

CACTÁCEAS

y ^{Fig. 2.} *suculentas mexicanas*

Fig. 1.

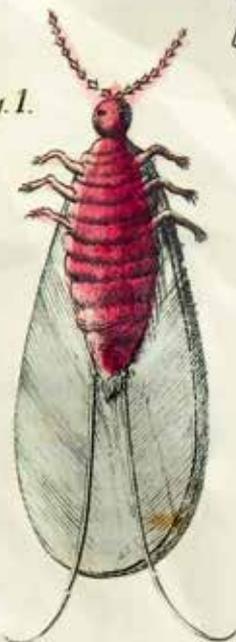


Fig. 4.

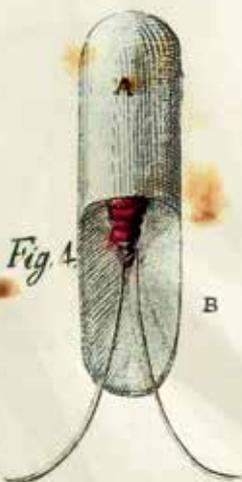


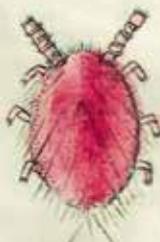
Fig. 3.



Fig. 5.



Fig. 7.



CACTÁCEAS y *suculentas* mexicanas

Volumen 65 No. 4
Octubre-diciembre 2020

Editor Fundador
Jorge Meyrán

Consejo Editorial
Anatomía y Morfología
Dra. Teresa Terrazas
Instituto de Ecología, UNAM

Ecología
Dr. Arturo Flores-Martínez
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
Dr. Pablo Ortega-Baés
Universidad de Salta Argentina

Etnobotánica
Dr. Javier Caballero Nieto
Jardín Botánico IB-UNAM

Evolución y Genética
Dr. Luis Eguiarte
Instituto de Ecología, UNAM

Fisiología
Dr. Oscar Briones
Instituto de Ecología A. C.

Florística
M. en C. Francisco González Medrano †
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco
Dr. Luis G. Hernández Sandoval
Universidad Autónoma de Querétaro
M. en C. Aurora Chimal Hernández
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

Horticultura
Dr. Candelario Mondragón Jacobo, INIFAP-UAQ
Dr. Elhadi Yahia
Universidad Autónoma de Querétaro

Química y Biotecnología
Dr. Francisco Roberto Quiroz Figueroa
Instituto Politécnico Nacional, Unidad Sinaloa

Sistemas Reproductivos
Dra. Sonia Vázquez Santana
Facultad de Ciencias, UNAM
Dr. Jafet Nassar
Instituto Venezolano de
Investigaciones Científicas

Taxonomía y Sistemática
Dr. Fernando Chiang
Instituto de Biología, UNAM
Dr. Roberto Kiesling
CRICYT, Argentina
Dr. John Rebmán
Museo de Historia Natural, San Diego

Editores
Dr. Jordan Golubov
UAM-Xochimilco
Dra. María C. Mandujano Sánchez
Instituto de Ecología, UNAM
Dr. Humberto Suzán Azpíri
Facultad de Ciencias Naturales, UAQ, campus Juriquilla

Asistentes editoriales
Dra. Mariana Rojas Aréchiga
Instituto de Ecología, UNAM
Dra. Guadalupe Malda Barrera
Facultad de Ciencias Naturales, UAQ, campus Juriquilla

Diseño editorial y versión electrónica
Palabra en Vuelo, SA de CV

Impresión
Solicita la impresión bajo demanda al correo
palabraenvuelo@yahoo.com.mx
o al tel. 55-5271-3845

SOCIEDAD MEXICANA DE CACTOLOGÍA, AC

Presidenta Fundadora
Dra. Helia Bravo-Hollis †

Fotografía de portada:
Gazeta de literatura de México Tomo III. Lámina I.
Francisco Agüera Bustamante

Cactáceas y Suculentas Mexicanas es una revista trimestral de circulación internacional y arbitrada, publicada desde 1955, su finalidad es promover el estudio científico y despertar el interés en esta rama de la botánica.

El contenido de los artículos es responsabilidad exclusiva de los autores y se encuentran bajo la licencia Creative Commons .

La revista *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* se encuentra registrada en los siguientes índices: CAB Abstracts, BIOSIS (Thomson Reuters), Periodica y Latindex.

The journal *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* published since 1955.

The articles are under the Creative Commons license .

The journal *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* is registered in the following indices: CAB Abstracts, BIOSIS (Thomson Reuters), Periodica and Latindex.

Dirección editorial (editor's address): *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, Instituto de Ecología, UNAM, Apto. Postal 70-275, Cd. Universitaria, 04510, Ciudad de México, México.

Correo electrónico: cactsucmex@iecolgia.unam.mx

Suscripciones



El costo de suscripción y envío a la revista es de \$720.00 para México y 45 USD o 39 € para el extranjero. Suscripción y entrega en Lab. Genética y Ecología, Instituto de Ecología, UNAM (Dra. Mariana Rojas) \$500.00.

• Pago de suscripción mediante depósito en BBVA Bancomer a la cuenta: 0446308554 a nombre de Palabra en Vuelo SA de CV.

• Para transferencia en el mismo banco y cuenta con la CLABE: 012180004463085547.

• Para transferencia internacional añadir la clave: BCMRMXMMPYM.

• Mediante PayPal enviar a la cuenta con el correo:

palabraenvuelo1@gmail.com

Enviar comprobante de pago a los correos: mrojas@ecologia.unam.mx y palabraenvuelo@yahoo.com.mx

Subscription rates (includes shipment): 45.00 USD or 39.00 €.

• For national bank transfer in BBVA Bancomer with the account: 0446308554, CLABE: 012180004463085547.

• For international bank transfer in the same bank and account add the code: BCMRMXMMPYM.

• For payment via PAYPAL, send the paid amount to <palabraenvuelo1@gmail.com>, then send proof of payment to <mrojas@ecologia.unam.mx> and <palabraenvuelo@yahoo.com.mx>

Consulta de la revista en formato digital en la siguiente liga (electronic editions available at the following link):
web.ecologia.unam.mx/cactsucmex



Se autoriza la reproducción total o parcial de los artículos siempre y cuando se cite la fuente y no sea con fines de lucro.

Cactáceas y Suculentas Mexicanas agradece la edición y el financiamiento de esta publicación a los suscriptores y al Dr. Jorge Meyrán.

CACTÁCEAS y succulentas mexicanas

Volumen 65 No. 4 octubre - diciembre 2020

Contenido

De la cochinilla y del nopal: el ácido carmínico, una antraquinona multifuncional

Mandujano A & Mandujano M..... 100

Mammillaria schiedeana* C. Ehrenb. subsp. *schiedeana

Cárdenas Ramos D..... 128

Contents

About the cochineal and *Opuntia*: carminic acid, a multifunctional anthraquinone

Mandujano A & Mandujano M..... 100

Mammillaria schiedeana* C. Ehrenb. subsp. *schiedeana

Cárdenas Ramos D..... 128



De la cochinilla y del nopal: el ácido carmínico, una antraquinona multifuncional

Mandujano Angelica¹ & Mandujano Mario^{1*}

Resumen

La grana cochinilla es un insecto que se alimenta y habita principalmente los géneros *Opuntia* y *Nopalea*, y es conocida como la fuente principal para la obtención del ácido carmínico y sus derivados como el carmín. Estos compuestos han sido utilizados ampliamente a lo largo de la historia como pigmentos para diferentes aplicaciones y en la actualidad se exploran otros usos. Sin embargo, poco se conoce de la función biológica de esta hidroxiantraquinona. Se abordan mediante el análisis de la información disponible de las propiedades del ácido carmínico y de las características del insecto basados en su ciclo de vida, su hospedero y sus mecanismos de defensa, las posibles funciones principalmente en la inmunidad innata del insecto, pero también se exploran funciones que pudieran estar relacionadas a sus propiedades como cromóforo. Se proponen hipótesis y nuevas líneas de investigación para el estudio de esta antraquinona en la fisiología del insecto que derivado de ello podría generar conocimientos aplicables para el control y cultivo del insecto y tener aplicaciones en otros campos.

Palabras clave: *Dactylopius coccus*; grana; inmunidad innata, tinte rojo, tintes naturales.

Abstract

The cochineal, an insect that feeds and lives mainly in the *Opuntia* and *Nopalea* genus, is known as the main source of carminic acid and its derivatives, such as carmine red. These compounds have been largely used throughout history as pigments with a great many applications. Today, new uses are being explored. In spite of its long history, very little is known about the true biological function of this hydroxyanthraquinone in cochineal physiology. This question is approached through examination of available information on the properties of carminic acid and the insect's characteristics, based on its life cycle, host, defense mechanisms and its possible role in innate immunity. Functions that could be related with properties of carminic acid as a chromophore are also explored. Various hypothesis and lines for further research on the role of this anthraquinone in cochineal physiology are proposed, since this understanding could provide applicable knowledge for the control and cultivation of the insect and can also have multiple applications in other fields.

Key words: Carminic acid; cochineal; *Dactylopius coccus*; innate immunity, insect dyes; natural dyes.

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Calz. del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud, Coyoacán, CP. 04960. Ciudad de México.

* Autor de correspondencia: mariom@att.net.mx

Introducción

Es bien conocido el uso y comercialización del ácido carmínico (AC) obtenido principalmente de la cochinilla del nopal *Dactylopius coccus* Costa o cochinilla americana desde el periodo prehistórico hasta la actualidad. El AC y sus derivados tienen múltiples aplicaciones, entre las más difundidas están su uso como colorante para textiles, en la industria alimentaria, la farmacéutica y la industria de cosméticos (Deveoglu 2020). Otras aplicaciones menos conocidas incluyen la fotografía, las tinciones biológicas (Merino & Edberg 1997); su posible uso en las celdas solares por sus propiedades fotoeléctricas para aplicación en energías “limpias” y renovables (Sun *et al.* 2016), o como agente antitumoral asociado con proteínas, por sus propiedades en la generación de especies reactivas de oxígeno bajo el tratamiento fotodinámico (Lev-Goldman 2008). Sin embargo, como se ha discutido en múltiples artículos, la función del AC en la fisiología de la cochinilla, a pesar de los siglos que han pasado desde su descubrimiento, no está clara, sigue siendo un misterio. En este artículo se discuten con base a la revisión de la bibliografía los aspectos que se conocen sobre el papel que pudiera tener el AC en la fisiología con énfasis en la respuesta inmunológica de la cochinilla y se proponen nuevas hipótesis de investigación con respecto a este intrigante colorante.

El AC es producido por las hembras de *Dactylopius coccus* Costa (cochinilla americana), *Porphyrophora polonica* L. (cochinilla polaca), *Porphyrophora hameli* Brandt (cochinilla de armenia) y *Kerria lacca* (cochinilla laca), y es su mayor constituyente, pero cada especie tiene una huella característica de otros componentes menores de antraquinonas incluyendo el ácido lacaico, lo que permite, por cierto, su distinción en las muestras históricas (Ferreira *et al.* 2004; Rasmussen *et al.* 2018). El AC es producido

principalmente por *P. hamelii* y *D. coccus* (Ferreira *et al.* 2004; Müller-Maatsch & Gras 2016; Rasmussen *et al.* 2018).

Dactylopius coccus es el insecto más importante para la producción de cantidades considerables de AC. Otros insectos escamosos como *Kermes ilicis* y *K. vermilio*, que viven en el roble kermes (*Quercus coccifera*) producen el ácido kermésico (AK), que fue usado como tratamiento médico hasta antes de la introducción de la cochinilla americana. Otros pigmentos que fueron usados en la antigüedad y que son extraídos del género *Porphyrophora*, provenientes de las denominadas cochinillas polacas y armenias, producen una cantidad mucho menor del AC (Ferreira *et al.* 2004; Müller-Maatsch & Gras 2016; Rasmussen *et al.* 2018), las hembras de *Porphyrophora polonica* (cochinilla polaca) y *Porphyrophora hamelii* (cochinilla de armenia) producen un 0.6 y 0.8% del peso seco respectivamente, mucho menor al producido por *D. coccus* (ver más adelante) (Ferreira *et al.* 2004; Müller-Maatsch & Gras 2016).

El insecto

El insecto *Dactylopius coccus* Costa conocido como la grana cochinilla o cochinilla fina del nopal (Hernández-Hernández *et al.* 2005; Viguera & Portillo 2014) pertenece a la familia Dactylopiidae de la superfamilia Coccoidea (insectos escamosos) y al orden Hemiptera (Baranyovits 1978; Ramírez-Puebla 2010; Chavéz-Moreno *et al.* 2011). Se tiene evidencia fósil proveniente de ámbar del báltico y de México de la familia Coccoidea que datan del periodo del Oligoceno y del Mioceno, aunque hay evidencia fósil de al menos un espécimen de esta superfamilia, datado en el Cretácico superior (Beardsley 1969).

Los insectos coccidios tienen una distribución mundial, cada tipo habitando plantas específicas. Pueden ser clasificados como plagas, que han ocasionado pérdidas millonarias en la agricultura (Lloyd 1980; Rosenblueth *et al.*

2018), algunas especies de cochinillas dañan a las plantas al transmitirle enfermedades ocasionando la necrosis del tejido (Pérez-Guerra 1991; Rosenblueth *et al.* 2018) y a través de la excreción de una sustancia pegajosa rica en azúcares y minerales que favorece el desarrollo de hongos y es fuente de alimento para hormigas y pájaros (Rosenblueth *et al.* 2018).

La especie muestra dimorfismo sexual (Fig. 1), el ciclo de vida de la cochinilla consiste en una metamorfosis completa (holometábola) en los machos (Fig. 1), mientras las hembras tienen una metamorfosis hemimetábola, es decir, tienen una metamorfosis incompleta, y son generalmente sésiles y neoténicas con funciones reproductivas (Lloyd 1980; Portillo & Viguera 2013; Rosenblueth *et al.* 2018). Ambos están cubiertos por una secreción de cera de aspecto algodonoso que los protege contra los depredadores (Rosenblueth *et al.* 2018).

Ciclo de vida

Los huevos son ligeramente rojos, ovales y de superficie brillante (Pérez-Guerra 1991), eclosionan inmediatamente o durante los primeros 30 minutos después de ser depositados (Baranyovits 1978; Pérez-Guerra 1991; Hernández-Hernández *et al.* 2005). Las larvas requieren de 4 a 20 minutos para emerger, son café-rojizas o rojas brillantes y reptan (ninfa I móvil o migrante) hasta encontrar un área donde la cutícula del nopal sea suave para alimentarse, por lo que prefieren cladodios jóvenes, se fijan por su estilete que atraviesa la cutícula hasta alcanzar un vaso floemático, esta etapa corresponde a la de ninfa I estacionaria (Baranyovits 1978; Pérez-Guerra 1991; Hernández-Hernández *et al.* 2005; Viguera & Portillo 2014). Las larvas parecen mostrar una sensibilidad a la luz solar y se disponen preferentemente del lado del cladodio que no está directamente expuesto al sol. La secreción de cera inicia dentro de la primera hora después

del nacimiento por lo que unas horas después parece estar recubierta de un polvo blanco y al completar esta etapa los hilos de cera son más grandes que el cuerpo mismo (Pérez-Guerra 1991). Después de la alimentación inicial reptan al borde de los cladodios y se dispersan por las corrientes de aire dentro de la misma o a otra planta gracias a sus filamentos (Pérez-Guerra 1991; Dapson 2007). En esta etapa no se observa el dimorfismo sexual, sin embargo, las hembras se distinguen de los machos, debido a que las hembras producen filamentos de cera mucho más largos y se encuentran en la cabeza, el tórax y el abdomen, mientras que en los machos son más cortos y se observan solo en el segmento abdominal (Pérez-Guerra 1991). Los filamentos se producen a partir de las glándulas de cera y tienen forma de aguja, se ha propuesto que también tienen el propósito de mantener alejados a ciertos predadores (Baranyovits 1978; Dapson 2007). La mayoría de las larvas que se quedan cercanas a la madre son machos, mientras que las hembras reptan a sitios más lejanos (Pérez-Guerra 1991). Las hembras sufren dos mudas, en la primera, se producen las ninfas II y como resultado de la segunda se producen las hembras adultas (Hernández-Hernández *et al.* 2005). La primera muda ocurre alrededor de 25 a 38 días, la ninfa se desprende de su cutícula y la nueva ninfa II es de color carmín y presenta cambios morfológicos (Pérez-Guerra 1991; Viguera & Portillo 2014). Las ninfas deben fijarse nuevamente a la planta hospedera. Después de la muda son rojo-café brillantes pero su dorso está recubierto de cera blanca pulverulenta y ya no producen los filamentos de la primera etapa de ninfa. La segunda muda ocurre alrededor de 11-23 días después de la primera. A partir de esta etapa, el desarrollo se produce de manera diferente de acuerdo con el sexo. La secreción de la cera es más abundante y recubre a la ninfa tanto en la región dorsal como ventral. Tras la muda las hembras

aumentan de tamaño, pero no tienen una metamorfosis completa. Después de la segunda muda las hembras crecen rápidamente alcanzando una forma redondeada y cerca del final de su desarrollo secretan más filamentos suaves desde la región anal los cuales se acumulan dando un aspecto aterciopelado. Estos filamentos también funcionan como una barrera física contra las condiciones climáticas y los depredadores (Baranyovits 1978), el cuerpo tiene una apariencia oscura púrpura o negra, sus antenas son cortas y tiene patas diminutas que son inútiles para lograr la locomoción con respecto al cuerpo tan grande. Las hembras alcanzan dimensiones de 4-6 mm de largo x 3-4.5 mm de ancho y 3.8-4.2 mm de alto aproximadamente (Baranyovits 1978; Pérez-Guerra 1991; Dapson 2007).

El periodo de tiempo para alcanzar la madurez sexual desde el huevo es de alrededor de 68 a 98 días (Pérez-Guerra 1991). Las hembras permanecerán en el mismo punto a lo largo de su vida y alcanzan su madurez sexual en la etapa larvaria, las hembras copulan y producen los huevos, los cuales se depositan principalmente en la noche, al inicio como islas separadas y posteriormente forman cadenas de huevecillos unidas entre sí, este periodo puede durar de 30-50 días, con un promedio de 430 huevecillos por insecto y una relación de casi 2:1 a favor de las hembras (Baranyovits 1978; Pérez-Guerra 1991; Hernández-Hernández *et al.* 2005; Dapson 2007). El periodo postoviposición dura alrededor de 10-20 días después del cual las hembras mueren (Pérez-Guerra 1991).

Cuando las hembras están completamente desarrolladas de alrededor de 90 a 110 días de edad, antes de la ovipostura es cuando tienen mayor contenido del pigmento (Baranyovits 1978). Las hembras adultas de *D. coccus* son las que tienen mayor contenido de AC, los reportes varían entre 14-26% del peso seco, mientras para los machos el contenido es insignificante (Her-

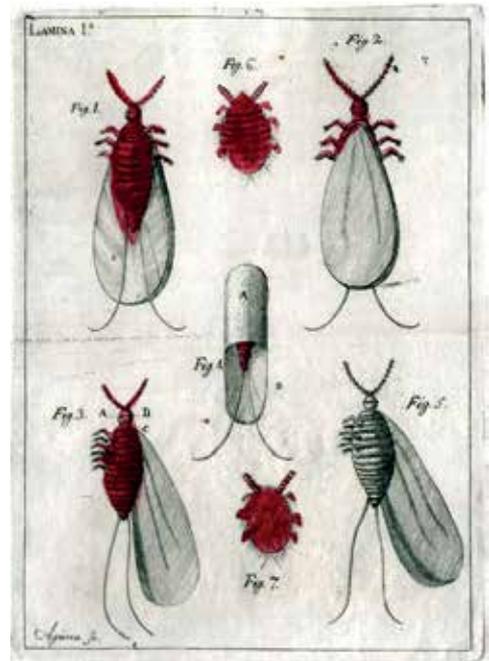


FIGURA 1. Lamina Fig.1 El macho de la grana visto por la parte inferior, con microscopio de mucho aumento. Lámina Fig. 2. Parte superior. Lámina Fig. 3 Visto de lado. Lámina Fig.4. El capullo en que se transforma la granita macho en mariposa. Lámina Fig. 5. El macho en Mazetas. Lámina Fig.6. La grana poco después de nacida vista por la parte superior. Lámina 7. Vista por la parte inferior. Tomado de Alzate y Ramírez (1794) Lámina 1, página 211.

nández-Hernández *et al.* 2005; Müller-Maatsch & Gras 2016; Kannangara *et al.* 2017). Otras especies silvestres que incluye *Dactylopius*, como *D. confertus*, *D. confusus* y *D. opuntiae*, poseen solo un 10% del peso de AC (Hernández-Hernández *et al.* 2005).

A partir de la etapa de ninfa estacionaria I, los machos sufren una muda para generar la ninfa II, en esta etapa son más pequeños que las hembras y presentan algunas diferencias morfológicas (Pérez-Guerra 1991). Posteriormente forman un capullo ceroso de seda blanca donde sufren una metamorfosis completa (con etapas de prepupa, pupa, adulto), desarrollan alas y son sexualmente maduros (Fig. 1; Baranyovits 1978; Hernández-Hernández *et al.* 2005; Dapson



FIGURA 2. Las plagas y depredadores de la grana cochinilla. Lamina tomada de códice *La vida económica y social de Nueva España al finalizar el siglo XVI. Versión correspondiente al Manuscrito "Memorial de Don Gonçalo Gomez de Cervantes del modo de vivir que tienen los indios, y del beneficio de las minas de la plata, y de la cochinilla"*. Códice conservado en el Museo Británico. Autorizado por el Museo Británico.

2007). La proporción en tamaño es menor que la hembra, alcanzando una talla de 3-3.5 mm de largo por 1.3-1.5 mm de ancho, siendo su cuerpo de color rojo y las alas parecen blancas por la cera pulverulenta, por lo que es capaz de caminar y volar, pero es incapaz de alimentarse porque las estructuras para ello no están desarrolladas. Copulan y viven de dos a cinco días, a pesar de que tienen alas son débiles y no viajan largas distancias y cada macho fertiliza alrededor de 3-7 hembras (Baranyovits 1978; Pérez-Guerra 1991; Hernández-Hernández *et al.* 2005; Dapson 2007). La duración del ciclo biológico depende de factores como las enfermedades, depredadores, el clima, el estado fisiológico y la edad de las plantas. El periodo de desarrollo varía entre 64 y

128 días (Pérez-Guerra 1991; Vigueras & Portillo 2014; Müller-Maatsch & Gras 2016).

El género *Dactylopius* incluye 11 especies nativas de Norteamérica y Sudamérica (Ramírez Puebla 2010, Müller-Maatsch & Gras 2016; Rosenblueth *et al.* 2018) de las cuáles de cinco (Chavéz-Moreno *et al.* 2011) a seis especies (Portillo & Vigueras 2006; Rosenblueth *et al.* 2018) se han reportado en México. Los análisis filogenéticos a partir de la amplificación por la reacción en cadena de polimerasa de los genes 12S rRNA y 18S rRNA de las cochinillas del género *Dactylopius* presentes en México han mostrado que *D. coccus* constituye un clado separado, *D. tomentosus* Lamarck es el más distantemente relacionado y *D. ceylonicus* Green *D. confusus* Cockerell y *D. opuntiae* Cockerell están cercanamente relacionados (Ramírez Puebla *et al.* 2010).

Factores que afectan al insecto

Algunos factores abióticos como temperaturas extremas, precipitación, radiación solar, corrientes de viento, tipo de suelo (Pérez-Guerra 1991, Vigueras & Portillo 2014) y factores bióticos como edad de la planta, grado de infestación, especie de la planta, enemigos naturales, microorganismos y competencia con otros fitófagos pueden afectar al insecto. (Fig. 2; Pérez-Guerra 1991). Con respecto a sus enfermedades es escasa la información de los patógenos que afectan a *D. coccus*. Entre las causas más frecuentes de enfermedad en México son el "chamusco" el cual ocasiona la muerte del insecto dejando un color negro y el "chorreo" una forma de enfermedad diarreaica que lo conduce a deshidratación y que se supone son de origen bacteriano (Pérez-Guerra 1991), pero se desconoce el agente causal de la enfermedad. Entre los depredadores del insecto (Fig. 2) se encuentran aves, reptiles, pequeños mamíferos e insectos entomófagos entre ellos *Laetilia coccidivora* Comstock ("gusano talero"), *Eosalpingogaster cochenillivora* Guerin-Meneville,

Hyperaspis trifurcata Schaeffer, *H. frimbriolata* Melsheim y *Symphorobius amicus* Fitch por mencionar algunos de los más relevantes (Diodato *et al.* 2004; Portillo & Viguera 2006; Viguera & Portillo 2014).

Endosimbiontes del insecto

Los insectos se alimentan de la savia que es baja en nutrientes por lo que requieren establecer estrategias para adquirir nutrimentos a través de relaciones simbióticas con otros microorganismos. Los endosimbiontes tienen genomas reducidos y dependen de sus hospederos. Estudios previos han reportado la presencia de dos cepas de la α -proteobacteria *Wolbachia* en especímenes de *D. coccus* (Ramírez-Puebla *et al.* 2016; Rosenblueth *et al.* 2018). La *Wolbachia* se ha encontrado en tejidos corporales del insecto incluyendo los bacteriocitos, un tipo de células especializadas, y en tejidos reproductores. Puede ser transferida de la madre a los huevecillos y se ha demostrado la presencia de cepas de los supergrupos A y B (*Wolbachia bourtzisii* wDacA y *W. pipientis* wDacB, respectivamente) en los huevecillos de *Dactylopius* sp. Al respecto se ha propuesto que la tolerancia a la presencia del AC pudiera ser una característica particular del genotipo de *Wolbachia* (Pankewitz *et al.* 2007; Rosenblueth *et al.* 2018). Estas bacterias podrían conferirle protección contra infecciones virales al hospedero, pero en el caso de las cochinillas no está claro si afectan su reproducción como lo hace en otros insectos (Rosenblueth *et al.* 2018).

La amplificación de las secuencias del 16S rRNA de las bacterias de especies de *Dactylopius* han mostrado también la presencia de una β -proteobacteria común que se encuentran también en los huevos y bacteriocitos en *D. coccus*. Ramírez-Puebla *et al.* (2010) propusieron el nombre de *Candidatus Dactylopiibacterium carminicum* para designar la β -proteobacteria que

encontraron en todas las especies de *Dactylopius* y que pudiese proveer la fijación de nitrógeno y aminoácidos esenciales para la cochinilla (Vera-Ponce de León *et al.* 2017). Otros proponen que *Dactylopiibacterium* pudiera proveer al insecto de aminoácidos adicionales y tolerancia a los metales obtenidos de la planta hospedera (Bustamante-Brito *et al.* 2019). Otras bacterias aisladas incluyen *Spiroplasma* (Rosenblueth *et al.* 2018), y aquellas que se encuentran relacionadas con bacterias del suelo o las plantas como *Massilia*, *Herbaspirillum*, *Acinetobacter* entre otras, obtenidas de los hospederos de los que se alimentan (Ramírez-Puebla *et al.* 2010). Entre los hongos se han aislado diversas especies, los géneros *Cryptococcus saitoi*, *Rhodotorula mucilaginosa* y *Penicillium* sp. son lo más frecuentes (Vera-Ponce de León *et al.* 2016).

Estudios previos han mostrado evidencias de que los endosimbiontes mencionados podrían proporcionar al insecto nutrientes como el nitrógeno, la riboflavina, aminoácidos esenciales, además de que podrían contribuir en otras funciones como la defensa contra otros patógenos invasores o influir en la reproducción del insecto, ya que podría, al menos la *Wolbachia*, causar incompatibilidad citoplásmica que afecta la tasa del sexo en la progenie (Rosenblueth *et al.* 2018).

El hospedero

Las cochinillas son nativas de las áreas subtropicales y tropicales (Müller-Maatsch & Gras 2016). Las especies de *Dactylopius* se localizan en correspondencia con sus hospederos en diferentes ecosistemas en regiones del norte, centro y sudoeste en México, siendo la *Opuntia ficus-indica* el hospedero más común y más ampliamente distribuido; aunque se ha encontrado una distribución amplia también sobre otras especies de cactus de los géneros *Opuntia*, *Nopalea*, *Cylindropuntia* y *Grusonia*, las cuales son endémicas de América, al igual que las cochinillas, *Dactylopius* Costa (Foto 1; Chavéz-Moreno *et al.* 2011).

María C. Mandujano



a

María C. Mandujano



b

Helga Ochoterena



c

FOTO 1. Ejemplos de géneros de cactáceas en donde se desarrollan cochinillas, insectos hemípteros del género *Dactylopius*. a) *Opuntia*, b) *Cylindropuntia* y c) *Grusonia* (*O. cantabrigiensis* y *C. imbricata* en Cadereyta de Montes, Querétaro, México).

El hospedero principal es *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Dependiendo de las preferencias por varias especies y variedades de *Opuntia* (Foto 2), algunas son más convenientes para la reproducción y crianza, mientras otras para la producción del AC. *Opuntia ficus-indica* variedad “Villanueva” se ha reportado como la que tiene la mayor producción de cochinilla y de AC en México (Müller-Maatsch & Gras 2016)

Dactylopius coccus se alimenta de la savia pobre en nutrientes de las especies mencionadas (principalmente *Opuntia* s.s.). Tomando en consideración que la composición y el contenido de los nutrientes de los cladodios varía dependiendo de factores como el sitio de cultivo, la estación del año, la edad, especie y variedad de las plantas, se ha descrito que la composición promedio de los cladodios frescos de *Opuntia* sp. por 100 g está conformada por agua en su mayoría (88-95 g), carbohidratos (3-7 g), fibra (1-2 g), proteínas (0.5-1 g) y lípidos (0.2 g), los cladodios jóvenes muestran mayores contenidos de carbohidratos, proteínas y agua. Algunos autores han reportado la presencia de ácido malónico en cladodios frescos de 36 mg/100 g, aunque los cladodios viejos de *Opuntia ficus-indica* parecen no contenerlo por la reducción a ácido cítrico. En la especie *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck el ácido málico y los ácidos cítricos se han encontrado como los constituyentes principales (Stintzing & Carle 2005).

Los cromóforos

Los cromóforos contienen grupos no saturados conjugados usualmente con anillos aromáticos, y el color va a depender del número y arreglo de los enlaces dobles, así como de grupos funcionales específicos los cuales tienden a desplazar la región de absorción a una mayor longitud de onda. El AC tiene una absorción visible máxima cerca de 500 nm y el AK a 498 nm (Pintea 2007).

A diferencia de los humanos los insectos pueden percibir longitudes de onda corta. La



Mario Mandujano

FOTO 2. Nopal (*Opuntia* spp.) infestado de cochinillas silvestres en Oaxaca, Oaxaca, México. La cochinilla son los algodoncillos blancos que se notan sobre todos los tallos o cladodios jóvenes de la planta.

coloración de un insecto se debe a la presencia de pigmentos en las cutículas o por debajo de la epidermis o en algunos casos cuando es transparente la cutícula, por estructuras como el cuerpo graso y la hemolinfa. En los insectos los colores ejercen funciones indispensables en la fisiología como el reconocimiento, emparejamiento, el camuflaje o advertencia (Shamim *et al.* 2014).

El pigmento

La cochinilla americana estudiada por cromatografía líquida de alta eficacia mostró que el pigmento principal es el AC (94-98%) y solo contiene pequeñas cantidades de AK y flavoker-mésico (<1%), otros componentes encontrados denominados dc por *Dactylopius coccus* incluyen dcII, dcIII, dcIV y dcVII (Cooksey 2018; Rasmussen *et al.* 2018). La grana fina es el insecto seco (hembras) y se ha comercializado de esta forma



FIGURA 3. En la imagen se ve a un indio arrojando la grana cosechada en una olla que está al fuego. Lámina 8. Alzate y Ramirez (1777). Memoria sobre la naturaleza, cultivo y beneficio de la grana. Copia facsimilar del original conservado en el Archivo General de la Nación. México.

desde la época prehispánica hasta nuestros días (Fig. 3; Foto 3).

El AC se clasifica como una antraquinona específicamente una hidroxiantraquinona, las cuales incluyen un grupo de pigmentos que contienen más de un sustituto fenol y se clasifican por tanto como polifenoles, además pueden clasificarse como un pigmento tipo alizarina o tipo emodina, el AC se clasifica como un pigmento tipo emodina, es decir, estos muestran sustituciones en ambos anillos aromáticos y tienen al menos dos grupos hidroxilo en las posiciones R1 y R8. Los polifenoles son compuestos reactivos que pueden ser degradados y modificados por reacciones enzimáticas y no enzimáticas, entre las enzimas se encuentran las polifenoloxida-

sas, peroxidadas, glucosidasas, entre otras. La oxidación causada por las polifenoloxidasas produce pigmentos de color café o negro como resultado de la polimerización de los productos de la reacción (Dabas 2016).

Las antraquinonas son producidas ampliamente en la naturaleza y exhiben múltiples funciones biológicas incluyendo efectos bacteriostáticos, fungicidas, antivirales, herbicidas e insecticidas (Dufossé 2014). El AC ha mostrado tener propiedades antivirales y antitumorales (Lev-Goldman *et al.* 2008).

Estructura química y biosíntesis del AC. Varias hidroxiantraquinonas naturales son sintetizadas por los insectos Coccidae (Müller-Maatsch & Gras 2016). El AC, es una forma glucosilada del pigmento de los coccidios, el AK, con un enlace C-glucósido (una hexosa). Su fórmula molecular es $C_{22}H_{20}O_{13}$ y su peso de 491, para las especies iónicas (Dapson 2007). El AC es el pigmento más importante del grupo de las antraquinonas de origen animal (Müller-Maatsch & Gras 2016). Está presente en la mayoría del cuerpo del insecto, particularmente en los músculos y se encuentra en grandes cantidades en la hemolinfa (García *et al.* 2005; Müller-Maatsch & Gras 2016). Se encuentra en todas las etapas del desarrollo (Caselín-Castro *et al.* 2008), en las formas inmaduras y en los adultos, así como en los huevos y embriones de hembras gravídicas (Eisner & Nowicki 1980; Müller-Maatsch & Gras 2016). Aunque no se ha dilucidado aún dónde se sintetiza este pigmento se han propuesto dos posibles fuentes en la cochinilla, los hemocitos (granulocitos T presentes en la hemolinfa) y el cuerpo graso (Hernández-Hernández *et al.* 2003), también se ha propuesto que el AC, o sus precursores, pudieran ser sintetizados por endosimbiontes (Kannangara *et al.* 2017).

Los cromóforos en los insectos escamosos se derivan de las antraquinonas, las cuales son producidas por la ciclización de compuestos lineales



FOTO 3. Muestra de varios frascos de la Botica de San José, Arturo Ramírez Ruíz, la cual estaba ubicada en el parque central de Valle de Santiago, Guanajuato, México. La botica estuvo activa el siglo pasado y hay registro vivo de una banca donada por el Dr. Ramírez Ruíz en la alameda de dicha localidad alrededor de 1934. La botica fue cerrada y su contenido subastado a inicios de este siglo. De izquierda a derecha, el tercer frasco porta su etiquetado original e indica que contiene “GRANA O COCHINILLA”.

como los policétidos y su estructura química se origina del antraceno, un hidrocarburo aromático tricíclico con un grupo cetona en los carbonos 9 y 10 (Ferreira *et al.* 2004; Shamim *et al.* 2014). Las antraquinonas pertenecen a un grupo muy amplio de quinonas, estos compuestos pueden ser sintetizados por varios precursores y vías dependiendo del organismo (Shamim *et al.* 2014). Las vías más frecuentes para la biosíntesis de los hidroxiantraquinoides incluyen la vía de los policétidos y el shikimato, estos pueden diferenciarse por su patrón característico de sustitución de los grupos hidroxilo en los anillos aromáticos por la sustitución en el carbono 7. La vía de los policétidos, es la principal vía para la síntesis de antraquinonas en los insectos, incluido el AC. La enzima crítica es la policétido sintasa (PKS, por sus siglas en inglés). La vía inicia con la síntesis de una cadena de policétidos a partir de una unidad de acetil-CoA y 7 de malonil-CoA que forman una cadena de octacétidos, esta sufre ciclización para formar una antrona la cual es oxidada a antraquinona. Rasmussen *et al.* (2018) propusieron

que la formación de AC pudiera ser derivado de la actividad de una enzima modificada, la sintetasa de ácidos grasos (FAS, por sus siglas en inglés) de tipo I, o de la PKS y otra serie de enzimas que pudiesen participar en la vía de biosíntesis en la propia cochinilla, pero estas hipótesis aún no cuentan con la confirmación de que estos sistemas enzimáticos estén codificados en el genoma de *D. coccus*. Enzimas subsecuentes a la PKS como las glucosiltransferasas catalizan la reacción de glucosilación transfiriendo residuos de azúcares a las antraquinonas con la formación de glucósidos (Shamim *et al.* 2014, Kannangara *et al.* 2017). Hay evidencia que apunta a que la cochinilla mediante una proteína integral de membrana del retículo endoplásmico que fue obtenida de hembras adultas de *D. coccus* denominada C-glucosiltransferasa y designada como DcUGT2, a través de la glucosilación del AK produce el AC (Kannangara *et al.* 2017). Sin embargo, aún no está claro de dónde provienen los precursores como el octacétido, el ácido flavokermésico o el AK para que se pueda producir el AC. Kannangara *et al.* (2017) con su

estudio *in vitro* aportan datos que apoyan la hipótesis de que la cochinilla pudiera glucosilar los precursores para producir el ácido flevokermésico 7-C-glucósido (dcII) y el AK a través de la proteína aislada de especímenes. La unión con la glucosa, comentada previamente, le confiere al AC alta resistencia a la hidrólisis por ácidos y protección contra la proteólisis por múltiples enzimas del metabolismo de los carbohidratos (Müller-Maatsch & Gras 2016).

Las PKS tipo I y las FAS relacionadas, son proteínas codificadas por una familia de genes que ocurren principalmente en las eubacterias y en eucariontes (principalmente los hongos) y que producen una gran variedad de compuestos policétidos que tienen una amplia variedad de funciones (Castoe *et al.* 2007). Las PKS codificadas en el genoma de los animales solo se han reportado en algunos estudios (Torres & Schmidt 2019). Calestani *et al.* demostraron la expresión del gen *pks* en células pigmentadas de embriones del erizo de mar *Strongylocentrotus purpuratus* (SpPKs) y mostraron que la inhibición interfirió con la acumulación del pigmento (equinocromo) en las células estudiadas (Calestani *et al.* 2003), en un estudio posterior en un modelo adulto *knockout* para el gen *HpPks1* en el erizo de mar *H. pulcherrimus* se demostró un fenotipo albino (Liu *et al.* 2019). Castoe *et al.* (2007) mediante un análisis filogenómico encontraron que algunos genomas animales (específicamente de erizos de mar, aves y peces) poseen un grupo de genes *pks* que no parecen estar relacionados a genes de otros animales y hongos, pero si parecieran relacionados a genes *pks* de *Dictyostelium* y eubacterias. En un estudio más reciente, Cooke *et al.* (2017) encontraron una PKS no caracterizada previamente (MuPKS) en aves de la especie *Melopsittacus undulatus* y cuando se expresó experimentalmente esta enzima en levaduras se produjo un pigmento amarillo comparado con el vector sin la expresi-

ón de la enzima. Según algunos autores, las PKS no están bien caracterizadas, bioquímicamente, en los insectos, aun cuando se obtienen compuestos derivados de la vía de los policétidos en diversas especies de insectos. En muchos casos, se atribuye al secuestro de los precursores o de los productos finales a partir de la dieta, pero en este contexto no se ha demostrado que obtenga los precursores de los géneros *Opuntia* y *Nopalea* (Rasmussen *et al.* 2018), a pesar de que la grana cochinilla es bastante selecta para la elección de su dieta (Chavéz-Moreno *et al.* 2011). A este respecto, es importante mencionar que Shamim *et al.* (2016) identificaron secuencias compatibles con dominios de la PKS de tipo II en el insecto *K. lacca* que pertenece a la superfamilia Coccoidea y que produce el pigmento laca, un tipo también de antraquinona, y proponen que esta enzima pudiera ser crítica para la biosíntesis del pigmento precursor, el ácido lacaico D, de otros pigmentos laca a través de la vía de los policétidos. Sin embargo, aún se desconoce si las enzimas PKS o FAS puedan estar codificadas en el genoma de *D. coccus*.

A pesar de que ha habido avances en el conocimiento de AC, aún no está establecida cuál o más bien cuáles son las funciones que desempeña el AC en el insecto. Se ha sugerido que la estructura química del AC no parece ser una fuente de energía para el insecto (Baranyovits 1978) entonces, ¿cuál es la función del AC?, hay algunas evidencias que apuntan a que pudiera tener una función relevante para la inmunidad innata como se comenta más adelante, previa revisión de algunos conceptos de la inmunidad y sobre todo de los mecanismos que se han descrito en la inmunidad de los insectos.

Inmunidad en los insectos

La posición de los insectos es considerada como la más exitosa sobre otros organismos, con cerca de un millón de especies tomando en cuenta

estimados de millones más por descubrir, se atribuye a su capacidad de sintetizar y adquirir una gran cantidad de compuestos que utilizan para defenderse, atacar y comunicarse (Shamim *et al.* 2014, Dossey 2010).

La capacidad de un organismo para defenderse contra los patógenos se conoce como inmunidad (Stanley 2006). La inmunidad puede clasificarse en inmunidad innata e inmunidad adaptativa. La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra infecciones y está constituida por una serie de mecanismos inespecíficos o específicos, la inmunidad adaptativa es más específica y se genera por la actividad de linfocitos T y los linfocitos B (Leibig *et al.* 2017). En los insectos la respuesta inmunológica es únicamente de tipo innata (Eleftherianos & Revenis 2011; Leibig *et al.* 2017) y es necesaria para la defensa contra los patógenos invasores; carece de las características de la inmunidad adaptativa que se presenta en los vertebrados como la presencia de receptores específicos de patógenos y la memoria inmune (procesos que incluyen la recombinación somática, la expansión y selección clonal) (Eleftherianos & Revenis 2011). Las respuestas innatas son variadas y responden de manera similar en encuentros posteriores con el patógeno, aunque cabe mencionar que este concepto ha evolucionado a la luz de evidencias encontradas en distintas especies que han mostrado que, si bien no hay una memoria inmunológica tal como se ha descrito para la inmunidad adaptativa, la inmunidad innata puede mostrar un efecto similar a la “memoria” (*immune priming*). En este fenómeno la subsecuente exposición a la introducción de microorganismos muertos o en una dosis subtotal, confiere una fuerte respuesta protectora ante un segundo reto con una dosis letal del patógeno, incluso se ha observado la transferencia de un efecto protector adquirido en algunos insectos a su descendencia (Cooper & Eleftherianos 2017).

La respuesta adaptativa de los vertebrados es capaz de responder prácticamente a cualquier patógeno a través del proceso de recombinación somática que permite la generación de un amplio repertorio de receptores de antígeno para las células B y las células T (Eleftherianos & Revenis 2011; Cooper & Eleftherianos 2017). El sistema innato de los insectos desarrolla especificidad contra solo una fracción de patógenos. Se ha propuesto en los insectos la existencia de mecanismos similares al proceso de recombinación somática. Hay unas pocas moléculas candidatas descritas, entre ellas, la molécula de adhesión del síndrome de Down (Dscam), un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas la cual contiene 4 exones que pueden mostrar empalme (*splicing*) alternativo, el cual produce tres dominios tipo inmunoglobulina hipervariables que resultan en, por ejemplo, más de 18,000 isoformas en *D. melanogaster* que se incrementa hasta 38,016 isoformas posibles con el dominio transmembrana variable. Estas isoformas muestran interacciones específicas y pudieran ser una fuente de generación de diversidad para receptores de patógenos en algunas especies de insectos. La identificación de varias isoformas de Dscam en la superficie de células inmunes respaldan esta teoría (Cooper & Eleftherianos 2017).

La defensa inmunológica en los insectos es muy robusta, incluye mecanismos pasivos de primera línea como las barreras físicas (por ejemplo, los tegumentos) y químicas (como el pH en el canal alimentario) que los protegen de la invasión de múltiples microorganismos. Sin embargo, si los organismos invasores logran traspasarlas se enfrentan a una gran variedad de respuestas específicas y no específicas que son activadas por la presencia de agentes extraños (Stanley 2006; Leibig *et al.* 2017). La inmunidad innata de los insectos se divide a su vez en inmunidad humoral, como la activación de la profenoloxidasas (proPO) y la producción de

péptidos antimicrobianos que a su vez desencadenan la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que regulan los procesos de melanización y de coagulación (Leibig *et al.* 2017) y la inmunidad celular que incluye principalmente a los hemocitos (Stanley 2006; Leibig *et al.* 2017). Los hemocitos participan en diversas funciones como el reconocimiento de moléculas sobre las superficies microbianas, pero también participan en el proceso de melanogénesis y la fagocitosis, microagregación, la nodulación y la encapsulación de microbios (cuando los microbios son muy grandes como para ser fagocitados) y la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (García *et al.* 2005; Stanley 2006; Eleftherianos & Revenis 2011). En algunos de estos procesos está la participación de los eicosanoides en las reacciones de eliminación de patógenos como la encapsulación, la microagregación y la nodulación (Stanley 2006). Más adelante, discutiremos que el AC se encuentra en células del cuerpo graso compartimentalizado en gránulos y este puede ser liberado tras la exposición a componentes de las paredes celulares de bacterias y hongos, ocasionando una reacción parecida a la melanización (Hernández-Hernández *et al.* 2003).

Aspectos de la respuesta inmune descritos en D. coccus. La hemolinfa, responsable de la inmunidad humoral y celular, consta del plasma y la fracción celular constituida por los hemocitos. En la hemolinfa de especímenes de hembras adultas de *D. coccus* se han descrito cuatro tipos de hemocitos que incluyen los granulocitos, plasmocitos, prohemocitos y oenocitoides. Los granulocitos participan en la inmunidad celular a través del encapsulamiento, en el transporte de nutrientes y son precursores de otros hemocitos. Los plasmocitos participan en la fagocitosis, encapsulación, nodulación y la cicatrización de heridas, mientras los prohemocitos son precursores de

otros tipos celulares. Los oenocitoides podrían estar involucrados en la esclerotización de la cutícula. Además de los hemocitos, también se han descrito corpúsculos de AC en la hemolinfa, que en ocasiones forman conglomerados con los hemocitos (Caselín-Castro *et al.* 2008).

Inmunidad innata: reconocimiento de patrones. El reconocimiento de los patógenos en la inmunidad innata está determinado por diversas moléculas receptoras que reconocen patrones moleculares muy conservados en la evolución, presentes en los patógenos e indispensables para su supervivencia y ausentes en los eucariontes. (Yano & Kurata 2011). Estas moléculas en los patógenos se denominan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y las moléculas que los reconocen receptores de reconocimiento de patrones (PRR) (Siva-Jothy *et al.* 2005; Yano & Kurata 2011; Cooper & Eleftherianos 2017). Los PRR tienen una capacidad limitada de distinguir entre “tipos” de microbios cercanamente relacionados que comparten estructuralmente estos patrones moleculares y que permiten al sistema activar diferentes respuestas efectoras para eliminar al patógeno (Cooper & Eleftherianos 2017). En los insectos se han descrito diversas proteínas que reconocen el peptidoglicano que se denominan PGRP, componente estructural de las bacterias gram positivas, por lo que el repertorio de reconocimiento a través de estas moléculas es limitado (Leibig *et al.* 2017). Es interesante mencionar que la identificación del receptor Toll en la *Drosophila* que llevó a la clonación de receptores homólogos en los mamíferos denominados receptores tipo Toll (TLR) condujo a avances fundamentales en la investigación en el campo de la Inmunología para el entendimiento de la inmunidad innata en los mamíferos. Igual de interesante es resaltar que si bien los receptores Toll en *Drosophila* no funcionan como receptores de reconocimiento

de patrones moleculares como lo hacen en los mamíferos, son indispensables para la señalización en la respuesta innata para la defensa contra hongos y bacterias gram positivas estando involucrados también en el desarrollo dorsoventral en la embriogénesis de la *Drosophila* (Netea *et al.* 2007; Yano & Kurata 2011; Sheehan *et al.* 2018). Mientras en los mamíferos los TLR funcionan como receptores de reconocimiento de patrones, en *Drosophila* las PGRP desempeñan esa función para reconocer algunos tipos de bacterias (Yano *et al.* 2011). Se han descrito 4 mecanismos principales mediante los cuales pueden los PGRP funcionar en la inmunidad innata: 1) activación de la PO, 2) inducción de la producción de péptidos antimicrobianos, 3) inducción de la fagocitosis, 4) remoción del exceso de peptidoglucano del hemocele (Siva-Jothy *et al.* 2005). Hernández-Hernández *et al.* (2003) estudiaron la activación de la hemolinfa en presencia de diferentes componentes microbianos incluyendo N-acetilglucosamina, un componente principal del peptidoglucano observando una depleción del AC en la hemolinfa medido por espectrofotometría y manifestado por la formación de un agregado fibrilar negro; encontraron que la reacción es dependiente de la dosis, pero no encontraron dicha respuesta cuando la hemolinfa fue incubada con lipopolisacáridos componente de las bacterias gram negativas.

Inmunidad innata: rama humoral. Las enzimas fenoloxidasas, encontradas en la hemolinfa de diversos insectos, catalizan la síntesis de melanina, un pigmento principal de los insectos y los vertebrados, a partir de diversos precursores incluyendo a la L-DOPA (L-3,4-dihidrofenilalanina) (Sorrentino *et al.* 2002). En los insectos dependiendo de su propósito puede ser un polímero de dopamina o de DOPA, la usada para la encapsulación y la cicatrización de heridas es formada a partir de la DOPA. Los intermediarios de quinonas en la vía

biosintética tienen propiedades antibióticas. El paso crítico inicial es la oxidación de la tirosina a DOPA catalizado por fenoloxidasa (PO) y la oxidación de la DOPA a dopaquinona catalizada por la misma enzima (Morgan 2010). La melanización se ha implicado en diversos mecanismos de defensa de la inmunidad innata en los insectos incluyendo el reconocimiento de patógenos, la encapsulación, efectos citotóxicos en tejidos propios y extraños, así como la cicatrización de heridas (Sorrentino *et al.* 2002).

Uno de los mecanismos de respuesta de la inmunidad innata es la inducción de cascadas proteolíticas que conducen a los procesos de melanización y de coagulación en respuesta a la infección. La melanización requiere la activación de la enzima proPO a su forma activa, la fenoloxidasa (PO), una enzima que es crítica para la formación de melanina. La proPO es liberada por los hemocitos y secretada a la hemolinfa tras la activación y activada por una cascada de proteasas de serina, la vía es activada por el reconocimiento de los PAMP y esto conduce también a la síntesis de mecanismos reguladores incluyendo inhibidores de serina proteasas como las serpinas (Siva-Jothy *et al.* 2005; Eleftherianos & Revenis 2011; Sheehan *et al.* 2018). Sin embargo, también la activación pudiera estar mediada por los eicosanoides (Stanley 2006), como respuesta al daño o a la infección microbiana (Eleftherianos & Revenis 2011). La PO tiene la función de hidroxilar y oxidar secuencialmente a los monofenoles formando quininas que después pueden ser polimerizadas para dar lugar a la melanina. Este sistema de la proPO en los insectos genera la producción de componentes citotóxicos (derivados de las quinonas) y opsoninas que participan en la eliminación de los patógenos (Eleftherianos & Revenis 2011; Sheehan *et al.* 2018). La PO cataliza la oxidación de fenoles a quinonas llevando a la polimerización espontánea para

formar la melanina insoluble. La activación inmunológica de la PO produce melanina, la cual es usada para formar dos tipos de cápsulas contra los patógenos, las cápsulas inertes fuera de las células que se han encontrado en varias especies de insectos y las que se forman por la activación de hemocitos y la activación de la PO en donde se forman cápsulas de masas de células melanizadas. Además de la generación de mediadores citotóxicos (quinonas, fenoles, radicales libres), el patógeno es externalizado o eliminado por privación de nutrientes en la cápsula melanizada (Siva-Jothy *et al.* 2005).

Hernández-Hernández *et al.* (2005), también observaron que el tratamiento con inhibidores de proteasas de serina-cisteína (TLCK, tosil lisil clorometil cetona y TPCK, tosil fenilalanil clorometil cetona) detuvieron la reacción en la hemolinfa y que inhibidores de proteasa de *o*-fenantrolina y EDTA (un quelante de Mg^{2+}) disminuyeron de manera significativa el consumo del AC. Además, un inhibidor de la actividad de la proPO, la feniltiourea (PTU), ocasionó la inhibición total de la reacción de la hemolinfa. La inhibición de la producción de las prostaglandinas con dexametasona e indometacina inhibieron alrededor del 50% de la reacción y el ácido acetilsalicílico inhibió por completo la reacción, los autores apuntan a que otras evidencias sugieren que los eicosanoides podrían proveer el cAMP que se requiere para la activación de la proPO, y esto sugiere que la reacción en alguna medida es dependiente de los eicosanoides (Hernández-Hernández *et al.* 2003). Hay otras evidencias de que los eicosanoides participan en la activación de proPO y la microagregación, aunque existen resultados controversiales en otras especies (Stanley 2006). Con respecto al consumo de AC proponen que como la PO puede usar quinonas como sustrato en la vía de la melanogénesis (vía de Raper-Mason), los grupos *o*-quinona del AC podrían ser usados de manera similar, así las

quinonas *o*-fenólicas podrían producir compuestos fenólicos-proteína que formarían parte de la reacción de encapsulación; proponen que el AC es consumido por las PO durante la activación de la hemolinfa en una reacción similar a la melanización (Hernández-Hernández *et al.* 2003).

Inmunidad innata y mediadores citotóxicos. Durante la melanogénesis en los insectos la producción de radicales libres de oxígeno y nitrógeno tienen efectos microbicidas, García-Gil de Muñoz *et al.* (2007) investigaron si la activación de la hemolinfa se asociaba con la generación de radicales libres y encontraron que la activación con zimosan produjo anión superóxido y óxido nítrico y que la generación del primero fue dependiente del consumo de AC. En un experimento *in vitro* determinaron la generación del anión superóxido usando AC puro (98%) comercial en solución PBS (solución salina amortiguada por fosfatos) incubado con una tirosinasa preparada del hongo *A. bisporus* usando como control positivo la L-DOPA. Esto sugiere que el anión superóxido podría ser generado por la oxidación del AC, reacción que podría ser catalizada por la PO o una enzima similar. La tirosinasa cataliza la hidroxilación de monofenoles a *o*-difenoles usando el oxígeno molecular; fisiológicamente transforma la L-tirosina para producir L-DOPA y luego dopaquinona que por reacciones enzimáticas y no enzimáticas conduce a la formación de melanina. Sin embargo, además de su sustrato natural es capaz de oxidar a otros compuestos incluyendo derivados *o*-aminofenólicos, lo que sugiere que el AC podría ser teóricamente sustrato de las fenoloxidasas. Además, la incubación con hemolinfa activa fue deletérea para la bacteria gram positiva *M. luteus* pero no contra la bacteria *S. marcescens* una bacteria gram negativa, los autores sugieren que probablemente debido a la acción del radical hidroxilo ya que el tratamiento con un eliminador del mismo redujo el efecto bactericida.

Inmunidad innata: vía de la coagulación. La coagulación es crítica para limitar las pérdidas de hemolinfa e iniciar la cicatrización, pero también una forma de limitar la dispersión de los patógenos y producir su destrucción, por lo que es un componente de la inmunidad innata. En esta vía participan dos tipos de células, los hemocitos, los cuales generan primero un coágulo inicial suave que sella la herida y posterior a la activación vía de la proPO junto con la transglutaminasa producen un coágulo estable; y los plasmocitos que cubren la herida y el coágulo, formando una costra que es sustituida por la regeneración de la epidermis (Eleftherianos & Revenis 2011; Sheehan *et al.* 2018).

Propiedades antitumorales

Takahashi *et al.* (2001) usando un modelo *in vivo* de *Drosophila* encontraron que diferentes antraquinonas, incluyendo el AC, tienen efectos antigenotóxicos contra la mayoría de los que estudiaron y proponen que pudiera ser debido a la inhibición del metabolismo de los carcinógenos posiblemente por la presencia de sus grupos funcionales. Sin embargo, cabe acotar que otros estudios, han mostrado que algunas antraquinonas de origen natural (que se encuentran en plantas y hongos), incluyendo antraquinonas no glucosiladas y glucosiladas, pero no el AC, han mostrado tener el efecto opuesto en modelos animales y celulares (Blömeke *et al.* 1991; Mori *et al.* 1990; Mueller *et al.* 1999).

AC en la defensa contra depredadores

Los mecanismos de defensa de los insectos deben incluir no solo la defensa contra los microorganismos patógenos microscópicos, principalmente las bacterias y los hongos, sino también la defensa contra diversos depredadores incluyendo larvas, otros insectos, pájaros entre otros. Existe evidencia que el AC juega un papel en los mecanismos de defensa contra

predadores (Eisner & Nowicki 1980, Eisner *et al.* 1994, Barreto-García *et al.* 2020) que se describe a continuación.

Eisner y Nowicki (1980) estudiaron el AC teniendo como base que otras quinonas producidas en las glándulas de algunos insectos (por ejemplo los milpiés) tienen propiedades para repeler a los depredadores. Estos autores usaron larvas de *Dactylopius confusus* para la realización de sus bioensayos y encontraron que el AC tiene efectos repelentes contra las hormigas y que de hecho la larva de *Laetilia coccidivora* que se alimenta de la cochinilla es capaz de usar el AC obtenido de la ingestión de las cochinillas, para su propio beneficio. Las larvas *L. coccidivora* son depredadoras de las cochinillas y la estimulación de estas larvas con una pinza causó un comportamiento defensivo que consistió en la emisión de fluidos por la boca, el análisis de este líquido mostró la presencia de AC a una concentración ligeramente mayor que la de las cochinillas. En otros experimentos el ataque de las hormigas de la especie *Monomorium destructor* hacia las larvas ocasionó la misma respuesta de regurgitación del fluido hacia el atacante que mostró no solo repelerlas si no también bloquear el ataque mecánicamente al provocar la adhesión de las patas y las antenas con esta sustancia “pegajosa”, lo que ocasionaba la finalización del ataque por las hormigas. En un estudio subsecuente con larvas de *Leucopis* sp. cuando se atacaba con un gentil pinzamiento, las larvas respondieron emitiendo una gran gota de fluido rojo por el ano, después estudiaron el comportamiento con dos especímenes expuestos a hormigas de la especie *T. sessile* y la respuesta de las larvas nuevamente fue la descarga de fluido anal, las hormigas se contaminaron con el fluido y desistieron del ataque iniciando actividades de limpieza, el líquido analizado probó contener el AC. Experimentos similares realizados con larvas de *H. trifurcata* mostraron una respuesta defensiva parecida,

pero con la emisión tegumentaria de un fluido rojo que mostró ser hemolinfa donde se corroboró la presencia de AC con actividad repelente contra las hormigas (Eisner *et al.* 1994).

En otro estudio, con un abordaje desde otro ángulo, Barreto-García *et al.* (2020) estudiaron el efecto de la alimentación con dos especies diferentes de cochinillas en el ciclo de vida de *Laetilia coccidivora*, un depredador natural de los insectos de la familia Dactylopiidae. La alimentación de *L. coccidivora* basada en *D. coccus* tuvo efectos negativos en la duración de la etapa larvaria, el tiempo de desarrollo y la tasa de supervivencia de los depredadores, así como la fecundidad y la tasa reproductiva comparado con las larvas que fueron alimentadas con *D. opuntiae*, una plaga de la especie *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. Los autores proponen como posible variable explicativa de las diferencias, el contenido de AC que es mayor en la especie *D. coccus* comparada con la de *D. opuntiae* (8-25% vs 2-5%, respectivamente) (Barreto-García *et al.* 2020). Los autores discuten que, si bien la sobrevida con base en la alimentación de *D. coccus* es más baja, las larvas son el enemigo más voraz de este insecto en las casas verdes que producen AC para su comercialización, pero posiblemente los efectos observados en su estudio favorecen que la *L. coccidivora* se alimente preferentemente de *D. opuntiae* comparado con *D. coccus*.

Discusión

¿AC, un receptor de reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos? En relación con los PAMP y a los PRR, algunos mecanismos han sido estudiados en algunos insectos, como *Drosophila*. Si bien no encontramos información específica sobre si *Dactylopius coccus* sintetiza algún tipo de PGRP, la respuesta en la hemolinfa encontrada por Hernández-Hernández *et al.* (2005) manifestada por el consumo de AC y la formación de precipitados fibrilares permite que planteemos

dos preguntas, la primera es si *D. coccus* expresa algún tipo de PGRP similar a la *Drosophila* y si estos pudieran a su vez actuar en coordinación de alguna manera con el AC; o en contraparte si el mismo AC podría ser considerado como un receptor de patrones moleculares análogo a los PGRP y pudiera reconocer directamente componentes estructurales del peptidoglucano u otros patrones moleculares. La evidencia sugiere que el AC podría participar en el reconocimiento de PAMP de paredes bacterianas, principalmente de gram positivas.

¿El AC participa en la melanización? ¿Es un sustrato de las fenoloxidasas? Los estudios descritos previamente han mostrado la formación de precipitados y consumo del AC de la hemolinfa similares a los precipitados insolubles generados en la reacción de melanización, lo que ha generado al menos dos hipótesis en la discusión de los trabajos propuestas por sus autores. Por un lado, el AC podría conducir a la formación de melanina, o en contraparte podría funcionar directamente de una manera similar a la melanina en el caso de las hembras de *D. coccus*. La estructura química y los grupos funcionales del AC hacen posible teóricamente la propuesta que el AC pueda ser sustrato de las PO y hay evidencia experimental que apoya esta posibilidad aunque se requieren estudios para confirmarlo.

¿AC participa en la generación de radicales libres? La generación de radicales libres de oxígeno se ha propuesto como un mecanismo citotóxico que pudiera participar en la defensa de *D. coccus* durante la activación de PO. Los resultados de García-Gil de Muñoz *et al.* (2007) respaldan la producción de especies reactivas de oxígeno durante la reacción de la hemolinfa tras la exposición de componentes bacterianos, principalmente en la defensa contra gram positivos y que muestran que la reacción se ve disminuida con la

inhibición de los eicosanoides y la inhibición de los radicales libres. Esto sugiere que el AC podría tener una función similar a la melanización en cuanto a la encapsulación, pero también en la producción de especies reactivas con propiedades citotóxicas para los patógenos.

¿AC tiene relación con la coagulación?. A este respecto, no hay información específica sobre la vía de la coagulación en *D. coccus* y no se ha explorado la posibilidad de que el AC pudiera participar en la coagulación en respuesta a la activación de la PO en el contexto de daño tisular por lo que pudiera plantearse como una línea de investigación. Sin embargo, cabe acotar que la relación de la vía de la PO no está claro en la vía de coagulación porque al menos, en algunos modelos de insectos la coagulación no se ve afectada por la deficiencia de la PO (Scherfer *et al.* 2004).

¿El AC tiene propiedades antitumorales?. En el modelo de *Drosophila* el AC mostró tener propiedades antigenotóxicas y otros autores han reportado sus propiedades antitumorales (Lev-Goldman 2008) pero aún la evidencia no ha sido suficiente para apoyar su uso clínico en este campo.

¿El AC participa en la defensa contra los depredadores?. Los estudios realizados por Eisner *et al.* (1994) apoyan una función del AC para repeler a ciertos depredadores, los estudios se basan en el uso del AC por el depredador de la cochinilla para su provecho, pero esto no explica cuál podría ser la función de las concentraciones elevadas en las hembras de *D. coccus* ya que no se han descrito procesos de regurgitación, secreción de hemolinfa o expulsión de secreciones ricas en AC similares en la cochinilla. Los resultados de Barreto- García *et al.* (2020) son más consistentes con un posible mecanismo de defensa utilizado por la propia cochinilla contra otros depredadores,

es decir, sugiere que si bien la *L. coccidivora* es un depredador de *D. coccus*, si tuviera la opción de elegir posiblemente optaría por devorar otras especies por los efectos tóxicos que pudiera tener el consumo del AC. Sin embargo, es necesario profundizar en los mecanismos y los efectos que tiene el AC sobre sus depredadores.

Discusión de otras propuestas de posibles funciones del AC en la inmunidad innata y nuevas líneas de investigación

Debido al posicionamiento de los grupos hidroxilos y carbonilos, el AC está idealmente estructurado para coordinar la unión con metales (Dapson 2007), un ejemplo de ello es la formación del compuesto denominado carmín, un complejo con un cristal formado por un sulfato enlazado a un metal, generalmente aluminio (*i.e.*, alumbre; Müller-Maatsch & Gras 2016). Los usos de la cochinilla durante la historia y en la época actual involucran la formación de complejos con aluminio, hierro, estaño o sales de bario (Dapson 2007; Müller-Maatsch & Gras 2016; Pottier *et al.* 2018). El AC tiene grupos hidroxilo que pueden reemplazarse con metales y oxígeno para formar compuestos estables (El-Moselhy *et al.* 2011). La estructura química y la formación de compuestos estables con metales se ha utilizado ampliamente para la extracción y aplicaciones del pigmento AC para la obtención de pigmentos como el carmín en diferentes campos (textiles, pintura, farmacéutico, códices, por mencionar algunos; Fig. 4), sin embargo, al parecer no se ha contemplado la posibilidad, en sintonía con lo que se propone en este artículo y otros estudios previos, de que el AC podría ser un mecanismo de inmunidad innata con base a estas características. Es decir, además de lo que se ha discutido en este artículo, que una potencial función del AC pudiera ser precisamente el secuestro del hierro con la función de privar a las bacterias que lo requieren para su metabo-



FIGURA 4. Códice Borbónico Lámina 22. En la lámina se observa la parte 1 del Códice Borbónico de filiación Mexica, el códice se encuentra en París. Mediante imágenes de reflectancia espectral macroscópica se ha demostrado que se empleó grana cochinilla en su manufactura. El análisis indicó que el color azul grisáceo fue de *Commelina celestis* Willd. (Commelinaceae), y el café rojizo (alumbre + laca de cochinilla + arcilla), amarillo (laca de cochinilla + amarillo orgánico?) y rojo (laca de cochinilla + alumbre), fueron elaborados con grana cochinilla mezclado con otros colorantes o materiales; en la parte 2 del códice, en el color café se usó cochinilla con extracto de *Justicia spicigera* (Acanthaceae- Pottier *et al.* 2019, no se muestra imagen de la parte 2 del códice).

lismo, análogo a la función antibacteriana de la lactoferrina.

La lactoferrina es una glucoproteína que pertenece a la familia de la transferrina, es abundante en la leche y en fluidos biológicos de los mamíferos. Se le han atribuido múltiples funciones en la inmunidad innata, por diferentes mecanismos, pero en gran medida por su capacidad de unirse al hierro y la capacidad de secuestrar el hierro, privando a los patógenos produciendo un efecto bacteriostático (Yoshiga *et al.* 1997; Nakamura *et al.* 2001; García-Montoya *et al.* 2012). No se ha descrito en los insectos, de hecho, se han desarrollado modelos que incluyen a los insectos para la producción de lactoferrina recombinante humana para el estu-

dio de sus funciones, su aplicación terapéutica y en la industria alimentaria (Nakamura *et al.* 2001; García-Montoya *et al.* 2012). El hierro es absolutamente necesario para los organismos aerobios para múltiples reacciones metabólicas especialmente aquellas que involucran el transporte o activación del oxígeno (Law 2002). El hierro y los complejos hemo también tiene la capacidad de ocasionar reacciones oxidativas destructivas que pueden lesionar membranas celulares y los ácidos nucleicos, por lo que los organismos han desarrollado métodos para controlar y secuestrar el hierro (Law 2002; Nichol *et al.* 2002). Algunas proteínas pueden secuestrar el hierro como la familia de las transferrinas y la ferritina por su alta afinidad por el hierro, las cua-

les se han encontrado en algunos insectos (Law 2002). La transferrina en los vertebrados es una proteína principal para el transporte de hierro en la sangre y para su distribución a los tejidos, pero también es considerada una proteína de fase aguda debido a que sus concentraciones se modifican en respuesta al estrés, la inflamación y las infecciones (Yoshiga *et al.* 1997). Las transferrinas de los insectos son glucoproteínas que se encuentra en la hemolinfa y en los oocitos, normalmente tiene sitios funcionales de unión al hierro en su extremo N-terminal. En los oocitos también podría secuestrar el hierro y evitar la entrada de patógenos al huevecillo (Nichol *et al.* 2002). En insectos como las moscas y mosquitos las infecciones bacterianas incrementan los niveles de transferrina aparentemente como un mecanismo de la inmunidad innata, pero no es claro si participa en el transporte del hierro. Las ferritinas están compuestas de subunidades de proteínas y en la mayoría de los animales tienen una función en el almacenamiento del hierro, por lo que están principalmente en el citosol, por el contrario, en los insectos se encuentran principalmente en vacuolas y en la hemolinfa, pero al menos en *D. melanogaster* no parece aumentar con las infecciones bacterianas como mecanismo de la inmunidad innata (Yoshiga *et al.* 1997; Law 2002). Sin embargo, los insectos sometidos a dietas con exceso de hierro aumentan la síntesis de ferritina y en las moscas puede secretarse en el intestino para excretar la sobrecarga del hierro (Law 2002). No hay información disponible hasta donde revisamos la literatura, sobre la ferritina y la transferrina en *D. coccus* ni tampoco sobre el metabolismo del hierro o sus funciones específicas en esta especie. La posible participación del AC en el transporte, metabolismo o secuestro del hierro no ha sido explorada, pero las características químicas y el consumo de la hemolinfa durante la exposición a componentes de las membranas de los patógenos abre la posibilidad de que el

AC pueda tener una participación. Similar a lo reportado para la transferrina en otros insectos (Nichol *et al.* 2002), la elevada concentración del AC en los oocitos también podría participar en la defensa contra la entrada de patógenos en los huevecillos de *D. coccus*.

Las funciones biológicas del pigmento de la grana cochinilla continúan siendo motivo de investigación, aunque cabe mencionar parecería relativamente poca tomando en cuenta lo que se esperaría por la importancia histórica y actual de los usos de la grana cochinilla. Hay algunos factores a considerar que han dificultado que se entiendan las funciones del AC en la fisiología de la cochinilla. Un factor principal es que no todos los insectos escamosos producen este pigmento, por lo que pareciera que no es imprescindible para la supervivencia, de ahí que surja el cuestionamiento de si confiere alguna ventaja desde el punto de vista biológico, ya sea metabólico, inmunológico o reproductivo. Otro factor importante es el derivado del dimorfismo sexual del insecto, en los machos adultos la cantidad de AC es insignificante, sin embargo, en la etapa larvaria, donde los individuos son más vulnerables, ambos sexos son indistinguibles y las diferencias fenotípicas se presentan después de la segunda muda. Las características morfológicas pueden implicar que los factores a los que son vulnerables, entre ellos los depredadores y los factores ambientales, sean diferentes de acuerdo con el sexo en la etapa adulta. En dicha etapa, los machos tienen alas (Fig. 1) y las hembras tienen una masa corporal demasiado grande para moverse por lo que se mantienen fijas e imposibilitadas de huir de los depredadores, es plausible que las hembras requerirán de mecanismos efectivos de defensa comparado con los machos. Cabe señalar que si bien los machos poseen alas que les permiten desplazarse para fecundar varias hembras y potencialmente la capacidad de huir de sus depredadores, es

sumamente interesante que el macho no posea las estructuras necesarias para alimentarse, si el AC tuviera, como se ha sugerido, un papel en la defensa contra los microbios, no sería de extrañar que si no están equipados para alimentarse tampoco tengan mecanismos para la defensa, tomando en cuenta una esperanza de vida más corta que las hembras. Esto es compatible con otras evidencias que han mostrado que las respuestas inmunes en insectos son menores en los machos comparados con las hembras cuando se exponen al mismo estímulo. La competencia entre los machos es más importante que en las hembras, sin embargo, esto frecuentemente es a expensas de la supervivencia futura (Schmid-Hempel 2005).

Otra cuestión para considerar es el hecho, de que las cochinillas hembras de *D. coccus*, especie que ha sido domesticada desde la época prehistórica (Lecocq 2018; Mandujano *et al.* 2019), producen mayores cantidades del pigmento comparadas con las silvestres (Dapson 2007), esto, si bien atribuido a múltiples factores, podría estar ocasionado porque se encuentran en condiciones climáticas más controladas y relativamente protegidas de depredadores, favoreciendo su mejor alimentación debido al cuidado de las plantas y al control de la infestación de la mismas, lo cual podría mejorar sus capacidades fisiológicas metabólicas, reproductivas o de defensa inmunológica.

Otro elemento para tomar en consideración es que el AC se sintetiza de manera predominante en las hembras, no solo para el caso de *D. coccus* sino también para los géneros *Kermes*, *Porphyrophora* y *K. lacca*, aun cuando no se cuenta con información suficiente para responder el por qué de esta pregunta, es compatible con la propuesta de que pudiera estar relacionado con alguna de tres funciones principales reproductiva, metabólica o inmunológica con el fin de mejorar la capacidad de preservar la especie.

Discusión de otras funciones del AC para investigar

No se pueden discutir las funciones del AC sin mencionar la posibilidad de que tenga funciones asociadas a sus propiedades químicas como cromóforo. La coloración en los animales es una característica adaptativa, utilizada para la defensa contra competidores y depredadores (bióticas) o para conferir protección ante factores como la radiación, la desecación o brindar beneficios para la termorregulación (abióticas). Es posible que AC tenga funciones relacionadas con sus propiedades como cromóforo, los pigmentos como la melanina, tienden a absorber la mayoría de las longitudes de onda del espectro de la luz visible, pero también absorben el espectro ultravioleta, los cuales pueden dañar el ADN, la pigmentación de los huevos para la protección UV ha sido descrita en algunas especies de insectos (Guerra-Grenier 2019). Ya se comentó que el AC pudiera generar o participar en la reacción de melanización, sin embargo, también podría tener una función similar a la melanina por sus propiedades físicas de cromóforo, con base a la revisión de la literatura no está claro si la coloración del insecto *D. coccus* en las etapas de ninfa I y II y en la etapa adulta en el caso de las hembras contiene también la melanina o si el color que tienen sus estructuras está determinado únicamente por el AC. Por lo que no puede descartarse una función fotoprotectora. Pigmentos como la melanina, además pueden proteger de la desecación, en algunas especies de insectos las larvas melánicas se desarrollan mejor en ambientes secos comparadas con las larvas no melánicas de la misma especie (Guerra-Grenier 2019). Estas observaciones podrían ser compatibles con una función similar del AC en las larvas de *D. coccus* de acuerdo con las áreas de su localización geográfica.

En muchas especies la coloración del cuerpo tiene una función sexual y está seleccionada

para comunicar a la pareja las cualidades entre los sexos, generalmente del macho a la hembra (Guerra-Grenier 2019). Con respecto a este aspecto, ya se ha mencionado en *D. coccus* el mayor contenido de AC se encuentra en las hembras y no en los machos. Sin embargo, se sabe que las aves y los insectos pueden percibir las longitudes de onda del espectro UV por lo que los organismos pueden parecer crípticos para los humanos, pero sobresalientes para los insectos (Guerra-Grenier 2019), por lo que este es un posible campo para explorar.

En especies donde los huevecillos no reciben cuidados parentales y se dejan a su supervivencia hasta la eclosión, la coloración de los huevecillos puede proveer una función de fotoprotección o de defensa como el aposematismo, es decir, el uso de los colores para advertir a los predadores del peligro. También se ha observado en algunas especies que pudiera reducir el tiempo de desarrollo a través de la termorregulación. Las señales de advertencia no necesariamente tienen como blanco los depredadores u otras especies, también pueden ser dirigidas a competidores de la misma especie. La coloración puede ser usada por las hembras gravídicas para evaluar el grado de colonización de otros especímenes en un mismo hospedero, de tal forma pueden ser disuadidas de la oviposición en el mismo hospedero. Se ha sugerido que las especies que ponen huevecillos rojos funcionan como una señal de advertencia del riesgo de competencia (Guerra-Grenier 2019). En este sentido, si bien, los huevecillos de *D. coccus* son de color rojo, podríamos suponer que, aunque es posible que pudiera tener propiedades fotoprotectoras, termoreguladoras o aposemáticas, pareciera poco probable que fuera este el caso debido a que las larvas eclosionan rápidamente de los huevecillos después de ser depositados y el proceso ocurre principalmente durante la noche. Además, las hembras prefieren depositar los huevecillos en

la zona que no reciben la luz directa del sol. Según las observaciones de Pérez-Guerra puede ser tan rápido que ha llegado a confundirse con que algunos autores han descrito erróneamente a las hembras como vivíparas (Pérez-Guerra 1991). En cuanto al mecanismo de advertencia, como se ha señalado, el color rojo causado en este caso por la presencia de AC, podría participar en determinar el grado de colonización de los cladodios por este insecto. Sin embargo, esto no parece ser tan claro tomando en cuenta que este género es considerado como una plaga por su capacidad de invasión de los hospederos, aunque cabe resaltar que la especie de cochinilla más agresiva, que incluso se usa como control biológico es *D. opuntiae* (Cockerell) (Zimmermann & Moran 1991), tiene un contenido significativamente más bajo de AC comparado con *D. coccus*. Además, de acuerdo con las observaciones mencionadas en esta revisión, al parecer la diseminación de las hembras pareciera un evento más bien aleatorio asociado a las corrientes de aire a través de los filamentos mencionados, más que un proceso activo debido a la limitación de la locomoción de las hembras por sus características morfológicas.

Finalmente, las antraquinonas son compuestos químicos producidos por diferentes organismos incluidos los hongos y como se menciona anteriormente se han aislado diversas especies de hongos en la grana cochinilla, en relación con ello encontramos que los hongos filamentosos producen una amplia variedad de pigmentos de diferentes estructuras químicas incluyendo las melaninas y las quinonas. El *Monascus* sp. es un ejemplo de hongo productor de pigmentos policétidos de donde se obtiene pigmentos rojos y amarillos que se utilizan en la industria alimentaria en Asia. Otras cepas como *Talaromyces* (anteriormente *Penicillium* sp.) viz *T. aculeatus*, *T. funiculosus*, *T. purpureogenus*, *T. amestolckiae*, *T. ruber* y la especie *Epicoccum nigrum*, producen pigmentos policétidos. Además, los

pigmentos fúngicos hidroxiantraquinoides se encuentra abundantemente en hongos filamentosos que pertenecen al género *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. Por ejemplo, el pigmento emodina es producido por cepas de *Penicillium citrinum* y *P. islandicum* (Dufossé *et al.* 2014). Esta evidencia cobra relevancia sobre la síntesis del AC, porque aún no está claro quién y en dónde se produce el AC y de dónde provienen los precursores para la síntesis a través de la vía de los policétidos, Vera-Ponce de León *et al.* (2016) aislaron una gran variedad de hongos en cultivos de tejidos de cochinillas incluyendo a *D. coccus*, y encontraron que algunas secuencias ribosómicas de los análisis metagenómicos de las hembras pertenecen a hongos no clasificados, por lo que esto abre un campo de estudio para analizar si los hongos endosimbiontes que colonizan a *Dactylopius* pudieran ser la fuente de los precursores para la vía de la síntesis de los policétidos que finalmente es la vía que se ha propuesto para la síntesis del AC. Sin embargo, por un lado, el estudio metagenómico de las bacterias endosimbiontes no ha logrado mostrar evidencia suficiente que soporte la síntesis de precursores o que provea la maquinaria enzimática para la síntesis del AC o sus precursores y, por otro lado, no se ha propuesto hasta donde sabemos, que el origen pudiera ser derivado de simbiontes del reino fungi. Hay diversos ejemplos de hongos filamentosos que producen compuestos policétidos e hidroxiantraquinonas del tipo de la emodina, grupo al cual pertenece el AC, queda aún mucho por definir incluyendo la posibilidad de que hongos ya conocidos o nuevas especies de hongos simbiontes en el insecto pudieran contribuir a la síntesis del AC o de sus precursores. Como ya se ha mencionado son varias las especies de hongos que producen la hidroxiantraquinonas, lo que hace a este grupo de organismos un fuerte candidato a estudiar para investigarlos como la fuente de los precursores del AC. Además,

persisten muchos huecos en el conocimiento de la fisiología y del genoma del propio insecto, a la fecha se desconoce si la maquinaria enzimática para la vía de los policétidos pueda estar codificada por el propio insecto, con base en los conocimientos disponibles, hay pocos estudios que reporten la codificación en el genoma de las PKS en reino animal. Sin embargo, la evidencia acumulada nos demuestran que conceptos tradicionales, con el tiempo y las nuevas tecnologías se pueden modificar, ejemplo de ello es que hasta hace poco se consideraba que la expresión de las enzimas PKS era exclusivas de bacterias, plantas y algunos eucariontes, porque era aislada la evidencia de la expresión de PKS en el reino animal, sin embargo, ha crecido el número de reportes sobre todo en especies que producen algún tipo de pigmentos, pero cabe acotar que la posibilidad de que *K. lacca* exprese las PKS aumenta la posibilidad de que *Dactylopius coccus* también codifique su propia PKS o alguna enzima similar, aunque no se cuenta con información en este insecto a la fecha, por lo que es una nueva línea de investigación para abordar.

En resumen, la información disponible apunta a que el AC pudiera ser un mecanismo de la rama humoral de la inmunidad innata, principalmente para la defensa contra microorganismos gram positivos. Los mecanismos propuestos incluyen un proceso similar a la melanización mediado por la activación de la enzima PO y la generación de especies reactivas de oxígeno citotóxicas en respuesta a componentes de las paredes bacterianas. Se propone en este trabajo con base en su estructura química ideal para la unión a formar complejos con metales, que pudiera actuar secuestrando y privando a las bacterias del hierro, el cual es necesario para el metabolismo bacteriano como otro mecanismo posible de la inmunidad innata. Asimismo, se ha sustentado en la defensa contra microorganismos y también contra los depredadores. Además,

se propone explorar otras funciones derivadas de sus propiedades de cromóforo que pudieran contribuir a la defensa contra depredadores o sus mismos congéneres y otras funciones fisiológicas que al parecer no han sido exploradas. De tal manera que con todo lo mencionado, aunado a su uso histórico e incluso actual como un pigmento y su aplicación en diferentes contextos, podríamos afirmar que el AC es una antraquinona multifuncional.

Aún falta mucho por entender sobre las propiedades biológicas del AC y de los insectos de donde se obtiene. Todavía no está bien claro quién, en dónde y para qué se produce el AC. La evidencia recopilada en este trabajo resalta la importancia de algunos aspectos que podrían llevar a nuevas líneas de investigación con el fin de profundizar en los mecanismos específicos a través de los cuáles el AC podría desempeñar sus funciones biológicas. La investigación en los insectos desde el descubrimiento de los receptores tipo *Toll* en *Drosophila* ha cobrado suma importancia en el campo de la Inmunología sobre todo en los mecanismos de la inmunidad innata, y ha puesto en la mira a los insectos para la investigación en diferentes campos (Sheehan *et al.* 2018). La investigación sobre los mecanismos y la función del AC en la inmunidad innata y otros aspectos de la fisiología del insecto es de gran relevancia no solo para la generación de conocimiento por si mismo sino también para la aplicación en otras áreas no solo de la Inmunología sino también para otros áreas como en la química, la farmacéutica (más allá de uso como colorante) o la biología para la aplicación en el cultivo del insecto o como control cuando se convierte en una plaga.

En conclusión, hay evidencias que soportan la teoría de que el AC tiene una función importante en la inmunidad innata del insecto *D. coccus* a través de diferentes mecanismos. Sin embargo, sus particularidades físicas y químicas

han permitido su aplicación en diversos campos y con base en sus propiedades y observaciones previas se proponen algunas hipótesis y nuevas líneas de investigación para refinar y profundizar el conocimiento en relación con los mecanismos inmunológicos y fisiológicos que podría desempeñar el AC para el insecto y que pudieran tener aplicaciones en diferentes campos.

Literatura citada

- Alzate y Ramírez JA. 1794. Memoria en que se trata del insecto grana ó Cochinilla, de su naturaleza y serie de su vida, como también del método para propagarla y reducirla al estado en que forma uno de los ramos mas útiles de Comercio, escrita en México en 1777 por el autor de esta Gazeta. *Gazeta de la literatura Tomo III* **26**:199-259.
- Alzate y Ramirez JA. 1777. Memoria sobre la naturaleza, cultivo y beneficio de la grana. Copia facsimilar del original conservado en el Archivo General de la Nación. México.
- Baranyovits FLC. 1978. Cochineal carmine: an ancient dye with a modern role. *Endeavour* **2**:85-92.
- Barreto-García OA, Rodríguez-Leyva E, Lomeli-Flores JR, Vanegas-Rico JM, Viguera AL & Portillo L. 2020. *Laetilia coccidivora* feeding on two cochineal insect species, Does the prey affect the fitness of the predator?. *BioControl* **65**:727-736.
- Beardsley JW. 1969. A new fossil scale insect (*Homoptera: Coccoidea*) from Canadian amber. *Psyche* **76**:270-279.
- Blömeke B, Poginsky B, Schmutte C, Marquardt H & Wetendorf J. 1991. Formation of genotoxic metabolites from anthraquinone glycosides, present in *Rubia tinctorum* L. *Mutat Res* **265**:263-272.
- Bustamante-Brito R, Vera-Ponce de León A, Rosenblueth M, Martínez-Romero JC &

- Martínez-Romero E. 2019. Metatranscriptomic Analysis of the Bacterial Symbiont *Dactylopiibacterium carminicum* from the Carmine Cochineal *Dactylopius coccus* (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae). *Life* **9**:4.
- Calestani C, Rast JP & Davidson EH. 2003. Isolation of pigment cell specific genes in the sea urchin embryo by differential macroarray screening. *Development* **130**:4587-4596.
- Caselín-Castro S, Llanderal-Cázares C, Ramírez-Cruz A, Soto M & Méndez-Montiel JT. 2008. Caracterización morfológica de hemocitos de la hembra de *Dactylopius coccus* Costa (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae). *Agrociencia* **42**:349-355.
- Castoe TA, Stephens T, Noonan BP & Castelani C. 2007. A novel group of type I polyketide synthases (PKS) in animals and the complex phylogenomics of PKSs. *Gene* **392**:47-58.
- Chávez-Moreno CK, Tecante A, Casa A & Claps LE. 2011. Distribution and Habitat in Mexico of *Dactylopius* Costa (Hemiptera: Dactylopiidae) and their Cacti Hosts (Cactaceae: Opuntioideae). *Neotrop Entomol* **40**:62-71.
- Código Borbónico (Codex Borbonicus). <http://oda-fec.org/ucm-chasqui/bo/download/1903/borb22.jpg>. Consultado 10 de Junio de 2020.
- Cooke TF, Fischer CR, Wu P, Jiang T-X, Xie K, Kuo J, Doctorov E, Zehnder A, Khosla C, Chuong C-M & Bustamante CD. 2017. Genetic Mapping and Biochemical Basis of Yellow Feather Pigmentation in Budgerigars. *Cell* **171**:427-439.e21
- Cooksey CJ. 2018. The red insect dyes: carminic, kermesic and laccaic acids and their derivatives. *Biotech Histochem* **94**:100-107.
- Cooper D & Eleftherianos I. 2017. Memory and Specificity in the Insect Immune System: Current Perspectives and Future Challenges. *Front Immunol* **8**:539.
- Dabas D. 2016. Polyphenols as Colorants. *Adv Food Technol Nutr Sci Open J* **5E**:S1-S6.
- Dapson RW. 2007. The history, chemistry and modes of action of carmine and related dyes. *Biotech Histochem* **82**:173-187.
- Deveoglu O. 2020. A review on cochineal (*Dactylopius Coccus* Costa) dye. *Res J Recent Sci* **9**:37-43.
- Diodato L, Iturre M & Paz ME. 2004. Especies de *Dactylopius* en Argentina y factores que inciden en su producción. *Quebracho* **11**:67-72.
- Dossey AT. 2010. Insects and their chemical weaponry: New potential for drug Discovery. *Nat Prod Rep* **27**:1737-1757.
- Dufossé L, Fouillaud M, Caro Y, Mapari SA & Sutthiwong N. 2014. Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry. *Curr Opin Biotechnol* **26**:56-61.
- Dufossé L. 2014. Anthraquinones, the Dr Jekyll and Mr Hyde of the food pigment family. *Food Res Int* **65**:132-136.
- Eisner T & Nowicki S. 1980. Red Cochineal Dye (Carminic Acid): Its Role in Nature. *Science* **208**:1039-1042.
- Eisner T, Ziegler R, McCormick JL, Eisner M, Hoebeke ER & Meinwald. 1994. Defensive use of an acquired substance (carminic acid) by predaceous insect larvae. *Experientia* **50**:610-615.
- Eleftherianos I & Revenis C. 2011. Role and Importance of Phenoloxidase in Insect Hemostasis. *J Innate Immun* **3**:28-33.
- El-Moselhy MM, Sengupta AK & Smith R. 2011. Carminic acid modified anion exchanger for the removal and preconcentration of Mo(VI) from wastewater. *J Hazard Mater* **185**:442-446.
- Ferreira ESB, Hulme AN, McNab H & Quye A. 2004. The natural constituents of historical textile dyes. *Chem Soc Rev* **33**:329-336.
- García F, Calzada A, Rangel C, Castro G, Lanz H, del Río I & Hernández F. 2005. Genera-

- ción de anión superóxido O₂⁻ en respuesta a zymosan (β , 1-3 glucanos), activador de la respuesta inmune en la cochinilla fina del nopal (*Dactylopius coccus*: Homóptera). *Investigación universitaria multidisciplinaria* N°4, diciembre.
- García-Gil de Muñoz F, Lanz-Mendoza H & Hernández-Hernández FC. 2007. Free radical generation during the activation of hemolymph prepared from the Homopteran *Dactylopius coccus*. *Arch Insect Biochem Physiol* **65**:20-28.
- García-Montoya IA, Siqueiros T, Arévalo-Gallegos S & Rascón-Cruz Q. 2012. Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. *Biochim Biophys Acta* **1820**:226-236.
- Gomez de Cervantes G. 1994. *La vida económica y social de Nueva España al finalizar el siglo XVI. Versión correspondiente al Manuscrito "Memorial de Don Gonçalo Gomez de Cervantes del modo de vivir que tienen los indos, y del beneficio de las minas de la plata, y de la cochinilla"*. Códice conservado en el Museo Británico. Antigua Librería Robledo de José Porrúa e Hijos. México.
- Guerra-Grenier E. 2019. Evolutionary ecology of insect egg coloration: a review. *Evol Ecol* **33**:1-19.
- Hernández-Hernández FC, García-Gil de Muñoz F, del Río Dueñas I & Lanz-Mendoza H. 2005. La cochinilla fina del nopal, colorante mexicano para el mundo. *Ciencia (México)* octubre-diciembre.
- Hernández-Hernández FC, García-Gil de Muñoz F, Rojas-Martínez A, Hernández-Martínez S & Lanz-Mendoza H. 2003. Carminic acid dye from the Homopteran *Dactylopius coccus* hemolymph is consumed during treatment with different microbial elicitors. *Arch Insect Biochem Physiol* **54**:37-45.
- Kannangara R, Siukstaite L, Borch-Jensen J, Madsen B, Kongstad KT Staerk D, Benndsen M, Okkels FT, Rasmussen SA, Larsen TO, Frandsen RJN & Møller. 2017. Characterization of a membrane-bound C-glucosyltransferase responsible for carminic acid biosynthesis in *Dactylopius coccus* Costa. *Nat Commun* **8**:1987.
- Law JH. 2002. Insects, Oxygen, and Iron. *Biochem Biophys Res Commun* **292**:1191-1195.
- Lecocq T. 2018. Insects: The Disregarded Domestication Histories. En: *Animal Domestication*. Edited by Fabrice Teletchea IntechOpen eBook 2019.
- Leibig D, Prem R & Achintya P. 2017. The mechanisms of innate immunity in insects. *BN Seal J Sci* **9**:146-159.
- Lev-Goldman V, Mester B, Ben-Aroya N, Hanoch T, Rupp B, Stanoeva T, Gescheidt G, Seger R, Koch Y, Weiner L & Fridkin M. 2008. Conjugates of gonadotropin releasing hormone (GnRH) with carminic acid: Synthesis, generation of reactive oxygen species (ROS) and biological evaluation. *Bioor Med Chem* **16**:6789-6798.
- Liu D, Awazu A, Sakuma T, Yamamoto T & Sakamoto. 2019. Establishment of knockout adult sea urchins by using a CRISPR-Cas9 System. *Dev Growth Differ* **61**:378-388.
- Lloyd AG. 1980. Extraction and chemistry of cochineal. *Food Chem* **5**:91-107.
- Mandujano M, Mandujano A & Sánchez C. 2019. La grana cochinilla. *Cact Suc Mex* **64**:100-120.
- Merino L & Edberg U. 1997. Development and validation of a quantitative method for determination of carmine (E120) in foodstuffs by liquid chromatography: NMKL Collaborative study. *J AOAC Int* **80**:1044-1051.
- Morgan E. 2010. In Biosynthesis in insects. In Morgan E (ed), *Aromatic Compounds* RCS publishing Pp. 255-289.
- Mori H, Yoshimi N, Iwata H, Mori Y, Hará A, Tanaka T & Kawai K. 1990. Carcinogenicity

- ty of naturally occurring 1-hydroxyanthraquinone in rats: induction of large bowel, liver and stomach neoplasms. *Carcinogenesis* **11**:799-802.
- Mueller SO, Schmitt M, Dekant W, Stopper H, Schlatter J, Schreier P & Lutz WK. 1999. Occurrence of Emodin, Chrysophanol and Physcion in Vegetables, Herbs and Liquors. Genotoxicity and Anti-genotoxicity of the Anthraquinones and of the Whole Plants. *Food Chem Toxicol* **37**:481-491.
- Müller-Maatsch J & Gras C. 2016. The “Carmine Problem” and Potential Alternatives. In Carle R & Schweiggert RM (eds), *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages*. Elsevier. Pp 385-428.
- Nakamura I, Watanabe A, Tsunemitsu H, Lee NY, Kumura H, Shimazaki K & Yagi Y. 2001. Production of Recombinant Bovine Lactoferrin N-Lobe in Insect Cells and Its Antimicrobial Activity. *Protein Expr Purif* **21**:424-431.
- Netea MG, Van der Meer JW & Kullber BJ. 2007. Recognition of fungal pathogens by Toll-like receptors. In Brown GD & Netea MG (eds), *Immunology of fungal infections*. Springer. Pp 259-272.
- Nichol H, Law JH & Winzerling JJ. 2002. Iron metabolism in insects. *Annu Rev Entomol* **47**:535-559.
- Pankewitz F, Zöllmer A, Hilker M & Gräser Y. 2007. Presence of Wolbachia in Insect Eggs Containing Antimicrobially Active Anthraquinones. *Microb Ecol* **54**:713-721.
- Pérez-Guerra G. 1991. Biosystematics of the family Dactylopiidae (Homoptera: coccinea) with emphasis on the life cycle of *Dactylopius coccus* Costa. Dissertation PhD. Viginina Polytechnic Institute and Sate University. Blacksburg, Virginia
- Pintea AM. 2007. Other natural pigments. In Socaciu C (ed), *Food Colorants: Chemical and functional properties*. CRC Press. Pp. 102-119.
- Portillo L & Viguera AL. 2013. Cría de grana cochinilla del nopal, páginas 85-94. En *Actas de la Segunda Reunión para el Aprovechamiento Integral de la Tuna y otras Cactáceas y I Reunión Sudamericana CACTUSNET FAO-ICARDA*. Río Hondo-Santiago del Estero. Argentina.
- Portillo ML & Viguera AL. 2006. A Review on the cochineal species in Mexico, hosts and natural enemies. *Acta Hort* **728**:249-256.
- Pottier F, Michelin A, Kwimang S, Andraud C, Goubard F & B Lavédrine. 2019. Macroscopic reflectance spectral imaging to reveal multiple and complementary types of information for the non-invasive study of an entire polychromatic manuscript. *J Cult Herit* **35**:1-15.
- Ramírez-Puebla ST, Ormeño-Orrillo E, Vera-Ponce de León A, Lozano L, Sánchez-Flores A, Rosenblueth M & Martínez-Romero E. 2016. Genomes of *Candidatus Wolbachia bourtzisii* wDacA and *Candidatus Wolbachia pipientis* wDacB from the Cochineal Insect *Dactylopius coccus* (Hemiptera:Dactylopiidae). *G3 (Bethesda)* **6**:3343-3349.
- Ramírez-Puebla ST, Rosenblueth M, Chávez-Moreno CK, Catanho Pereira de Lyra MC, Tecante A & Martínez-Romero ST. 2010. Molecular Phylogeny of the genus *Dactylopius* (Hemiptera: Dactylopiidae) and identification of the symbiotic bacteria. *Environ Entomol* **39**:1178-1183.
- Rasmussen SA, Kongstad KT, Khorsand-Jamal P, Kannangara RM, Nafisi M, Van Dam A, Bennedsen M, Madsen B, Okkels F, Gotfredsen CH, Staerk D, Thrane U, Mortensen UH, Larsen TO, Frandsen RJN. 2018. On the biosynthetic origin of carminic acid. *Insect Biochem Mol Biol* **96**:51-61.

- Rosenblueth M, Martínez-Romero J, Ramírez-Puebla ST, Vera-Ponce de León A, Rosas-Pérez T, Bustamante-Brito R, Rincón-Rosales R & Martínez-Romero E. 2018. Endosymbiotic microorganisms of scale insects. *TIP Rev Esp Cienc Quim Biol* **21**:53-69.
- Scherfer C, Karlsson C, Loseva O, Bidla G, Goto A, Havemann J, Dushay MS & Theopold U. 2004. Isolation and characterization of hemolymph clotting factors in *Drosophila melanogaster* by a Pullout Method. *Curr Biol* **14**:625-629.
- Schmid-Hempel P. 2005. Evolutionary Ecology of Insect Immune Defenses. *Annu Rev Entomol* **50**:529-351.
- Shamim G, Ranjan SK, Pandey DM & Ramani R. 2014. Biochemistry and biosynthesis of insect pigments. *Eur J Entomol* **111**:149-164.
- Sheehan G, Garvey A, Croke M & Kananagh K. 2018. Innate humoral immune defences in mammals and insects: The same, with differences? *Virulence* **9**:1625-1639.
- Siva-Jothy MT, Moret Y & Rolff J. 2005. Insect immunity: an evolutionary ecology perspective. *Adv Insect Phys* **32**:1-48.
- Sorrentino RP, Small CN & Govind S. 2002. Quantitative analysis of phenol oxidase activity in insect hemolymph. *Biotechniques* **32**:815-823.
- Stanley D. 2006. Prostaglandins and other eicosanoids in insects: biological significance. *Annu Rev Entomol* **51**:25-44.
- Stintzing F & Carle R. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol Nutr Food Res* **49**:175-194.
- Sun C, Li Y, Song P & Ma F. 2016. Experimental and Theoretical Investigation of the Electronic Structures and Photoelectrical Properties of Ethyl Red and Carminic Acid for DSSC Application. *Materials (Basel)* **9**:813.
- Takahashi E, Marczylo TH, Watanabe T, Nagai S, Hayatsu H & Negishi T. 2001. Preventive effects of anthraquinone food pigments on the DNA damage induced by carcinogens in *Drosophila*. **480-481**:139-145.
- Torres JP & Schmidt. 2019. The biosynthetic diversity of the animal World. *J Biol Chem* **294**:17684-17692.
- Vera-Ponce de León A, Sánchez-Flores A, Rosenblueth M & Martínez-Romero E. 2016. Fungal community associated with *Dactylopius* (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae) and its role in uric acid metabolism. *Front Microbiol* **7**:954.
- Vera-Ponce de León A, Ormeño-Orrillo E, Ramírez-Puebla ST, Rosenbluth M, Degli Esposti M, Martínez-Romero J & Martínez-Romero E. 2017. Candidatus *Dactylopiibacterium carminicum*, a nitrogen-fixing symbiont of *Dactylopius* cochineal insects (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae). *Genome Biol Evol* **9**:2237-2250.
- Vigueras AL & Portillo L. 2014. Cría de grana Cochinilla. En Vigueras AL & Portillo L (eds) *Control de cochinilla silvestre y cría de grana cochinilla*. Coecytjal-Universidad de Guadalajara. Pp 1-60.
- Yano T & Kurata S. 2011. Intracellular recognition of pathogens and autophagy as an innate immune host defence. *J Biochem* **150**:143-149.
- Yoshiga T, Hernández VP, Fallon AM & Law JH. 1997. Mosquito transferrin, an acute-phase protein that is up-regulated upon infection. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**:12337-12342.
- Zimmermann & Moran. 1991. Biological control of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae), in South Africa. *Agric Ecosyst Environ* **37**:29-35.

Mammillaria schiedeana C. Ehrenb. subsp. *schiedeana*



Planta con tallo globoso, simple o ramificado por brotes laterales, de hasta 6.5 cm de alto y 7.8 cm de diámetro. Con tubérculos alargados y delgados, de 6 a 10 mm de largo y de 3 a 4 mm de ancho, dispuestos en series de 13 y 21 tubérculos. Aréolas circulares y axilas con lana blanca y cerdas largas y blancas, que sobresalen de los tubérculos. Presenta de 70 a 120 espinas radiales setosas, de color amarillo, de hasta 2.5 cm de largo; espinas centrales ausentes. Flor con forma de embudo, de 1.3 a 1.7 cm de largo y de 1.2 a 1.5 cm de diámetro. Los segmentos externos del perianto son lanceolados, de color blanco, con una línea media amarilla. Los tépalos internos son más largos que los exteriores, lanceolados y agudos, de color blanco, con margen amarillo. Estigma de color crema u amarillo, con 5 a 6 lóbulos; anteras amarillas, con filamentos blancos. El periodo de floración es de noviembre a enero (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada 1991. *Las Cactáceas de México*. Vol. 3, UNAM; Arias & Aquino 2019. *Flora del Bajío y de regiones adyacentes*. Instituto de Ecología, A.C.). Fruto globoso, de hasta 2.5 cm de largo y 1.2 cm de diámetro, de color rojo o rojo carmín, que conserva los restos florales secos en el ápice. Las semillas son alargadas, de 1.3 mm de largo y 0.8 mm de ancho, con una testa de color negro, foveolada.

Es una especie endémica de México que habita en algunas zonas de bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo de los estados de Guanajuato, Hidalgo, Querétaro, San Luis Potosí y Tamaulipas (Arias & Aquino 2019). De acuerdo a La Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), *M. schiedeana* se encuentra en la categoría de “Vulnerable (VU)”, debido a la reducción de sus poblaciones, a causa de la fragmentación y reducción del hábitat (IUCN 2019. iucnredlist.org). Además, es muy apreciada por los coleccionistas, lo que ocasiona la extracción ilegal de ejemplares de vida silvestre, para su posterior comercialización como planta de ornato (Pilbeam 1999). De acuerdo a lo anterior, fue incluida en el Apéndice II de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres) (Hunt 1999. CITES Cactaceae Checklist) y en México se encuentra protegida por la NOM-059-SEMARNAT-2010, que la incluye dentro de la categoría de “Amenazada” (DOF dof.gob.mx).

Cárdenas Ramos Diana

Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510, CDMX

Correo electrónico: diana_cr92@hotmail.com