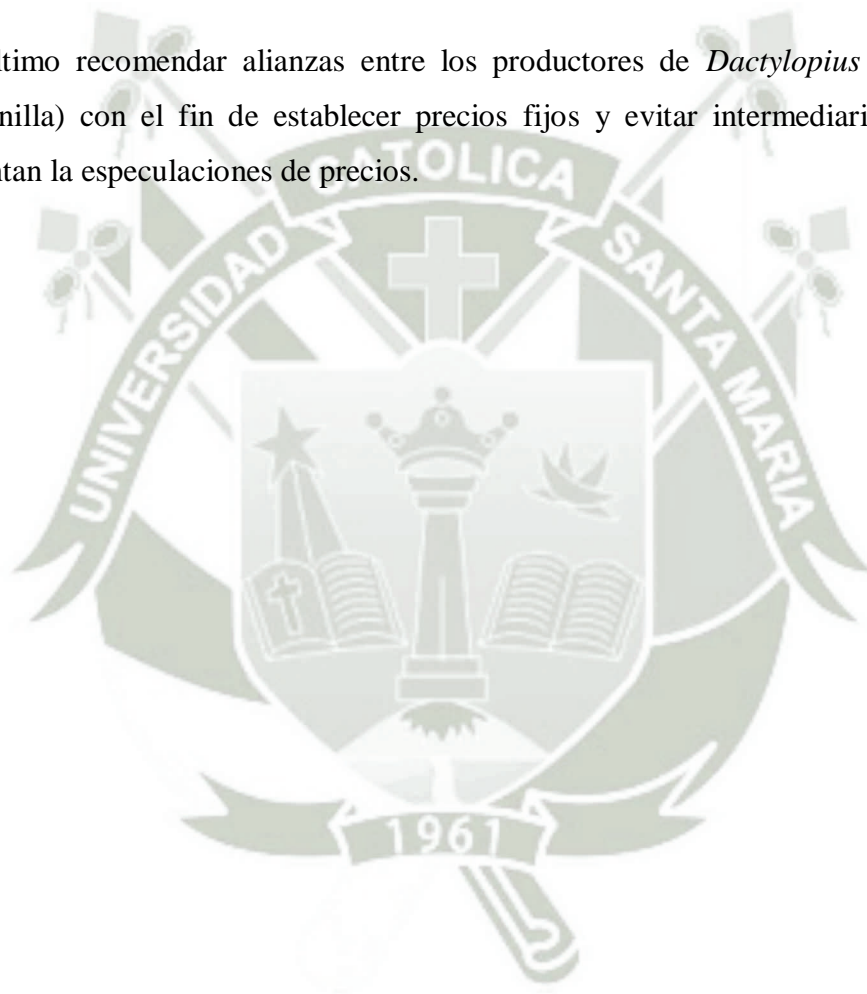
El porcentaje de ácido carmínico cultivado bajo condiciones de campo es usualmente de 22%. En la presente investigación se obtuvo 25% de ácido carmínico del insecto *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) cultivado bajo condiciones de laboratorio. A pesar de obtener un porcentaje alto de ácido carmínico, no se puede tomar como favorable debido a que la Administración de Drogas y Alimentos FDA toma como estándar el promedio de 20 a 22%.

4.2 Recomendaciones

Debido a que en la actualidad se desconoce la elaboración de un medio de cultivo para la anidación, crecimiento y reproducción del *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) es necesario tecnificar el medio de cultivo para optimizar la producción del insecto

Se recomienda no bombear el flujo del mucilago, dado que descompone el medio de cultivo provocando que *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) pierda su aparato bucal. Esto con lleva que el insecto deje de succionar el líquido y termina por fenecer.

Por último recomendar alianzas entre los productores de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla) con el fin de establecer precios fijos y evitar intermediarios, los cuales aumentan la especulaciones de precios.



Referencias bibliográficas

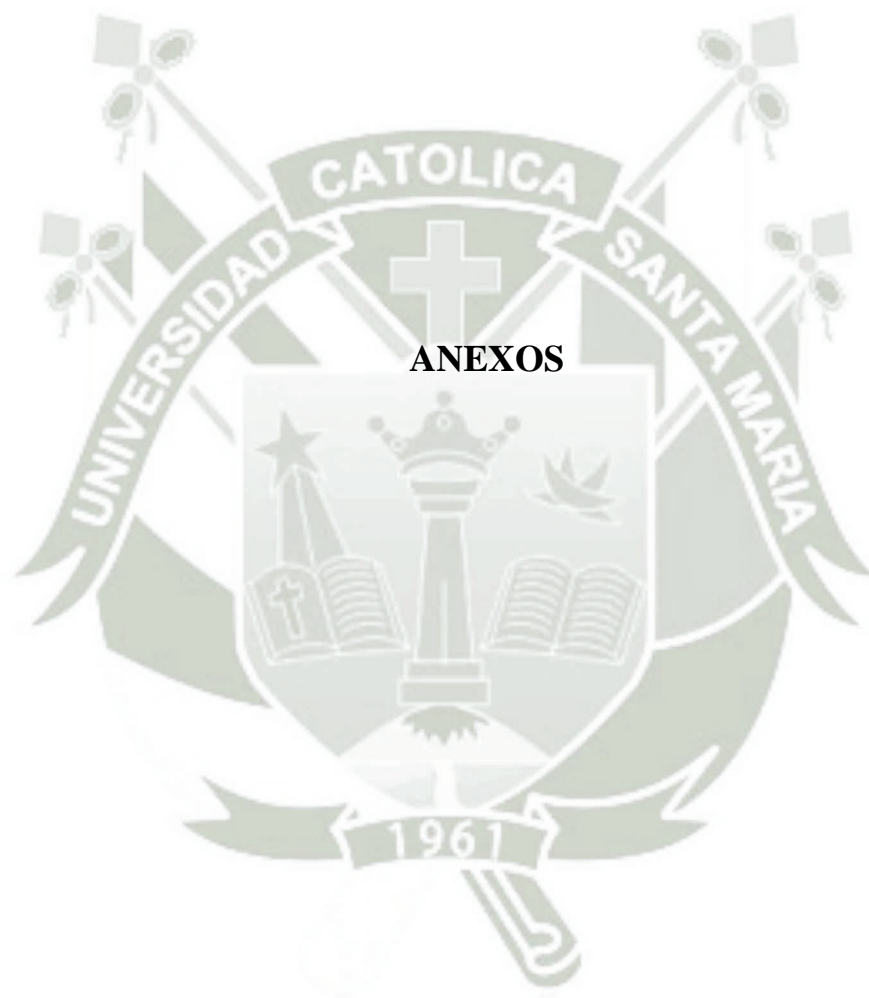
1. TOVAR A. Producción de grana cochinilla del nopal *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae) en dos localidades del sur del estado de Nuevo León (2000) pág. 4
2. PORTILLO, L y A.L Vigueras. México before the worldwide production of cochineal. Cactusnet newsletter (2002) 7: 3-5.
3. RODRÍGUEZ, L.C y H.M. Niemeyer. Evidencias indirectas sobre el origen de la cochinilla, *Dactylopius coccus* (Hemíptera: Dactylopiidae) Revista Chilena de Entomología (2000) 27:85-89.
4. DIARIO GESTIÓN. Exportaciones de cochinilla cayeron 26% en primer bimestre del 2017.
5. PALOMINO, M., R.YW. NAVARRO A. El cultivo de la tuna y la propagación de la cochinilla. PROFEL. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. (1988)
6. PIÑA L. La grana o cochinilla del nopal. Monografías LANFI N° 1 Publicaciones de los laboratorios Nacionales de Fomento Industrial México (1977) pág. 55
7. ÁLVAREZ, B. Análisis de Factibilidad del cultivo de la Tuna en la Localidad de Icaño, Departamento La Paz. Dirección Provincial de Programación del Desarrollo. Ministerio de Producción y Desarrollo. Gobierno de la Provincia de Catamarca. Argentina. (2007)
8. BARBERA, G., P. Inglese, y T. La Mantia.. Influence of seed content on some characteristics of the fruti of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). Acta II Congreso Internacional de la Tuna y Cochinilla, Santiago, Chile. (1992) pág. 8-14.

9. VELÁSQUEZ E. El nopal y su historia. Editorial Clío. México (1998)
10. SCHEINVAR, L. Taxonomía de las *Opuntias* utilizadas. Agroecología, cultivo y usos del nopal. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal N° 132. Roma (1999)
11. AVENDAÑO E. Conociendo la Cadena Productiva de Tuna y cochinilla en Ayacucho (2008)
12. BUSTAMANTE. (2006) O. Oro rojo del Perú, grana Cochinilla pág. 12
13. SHREVE, F., and I. Wiggins. Vegetation and Flora of Sonoran Desert. Stanford University Press, Stanford. (1964) pág. 1740
14. SCHEINVAR, L. Taxonomy of utilized opuntias. In: Agro-ecologý, Cultivation and Uses of Cactus Pear, Barbera, G. P. Inglese, E. Pimienta, and E. Arias (eds). FAO. Roma (1995) pág. 20-27.
15. REYES-AGÜERO, J., R. Aguirre-Rivera y H. Hernández. Notas sistemáticas y una descripción detallada de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae). Agrocienia (2005) pág. 39: 395-408.
16. SUDZUKI, F., C. Muñoz y H. Berger. El cultivo de la tuna (Cactus Pear). Departamento de Reproducción Agrícola. Universidad de Chile. (1993)
17. CASTRO J, Paredes C. y Muños D.. (2009) El Cultivo de Tuna *Opuntia ficus indica*, Gerencia Regional de Agraria La Libertad, Trujillo - Perú
18. SAENZ, C. Utilización agroindustrial del Nopal. Fao. (2006) Cap. 7 pág. 99-112

19. MÉNDEZ GALLEGOS, S.J., PANZAVOLTA, T., TIBERI, R. Carmine Cochineal *Dactylopius coccus Costa* (Rhynchota: Dactylopiidae): Significance, production and use. *Adv. Hort. Sci*, 17 (2003) pág. 165-171
20. GÓMEZ MENOR ORTEGA, J. Cócidos de España. Instituto de investigaciones agronómicas. (1937) pág. 432
21. DONKIN, A.P. Sapanih red. An ethno geographical study of cochineal and the *Opuntia cactus*. The American Philosophical Society (1977) pág. 3-82
22. VILLASEÑOR F.U. Origen de los nombres grana y cochinilla utilizados para nombrar a *Dactylopius coccus Costa*. (2012)
23. CLAVIJERO F.J. Historia Antigua de Mèxico. Porrúa, México (1990)
24. RÍO Y DUEÑAS I. La grana cochinilla fina. Instituto Estatal de Ecología de Oaxaca, Mèxico (2006)
25. RAMOS – ZUÑIGA R. El nocheztlí perdido de Autlán. Universidad de Guadalajara, Jalisco (2006)
26. TOVAR A. (2000) Producción de grana cochinilla del nopal *Dactylopius coccus Costa* (Homoptera: *Dactylopiidea*) en dos localidades del sur del estado de Nuevo León
27. PEREA E. (2006) Oro rojo: la grana cochinilla ¿Cómo ves? pág. 2-7
28. MARIN, I. R Y F CISNEROS V. (1977) Biología y Morfología de la cochinilla del carmín, *Dactylopius coccus Costa* (Homóptera: *Dactylopiidae*) Lima- Perú
29. GUERRA, G. (1991) Biosystematics of the family *Dactylopiidae* (Homoptera: Coccinea) with emphasis on the life cycle of *Dactylopiidae coccus Costa*. Tesis doctoral. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, pág. 168

30. RODRIGO E., CATALÁ-OLTRA M., GRANERO M. Estudio comparativo de la morfología y biología de *Dactylopius coccus Costa* y *Dactylopius Opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae), dos especies presentes en la comunidad Valencia (2010) Valencia, España
31. BERNILLA N. (1998) Cultivo de la Tuna y crianza de la Cochinilla Lima, Perú.
32. MAMANI G. y HUAMANI I. (2015) Evaluación comparativa de los métodos Thorpe y Frances para la obtención de carmín a partir de la cochinilla (*Dactylopius coccus Costa*) en el distrito de la Joya
33. INCAGRO Cartilla del IDESI Ayacucho. Manejo productivo de la Tuna y Cochinilla (2005)
34. PIMIENTA BARRIOS E. Castillo Cruz I. Zañudo Hernández. I., Méndez Morán I., 2007. Effects of shade, drought and daughter cladodes on the CO₂ uptake by cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *Annals of Applied Biology*, 151: 137-144
35. MAMANI G. y HUAMANI I. (2015) Evaluación comparativa de los métodos Thorpe y Frances para la obtención de carmín a partir de la cochinilla (*Dactylopius coccus Costa*) en el distrito de la Joya
36. GIBAJA, S. 1998. Pigmentos naturales quinónicos. Perú, Fondo Editorial UNMSM. Cap. III. P 71
37. ORTIZ R. (2014) Aplicaciones de la fotocatalisis oxidativa con ZnO y luz solar para el tratamiento de agua contaminada con colorantes industriales. Escuela de Postgrado Maestría en Química del Medio Ambiente. Universidad Católica de Santa María

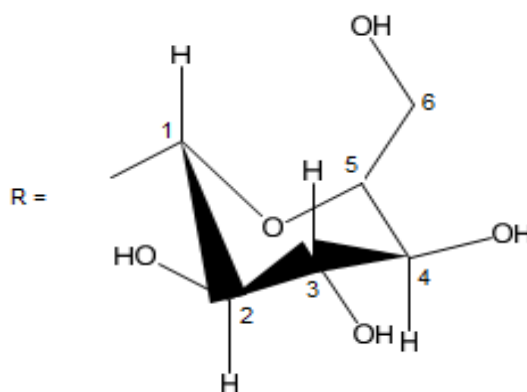
38. FDA, 2009 US Food and Drug Administration. Reglamento de estándares para tintes, pinturas y lacas de productos alimenticios.
39. KOO, W 2017, Agrodateru Cochinilla Carmín Perú Exportación
40. SEPÚLVEDA E (1995).Utilización agroindustrial del nopal - México
41. ABRAJAN V.M (2008) Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucilago del nopal *Opuntia ficus-indica* y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible.
42. GARCÍA F.B (2013) Mucilago de nopal (*Opuntia spp*) sobre propiedades micro morfológicas y estructurales del suelo en trigo
43. RODRIGUEZ C. (2017) Evaluación del mucilago de nopal *Opuntia ficus-indica* como agente estabilizante en néctar de maracuyá *Passiflora edulis*
44. MARÍN & CISNEROS (1977) Biología y Morfología de la cochinilla del Carmín *Dactylopius coccus Costa*
45. ROCA W.M (1991) Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro. Instituto de Botánica del Nordeste, Argentina
46. HABIBI, Y., Mahrouz, M. y Vignon, M.R. 2005. Isolation and structural characterization of protopectin from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 60: 205-213



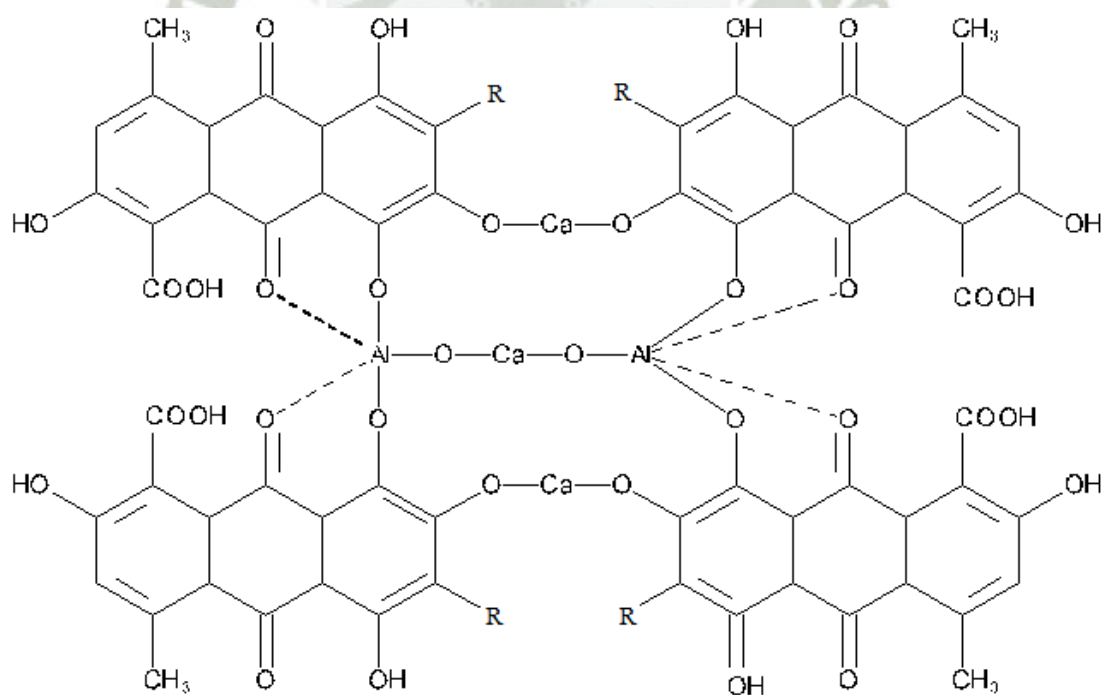
Anexo 1: Fórmulas estructurales propuestas para carmín

No se conoce la fórmula estructural del carmín, pero se han sugerido las siguientes:

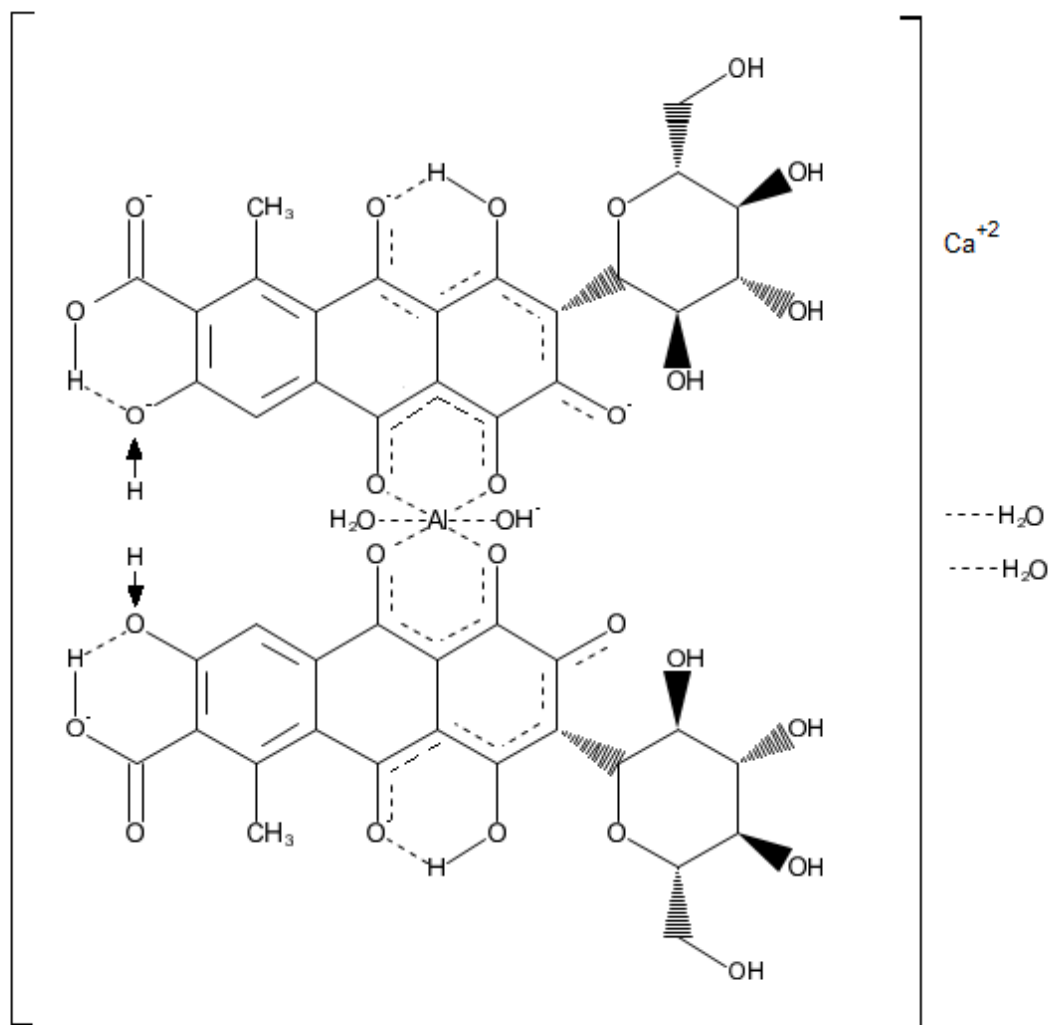
Donde $R = C_6H_{11}O_5$



- Fórmula sugerida por Harms



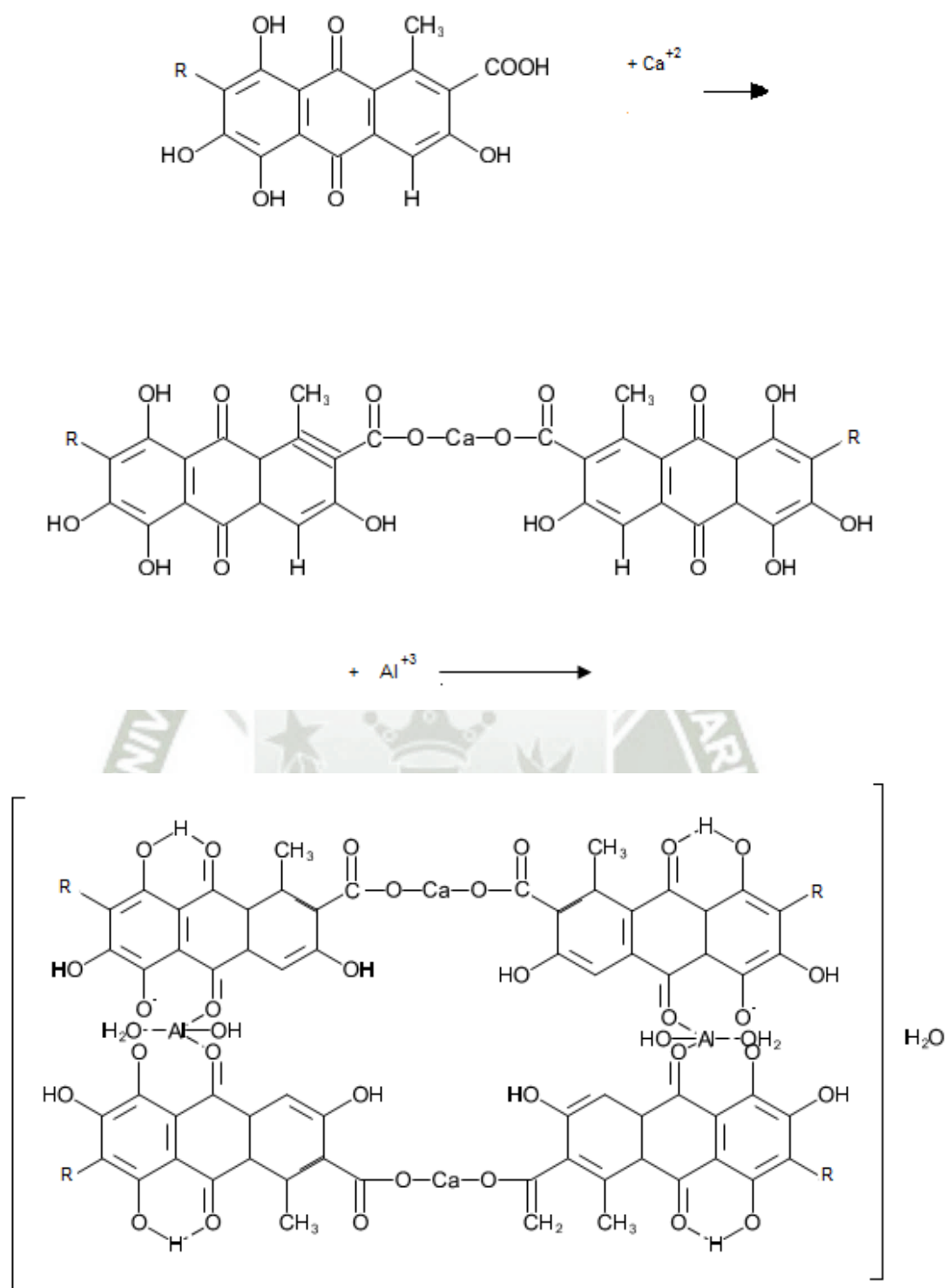
- Fórmula sugerida de Meloam y col



Meloam y col sugiere la fórmula indicada para el complejo del ácido carmínico – aluminio - calcio, que es análoga con la fórmula de Kiel – Heerjes establecida para el complejo de 2 alizarina – aluminio – calcio. (36)

- Fórmula sugerida de Forgios







En el método de Forgios el extracto acuso de la cochinilla es tratado con Ca^{+2} para dar carminato de calcio – proteína y este complejo se trata con sulfato de aluminio. El aluminio se adiciona a los oxígenos de $5C-O$ y $10>C=O$ del carminato de calcio y se forma el carmín. (36)















Cuando el carmín de cochinilla se trata con aluminio, su color rojo intenso vira al violeta. Este desplazamiento es producido por adición del Al⁺³ a los oxígenos de los grupos 8C-OH y 9C=O y a los OH de C₄ y C₆ del resto del azúcar. (36)

Anexo 2: Representación esquemática de la forma, superficie y bordes de diferentes tipos de colonias bacterianas desarrolladas sobre medios sólidos

Representación esquemática de la forma, superficie y bordes de diferentes tipos de colonias bacterianas desarrolladas sobre medios sólidos.

FORMA	
PUNTIFORME 	IRREGULAR 
CIRCULAR 	RIZOIDE 
FILAMENTOSA 	FUSIFORME 

SUPERFICIE	
PLANA 	ACUMINADA 
PLANOCONVEXA 	UMBILICADA 
CONVEXA 	PAPILADA 

BORDE	
REDONDEADO 	ESPICULADO 
ONDULADO 	FILAMENTOSO 
LOBULADO 	RIZOIDE 

Anexo 3: Fotos cultivo en campo, distrito de La Joya, provincia Arequipa - Perú









Anexo 4: Certificado de identificación de *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
AREQUIPA - PERU

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
LABORATORIO DE ENTOMOLOGIA
SERVICIO DE IDENTIFICACION



ESCUELA PROFESIONAL Y
ACADEMICA DE BIOLOGIA
TELF.: 284372
DEPARTAMENTO
ACADÉMICO DE BIOLOGÍA



ESCUELA PROFESIONAL Y
ACADEMICA CS. DE
LA NUTRICION
TELF.: 227264
DEPARTAMENTO ACADÉMICO
DE CS. DE LA NUTRICIÓN



ESCUELA PROFESIONAL Y
ACADEMICA ING. PESQUERA
TELF.: 222542
DEPARTAMENTO ACADÉMICO
DE INGENIERÍA PESQUERA
TELF.: 285930

Para: Miriam Fabiola Lacunza Murillo		Fecha 28/10/2016
Atención: Miriam Fabiola Lacunza Murillo		Lote 01-2016
Muestra: Insectos en cladodio de <i>Opuntia ficus-indica</i> Mill. "tuna". Muestreado por la solicitante en cultivo comercial de tuna de la localidad de La Joya Antigua. Información proporcionada por la solicitante		Informe completo: X.
Muestra N°	Resultado de la evaluación:	Cantidad
01	Clase: Insecta. Orden Hemiptera. Suborden Sternorrhyncha Familia: Dactylopiidae. Género: <i>Dactylopius</i> Especie: <i>Dactylopius coccus</i> Costa. N. V.: "cochinilla del carmín".	50 aproximadamente




- **J. Gualberto Mamani M., Mg. Sc.**
- **ENTOMÓLOGO CBP 501**

AV. DANIEL A. CARRION S/N - APARTADO 23 - Telefax: (054) 237755

**Anexo 5: Informe de ensayo físico químico de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)
muestra de campo distrito de La Joya, provincia de Arequipa - Perú**



UNIDAD DE PRODUCCION DE BIENES Y
PRESTACION DE SERVICIOS
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y SERVICIOS
LABINVSERV

INFORME DE ENSAYO FISICO QUIMICO

N° DE REPORTE: 17612-17

NOMBRE DEL CLIENTE	: MIRIAM FABIOLA LACUNZA MURILLO
DIRECCIÓN	:
ASUNTO	: ANÁLISIS FISICO QUIMICO
PRODUCTO	: COCHINILLA
CANTIDAD DE MUESTRAS	: 01
LUGAR Y FECHA DE RECEPCIÓN	: AREQUIPA, 2017-01-10
CARACTERÍSTICAS Y CONDICIONES	: BOLSA DE PLASTICO
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS	: AREQUIPA. 2017-01-11
REFERENCIA	: MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE
PROCEDENCIA	: MUESTRA N° 1 CAMPO LA JOYA
CODIGO DE REGISTRO DE MUESTRA	: 23160

- LOS RESULTADOS OBTENIDOS CORRESPONDEN AL ANÁLISIS SOLICITADO EN LA MUESTRA RECIBIDA.
- ESTE FORMATO NO SERÁ REPRODUCIDO SIN AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO SERVLAB

PAGINA 1 DE 2

Av. Independencia s/n. Ciudad Universitaria Laboratorio 108-Primer Piso
Teléfono: 220360 E-mail: upbs.servilab@hotmail.com



UNIDAD DE PRODUCCION DE BIENES Y
PRESTACION DE SERVICIOS
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y SERVICIOS
LABINVSERV

INFORME DE ENSAYO

N° DE REPORTE: 17612-17

DETERMINACIÓN DE :					
Acido Carmínico	%	22.22	-----	-----	-----
OBSERVACIONES:					

METODO DE ENSAYO

DETERMINACIÓN	METODO DE ENSAYO APLICADO NORMA /REFERENCIA / NOMBRE
Acido Carmínico	Método FCC II

PAGINA 2 DE 2

Emitido en Arequipa (Perú), el 11 de Enero del 2017



Dr. Juan Reyes Larico
Jefe de Laboratorio
RCQP - 348




Anal. Qm. Ruth Begazo Guillén.
Químico Responsable

Av. Independencia s/n Ciudad Universitaria Laboratorio 108 -Primer Piso
Teléfono: 220360 E-mail: upbs.servilab@hotmail.com

**Anexo 6: Informe de ensayo físico químico de *Dactylopius coccus Costa* (cochinilla)
muestra de laboratorio**



UNIDAD DE PRODUCCION DE BIENES Y
PRESTACION DE SERVICIOS
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y SERVICIOS
LABINVSERV

INFORME DE ENSAYO FISICO QUIMICO

N° DE REPORTE: 17613-17

NOMBRE DEL CLIENTE	: MIRIAM FABIOLA LACUNZA MURILLO
DIRECCIÓN	:
ASUNTO	: ANÁLISIS FISICO QUIMICO
PRODUCTO	: COCHINILLA
CANTIDAD DE MUESTRAS	: 01
LUGAR Y FECHA DE RECEPCIÓN	: AREQUIPA, 2017-01-10
CARACTERÍSTICAS Y CONDICIONES	: BOLSA DE PLASTICO
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS	: AREQUIPA. 2017-01-11
REFERENCIA	: MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE
PROCEDENCIA	: MUESTRA N° 2 LABORATORIO
CODIGO DE REGISTRO DE MUESTRA	: 23161

- LOS RESULTADOS OBTENIDOS CORRESPONDEN AL ANÁLISIS SOLICITADO EN LA MUESTRA RECIBIDA.
- ESTE FORMATO NO SERÁ REPRODUCIDO SIN AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO SERVILAB

PAGINA 1 DE 2

Av. Independencia s/n Ciudad Universitaria Laboratorio 108-Primer Piso
Teléfono: 220360 E-mail: upbs.servilab@hotmail.com



UNIDAD DE PRODUCCION DE BIENES Y
PRESTACION DE SERVICIOS
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y SERVICIOS
LABINVSERV

INFORME DE ENSAYO

N° DE REPORTE: 17613-17

DETERMINACIÓN DE :					
Acido Carmínico	%	25.46			
OBSERVACIONES:					

METODO DE ENSAYO

DETERMINACIÓN	METODO DE ENSAYO APLICADO
	NORMA /REFERENCIA / NOMBRE
Acido Carmínico	Método FCC II

PAGINA 2 DE 2

Emitido en Arequipa (Perú), el 11 de Enero del 2017



Dr. Juan Reyes Larico
Jefe de Laboratorio
RCQP - 348




Anal. Qm. Ruth Begazo Guillén.
Químico Responsable

Av. Independencia s/n Ciudad Universitaria Laboratorio 108-Primer Piso
Teléfono: 220360 E-mail: upbs.servilab@hotmail.com