



Pontificia Universidad  
**JAVERIANA**  
Bogotá

**Facultad de Estudios Ambientales y Rurales**

**Andrés Camilo Márquez Pérez**

**Trabajo de Grado para optar por el título de Ecólogo**

**Ángela R. Amarillo-Suarez, Ph-D**  
**Directora del Trabajo de Grado**

**Viabilidad de la biodegradación de Polietileno y Poliuretano  
por la polilla de la cera (*Galleria mellonella*): Factores que  
afectan tasas de degradación y supervivencia.**

**BOGOTÁ, D.C. 2019**

## Resumen

Los plásticos se han convertido en un objeto indispensable de la vida humana, sus características y sobre todo su bajo costo ha potenciado su fabricación y uso, al punto en que estos materiales se encuentran en todos los ecosistemas del planeta. Estos son conocidos porque no entran fácil en los ciclos de degradación, y al hacerlo liberan sustancias tóxicas que afectan negativamente la vida en la tierra. En el presente artículo se busca evidenciar los procesos de biodegradación y supervivencia por parte de la polilla de la cera *Galleria mellonella* en cinco diferentes tratamientos que incluyen polietileno y poliuretano a modo de alimentación.

Se realizaron pruebas de espectroscopia infrarroja para determinar si hubo degradación por parte de las larvas. Los espectros del día 7 y 14 presentaron diferencias entre sí. Ocurrió una disminución de los picos característicos de los plásticos. Así como un cambio en las propiedades superficiales, estos se vuelven más afines a las moléculas del agua, y por lo tanto más susceptibles a la biodegradación. Asimismo, se pudo observar la presencia de microplásticos en las heces. Del día de montaje al día 28 del experimento se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de las larvas (ANOVA,  $P = 2e-16$  \*\*\*). Asimismo, para el tiempo que se demoraron las larvas en llegar a su estadio adulto (ANOVA,  $p = 1.22e-14$  \*\*\*). Además, se presentó un efecto significativo del polietileno y poliuretano en la mortalidad de las larvas. Una de las hipótesis manejadas es que las larvas de *G. mellonella* no pueden utilizar los materiales plásticos a modo de alimentación.

## Abstract

Plastics have become an essential object in human life, their characteristics and low cost have enhanced its manufacturing and use to the point where these materials are found in all the ecosystems on the planet. Plastics are known because they don't enter easily in the degradation cycles, and by doing so the release toxic substances that affect negatively life on earth. The present article seeks to assess the biodegradation process and survival by the wax moth *G. mellonella* by feeding them polyethylene and polyurethane in five different treatments.

Infrared spectroscopy tests were performed to determine if there was a degradation process by the larvae. The spectra of day 7 and 14 showed differences between them. There was a decrease in the characteristic peaks of the plastic materials. As well as a change in the surface properties of plastic, which become more related to water molecules, and therefore more susceptible to biodegradation. Furthermore, it was possible to observe the presence of microplastics in the feces. From the day of assembly to the 28<sup>th</sup> day of the experiment, significant differences were found in the growth of the larvae (ANOVA,  $P = 2e-16$  \*\*\*). Also, in the time that the larvae took to reach their adult stage (ANOVA,  $p = 1.22e-14$  \*\*\*). In addition, there was a significant effect of the polyethylene and polyurethane on larval mortality. One of the hypotheses handled is that *G. mellonella* can not use plastic materials as food.

# Introducción

## Planteamiento del problema

Los plásticos son productos compuestos por numerosas cadenas largas de polímeros que contienen petróleo, carbono y gas natural (Cregut, Bedas, Durand, & Thouand, 2013). Estos polímeros son extremadamente estables y no entran fácilmente en los ciclos de degradación (Shimao, 2001). Los plásticos se han convertido en un ingrediente indispensable de la vida humana donde su desmesurado uso es motivo de gran preocupación ambiental y económica (Singh & Sharma, 2008). “Los plásticos son susceptibles a la degradación en diversos grados, ya sea por la acción del calor, el estrés, la radiación, la oxidación, la hidrólisis, agentes químicos ó por procesos biológicos” (Albertsson & Karlsson, 1988). Sin embargo, en la ausencia de métodos eficientes para la eliminación segura de los residuos, estos polímeros se acumulan en los ambientes del planeta, generando una amenaza ecológica cada vez mayor a la vida silvestre terrestre y marina (Sivan, 2011).

Los desechos plásticos pueden ahogar y matar de hambre a la vida silvestre, distribuyen individuos no nativos y potencialmente dañinos para los ecosistemas, absorben sustancias químicas tóxicas que se degradan en microplásticos que luego pueden ser ingeridos por otros organismos o por la población humana (Barnes, Galgani, Thompson, & Barlaz, 2009), incorporándose a las cadenas alimenticias afectando además la seguridad alimentaria (Voronova, 2018). El riesgo más discutido para la salud humana asociado con el uso de plástico es la exposición de microplásticos, debido a la toxicidad de los químicos asociados (Rist, Carney, Hartmann, & Karlsson, 2018). Además, experimentos de laboratorio han demostrado que el plástico es una fuente de cambio climático, ya que los más utilizados pueden producir gases de efecto invernadero como el metano y el etileno cuando se exponen a la luz solar (Royer, Ferrón, Wilson, & Karl, 2018)

En 2017 la producción de plástico casi llegó a los 350 millones de toneladas (PlasticsEurope, 2018). Adicionalmente, se estima que más de 250,000 toneladas de plástico flotan en el mar (Eriksen et al., 2014). “Dada su composición, se ha calculado que el polietileno se degradaría menos del 0,5% en 100 años y el 1% si se expone a la luz solar durante 2 años” (Khabbaz & Albertsson, 2001). La mayoría de los polímeros que se encuentran en el mercado están estabilizados contra la degradación termo y fotooxidante con moléculas pequeñas llamadas “aditivos” (Földes & Turcsanyi, 1991). Los aditivos Irganox 1010 y 168 son dos de los componentes más usados (Dordinejad, Sharif, Ebrahimi, & Rashedi, 2018). Gall & Thompson (2015) y Romeo et al. (2015) demostraron que los fragmentos plásticos y los aditivos pueden causar alteraciones en los disruptores endocrinos y en el sistema reproductivo del atún rojo. Se ha sugerido ampliamente que los contaminantes absorbidos y los aditivos químicos que se utilizan en la fabricación podrían liberarse en los ecosistemas si se ingieren los plásticos por diferentes organismos (Teuten et al., 2009). De acuerdo con el aditivo utilizado, la toxicidad potencial del plástico puede transformarse con el tiempo debido a la liberación de sustancias peligrosas durante la degradación o la desagregación del polímero (Cregut et al., 2013).

## Justificación

De acuerdo con los problemas planteados, una alternativa de solución está en encontrar formas de degradación del plástico para disminuir sus efectos deletéreos en el ambiente, pues al día de hoy no existe una alternativa viable y segura para la eliminación de los residuos plásticos. Para la gestión de estos residuos, se ha practicado comúnmente la ideología de reducir, reutilizar y reciclar. Sin embargo, el reciclaje no ha brindado una solución segura para la eliminación de residuos plásticos (Sivan, 2011). “Los polímeros como el polietileno y el poliestireno han demostrado cierta biodegradabilidad a largo plazo y aunque es limitada, no son inertes a la degradación causada por los microorganismos” (Lindberg, Albertsson, Barenstedt, Karlsson, & Lindberg, 1995). Los polímeros biodegradables por microorganismos son fundamentales para combatir los problemas ambientales relacionados con los plásticos (Gomez, Martínez, Pérez, & Guillermo, 2016).

Asimismo, existen bacterias como “*Ideonella sakaiensis*, hongos *Penicillium simplicissimum* y microorganismos presentes en el estómago de la larva de la polilla *Plodia interpunctella* capaces de biodegradar polietileno, sin embargo, no a la misma tasa y velocidad que *Galleria mellonella*” (Bombelli et al., 2017). No obstante, los vacíos de información acerca de la habilidad de *G. mellonella* para degradar plástico son muy grandes debido a que solo se conoce que una exposición de ~100 larvas generó una pérdida de 92 mg de polietileno en 12 horas (Bombelli et al., 2017). No se conoce en que estadio larval se efectuó dicha degradación, las afectaciones a los individuos, las tasas de mortalidad, las repercusiones que traería proponer la especie como solución a la problemática del plástico y si efectivamente se produjo degradación o solamente se generaron microplásticos.

Por otra parte, *Galleria mellonella* es considerada una importante plaga de la industria apícola (Anwar Mohamed, Ansari, Al-Ghamdi, Mohamed, & Kaur, 2014) y por lo tanto los estudios que se hagan con esta especie deben ser realizados con cautela, pues no se puede comprometer la seguridad de las abejas por solucionar otras problemáticas, más aún cuando las abejas son insectos importantes como polinizadores y productores de miel (Neumann & Carreck, 2010). *G. mellonella* en su estadio larval habita en los panales de las abejas comunes, genera túneles y se alimenta de la miel y la cera de los mismos (Jackman and Drees 1998; Chandel et al. 2003). Debido a los constantes registros de disminuciones dramáticas de abejas productoras de miel tanto silvestres como manejadas, las preocupaciones sobre la pérdida de polinizadores y los servicios que prestan han aumentado en las últimas décadas (Allen-wardell et al., 1998).

## Propósito del proyecto

Este proyecto evaluó si *G. mellonella* realiza una degradación efectiva del polietileno y poliuretano. Para ello, se analizaron las heces de las larvas bajo la técnica de espectroscopia infrarroja (IR), después de someter las larvas a consumo de dos tipos de plástico: Poliuretano y Polietileno. Además, se evaluaron los cambios en crecimiento y supervivencia de larvas de *G. mellonella* a partir del

cuarto estadio, sometidas a diferentes tipos de dieta que incluyen polietileno y poliuretano.

## Objetivos

### Objetivo general

Evaluar la capacidad de biodegradación y la supervivencia de *Galleria mellonella* cuando se le suministra polietileno y poliuretano como fuente de alimentación.

### Objetivos específicos

- Determinar en qué medida *G. mellonella* realiza una biodegradación de plásticos efectiva a partir del análisis de los componentes principales de las heces de las larvas de *G. mellonella*.
- Comparar la supervivencia y crecimiento de *G. mellonella* sometida a dos tipos de plásticos con estos parámetros en condiciones de alimentación óptimas de la especie.

## Marco teórico

### *Galleria mellonella*

La polilla de la cera *G. mellonella* es un lepidóptero de la superfamilia Pyraloidea, precisamente de la familia Pyralidae (Solis, 2007). Sus larvas son eruciformes, es decir, tienen seis patas en el tórax y una serie de pseudopatas del sexto al noveno segmento abdominal (Smith, 2014). Es un insecto holometábolo, es decir que se desarrolla a través de cuatro diferentes estadios: huevo, larva, pupa y adulto (Kwadha, Ong'Amo, Ndegwa, Raina, & Fombong, 2017). El ciclo puede variar de semanas a meses, ya que se ve afectado por factores bióticos intra e interespecíficos, así como por factores abióticos (Gulati & Kaushik, 2004) Por tal motivo, las larvas pueden tomarse entre 28 días y 6 meses antes de pupar. Tiene una coloración blanca y su cabeza es vinotinto, con dientes apicales bien desarrollados y carece de dientes sub-apicales (Smith, 2014).

La polilla de la cera oviposita entre 50 a 150 huevos ovalados simultáneamente, dispuestos en grupos en pequeñas grietas o hendiduras dentro de la colmena, dentro de la esperanza de vida del adulto ovipositora entre 250 a 300 huevos (Williams, 1997 citado por Ellis, Graham, & Mortensen, 2013). Estos tienen en promedio 0,478 mm de largo y 0,394 mm de ancho (Paddock, 1918). Al momento de eclosionar, las larvas tienen en promedio de 1 a 3 mm de longitud y 0,12–0,15 mm de diámetro (Smith, 2014). “Las larvas de estadio tardío miden aproximadamente 25–30 mm de longitud y 5–7 mm de diámetro, y la pupa tiene un promedio de 12 a 20 mm de longitud y de 5 a 7 mm de diámetro” (Smith, 2014). Los adultos exhiben dimorfismo sexual y por lo tanto la polilla hembra tiene un promedio de 15 a 20 mm de longitud corporal, 31 mm de ancho y 169 mg de peso, mientras que el macho es considerablemente más pequeño (Ellis et al., 2013) Los machos tienen una vida más larga, esta puede ser de 21 a 30 días, mientras que las

hembras de 8 a 15 días (El-sawaf, 1950). Sin embargo, todas las medidas mencionadas anteriormente varían dependiendo la calidad de la alimentación que se les proporciona, así como de factores extrínsecos como la temperatura (Gulati & Kaushik, 2004).

En condiciones de laboratorio las larvas se alimentan de miel de abejas, glicerina, levadura, cera de abejas y salvado de trigo (Realpe-Aranda, J, Bustillo-pardey, & López-núñez, 2007) y la temperatura óptima para el crecimiento de *G. mellonella* es de 25°C (Realpe-Aranda et al., 2007). No obstante, está demostrado que los rangos entre 29 y 33°C también son óptimos para su desarrollo (Nielsen & Brister, 1979). Las larvas presentan una intensidad mayor de alimentación en estadios larvales tempranos.

## Plástico

“Los plásticos sintéticos aparecieron por primera vez en 1835 después del hallazgo de la reacción de polimerización elaborada con cloruro de vinilo por Henri Victor Regnault” (Cregut et al., 2013). Estos se han vuelto uno de los materiales más empleados a nivel mundial, pues demostró más que cualquier otro material uno de los mayores crecimientos en los últimos 50 años (Allwood et al., 2011 citado por Van Eygen et al., 2017). Esto se debe a que son livianos, resistentes, duraderos y sobre todo muy económicos (Van Eygen et al., 2017). La producción global de plásticos se ha incrementado considerablemente, en 2006 se estimó su producción en 225 millones de toneladas por año (APME, 2006). Sin embargo, en 2014 alcanzó una producción global de más de 300 millones de toneladas (PlasticsEurope, 2015), y en 2017 casi llegó a los 350 millones de toneladas (PlasticsEurope, 2018).

Los materiales plásticos pueden clasificarse en varios tipos, estos son comúnmente agrupados en tres amplias categorías según sus características físicas: A) termoestables: son plásticos compactos que no pueden volver a fundirse y reformarse. Los B) termoplásticos pueden ser fundidos, reformados o reciclados repetidamente. Y los C) elastómeros son plásticos elásticos blandos. (Bourguignon, 2017). Los plásticos termoestables en condiciones de calentamiento se convierte en una masa infusible, esto permite que las moléculas se condensen con la liberación de pequeños productos secundarios como H<sub>2</sub>O, HCl, (Singh & Sharma, 2008). Por otro lado, lo que ocurre con los termoplastos es que las cadenas lineales de macromoléculas pueden reaccionar mediante radicales libres que puede abrir el doble enlace inicial del polímero, permitiendo así una “adición de polimerización”, motivo por el cual se pueden reformar (Singh & Sharma, 2008).

Por ejemplo, el polietileno es un material termoplasto, es un polímero lineal que se puede remodelar muchas veces y tienen cierto grado de solubilidad (Dasgupta, 1994). Su estructura consiste en cadenas en zigzag de átomos de carbono, cada una de ellas está conectada con dos átomos de hidrógeno (Nazmov, Korobeynikov, & Bryazgin, 2016). Por otro lado, el poliuretano es uno de los polímeros con mayor diversidad de propiedades dentro de los materiales plásticos, estos pueden ser termoplásticos, resinas termoestables y elastómeros (Birley et al., 1988). El eslabón de la cadena característico de este polímero es el enlace uretano, aunque generalmente solo está presente en menor medida. El poliuretano, incluso en ausencia de aditivos estabilizantes, es bastante resistente a diversos estreses

bióticos y abióticos debido a su estructura heterogénea y a la naturaleza de sus componentes básicos (Cregut et al., 2013)

### **Degradación del plástico**

La estructura y composición química de los polímeros juega un papel muy importante en su degradación (Singh & Sharma, 2008). Los polímeros sintéticos y naturales no son biodegradables hasta que se desgastan en partículas de baja masa molecular que pueden ser asimiladas por microorganismos (Jakubowicz, 2003). “Estos polímeros, son susceptibles a la degradación en diversos grados. Ya sea por la acción del calor, el estrés, la radiación, la oxidación, la hidrólisis, agentes químicos, así como por procesos biológicos” (Albertsson & Karlsson, 1988). La degradación abiótica implica procesos físicos y/o químicos que generan modificaciones intramoleculares en el polímero (Sivan, 2011).

Los polímeros que contienen aditivos prooxidantes tienen una mayor susceptibilidad a la degradación por radiación ultravioleta y el calor, ya que estos producen radicales libres que atacan la configuración molecular del polímero, y esto conduce a reacciones de auto oxidación (Khabbaz & Albertsson, 2001). De igual manera, los biopolímeros como el almidón se pueden incorporar como un componente natural para mejorar la degradabilidad global de los plásticos (Lindberg et al., 1995).

### **Biodegradación**

La biodegradabilidad se define como la tendencia de un material a descomponer las moléculas que lo conforman mediante procesos naturales (Singh & Sharma, 2008). El paso inicial para la biodegradación de muchos polímeros es la fotooxidación. Seguido por el ataque de microorganismos a las partes carboxílicas del polímero, liberando dos fragmentos de la cadena de carbono que los microorganismos pueden usar en sus ciclos anabólicos o catabólicos (Lindberg, Albertsson, Barenstedt, Karlsson, & Lindberg, 1995) En consecuencia, el plástico se deteriora, pierde su resistencia, se vuelve frágil y se desmorona en pequeños fragmentos y partículas llamadas microplásticos (Sivan, 2011).

La biodegradación es la forma natural de reciclar desechos o descomponer la materia orgánica en nutrientes que pueden ser utilizados por otros organismos (Eskander & Saleh, 2017). “En la biodegradación se espera que los metabolitos liberados no sean tóxicos para el medio ambiente, y a su vez estos se redistribuyan a través de los ciclos de carbono, nitrógeno y azufre” (Singh & Sharma, 2008).

### **Gestión ambiental**

Desde la gestión ambiental se debe crear una política más fuerte y efectiva de manejo y disposición de desechos de los materiales plásticos (Thompson, Moore, Saal, & Swan, 2009). Por ejemplo, Yash Aryan y colaboradores en el 2018 realizaron una evaluación de las opciones de manejo de residuos plásticos existentes en la India. A través de la técnica “evaluación del ciclo de vida” (ECV) la cual puede comparar e identificar con precisión las mejores opciones de manejo de desechos

plásticos para el medio ambiente. Los escenarios considerados en el estudio fueron rellenos sanitarios sin recuperación de biogás (S1); Incineración sin recuperación de energía (S2); Reciclaje (S3) e incineración con recuperación de energía (S4). Los resultados demostraron que el S3 tiene el menor impacto ambiental para la mayoría de categorías, mientras que el S2 fue considerado como el de mayores daños ambientales (Aryan, Yadav, & Samadder, 2018). Finalmente, se requiere una mejor educación, aproximación, aplicación y apropiación de las políticas ambientales con el fin de mejorar la gestión de residuos plásticos.

La sostenibilidad ambiental es un interés practicado por las empresas multinacionales más competitivas y exitosas, una de sus principales preocupaciones es cómo gestionar los impactos ambientales de manera efectiva y eficiente (Berry & Rondinelli, 1998). Por ejemplo, Sivan (2011) propone que para obtener una eliminación segura de los desechos plásticos se deben abordar varios quehaceres, “que incluyen: i) foto y/o termo oxidación aplicada antes de la exposición al ambiente biótico ii) selección y aislamiento de una cepa (o un consorcio) que produce altos niveles de enzimas oxidativas. iii) Aumentar la inducción de enzimas oxidativas intrínsecas y externas. iv) Incremento de la hidrofobicidad de la superficie celular mediante el uso de surfactantes no iónicos que mejoren la formación de biofilm” (Sivan, 2011).

## **Antecedentes**

Bombelli y colaboradores descubrieron en el 2017 que una exposición de ~100 larvas de *G. mellonella* generó una pérdida de 92 mg de polietileno en 12 horas. Sin embargo, los vacíos de información que deja esta investigación son enormes, pues no se conoce a que temperatura se realizaron los experimentos, en cuál estadio se encontraban las larvas, cuanto plástico consumió cada larva, si efectivamente las larvas sobrevivieron a esta dieta, y que repercusiones traería proponer a *G. mellonella* como la solución a la problemática del plástico.

Yang y colaboradores demostraron que larvas de *Tenebrio molitor* pudieron degradar mayores cantidades de poliestireno cuando se les proporcionó una dieta con proteína y plástico, es decir, con un mayor suplemento nutricional. Los experimentos se realizaron con diferentes combinaciones de alimentos y a diferentes temperaturas 20°C, 25 °C y 30 °C. Realizaron, pruebas de espectroscopia infrarroja (IR) para identificar el cambio del poliestireno en las heces de las larvas. La segunda generación parecía tener una mayor afinidad por los materiales plásticos (Yang et al., 2018).

Lewanga y colaboradores demostraron en el 2018 que el 60 % del plástico de baja densidad fue degradado después de una exposición de 21 días por las bacterias extraída del aparato digestivo de *Lumbricus terrestris*. Estas bacterias degradaron el polietileno de baja densidad utilizando el carbono del material como fuente principal de energía. Sin embargo, se detectaron nano plásticos al final del experimento (Lwanga et al., 2018).

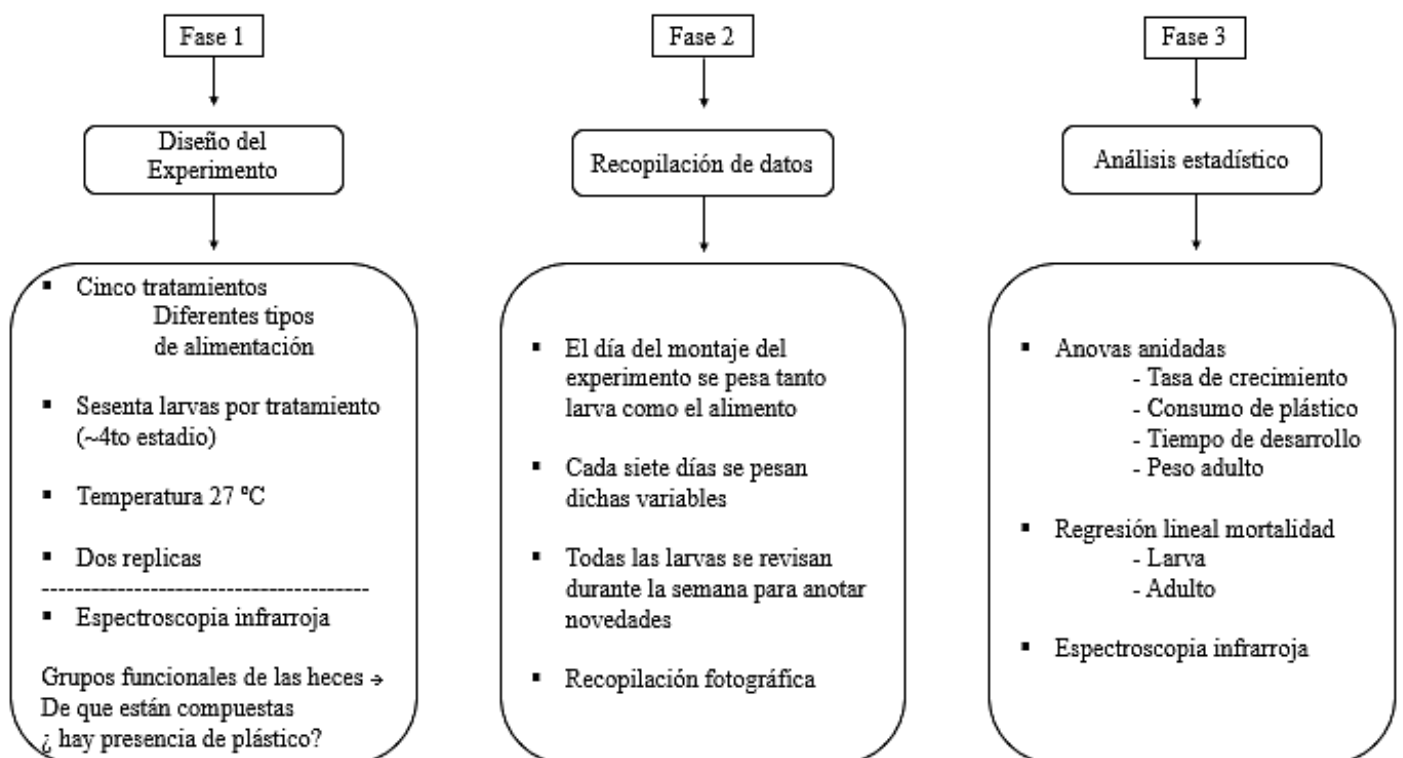


Asimismo, Los hongos filamentosos son conocidos por su capacidad para degradar muchas sustancias orgánicas (incluyendo el plástico). Estas habilidades dependen de la colonización eficiente del sustrato y la secreción de numerosas enzimas (Oprea, 2010). Crabbe y colaboradores aislaron cuatro hongos, *Curvularia senegalensis*, *Fusarium solani*, *Aureobasidium pullulans* y *Cladosporium sp. Pestalotiopsis microspora* que parecían poder utilizar espumas de poliuretano como fuente de carbono y energía (Crabbe, Campbell, Thompson, Walz, & Schultz, 1994). *Glocladium roseum* y otras quince cepas de hongos también se estudiaron por su capacidad para degradar poliuretanos (Bentham et al., 1987 citado por Cregut et al., 2013).

## Metodología

### Diagrama de flujo

La **figura 1** refleja las fases que se siguieron en esta investigación. La primera etapa consistió en establecer una colonia sana de *Galleria mellonella*. Para ello se compraron 200 larvas de *G. mellonella* de la empresa PERKINS LTDA, garantizando que efectivamente fuera la especie de interés y la calidad de los individuos. A partir de las 44 larvas que lograron llegar a su estadio adulto se procedió a empezar la colonia, proceso que duró aproximadamente 6 meses, hasta obtener entre 2000 y 2300 individuos para empezar las experimentaciones y mantener la colonia al mismo tiempo. Una vez alcanzado el umbral de individuos, se empezó con la respectiva experimentación. Las larvas utilizadas en el diseño experimental eran sustraídas de la colonia establecida.



**Fig 1:** Diagrama de flujo que muestra las etapas del proceso de investigación.

## **Diseño del estudio**

### **Diseño experimental:**

Larvas de *G. mellonella* fueron sometidas a cinco tratamientos, cada uno con un tipo de alimentación diferente: Cera y levadura (C), Polietileno (P), Poliuretano (Po), C + P y C+ Po. Se ubicó una larva saludable de aproximadamente cuarto estadio (10 ~ 15 mm) y su respectivo tipo de alimentación, en una caja de petri. Se optó por utilizar larvas en el cuarto estadio debido a que se hicieron experimentos previos con larvas recién emergidas, sin embargo, dichas larvas no degradaban el plástico y morían a los pocos días. Todas las larvas fueron ubicadas en cada tratamiento de forma secuencial, de manera que en cada día el número de larvas por tratamiento fuera el mismo ó muy cercano. Por cada tratamiento se ubicaron sesenta larvas. El experimento se realizó en una cámara ambiental a 27°C y 70%HR.

La alimentación suministrada a las larvas en cada tratamiento fue estandarizada. Tanto los plásticos como la cera con levadura se suministraron a cada larva en cuadrados de 2cm de lado. Tanto el poliuretano como el polietileno eran de calibre 0,90. Las variables de crecimiento y supervivencia medidas en todas las larvas fueron: masa del plástico, masa corporal, mortalidad, tiempo de desarrollo desde el momento en que se ubicó la larva en el tratamiento hasta la adultez, tiempo de desarrollo de pupa a adulto.

Las larvas y el alimento fueron pesados en una balanza de precisión (Vansolix, AB-265S) a 0,001 gr, al inicio del experimento, posteriormente cada siete días y hasta 34 días, momento en el cual se finalizó la toma de datos. Se realizaron dos réplicas del experimento. Asimismo, cualquier novedad con cualquier caja de petri fue registrada. Todas las larvas fueron revisadas seis días a la semana durante los 34 días. La experimentación se desarrolló en el laboratorio de ecología evolutiva y conservación de la Facultad de Estudios Ambientales y Rurales de la Pontificia Universidad Javeriana.

Con el fin de analizar si se presentó degradación de los plásticos, se recolectaron las heces de las larvas en los días de pesaje. Estas muestras fueron almacenadas en un congelador a - 80°C (Yang et al., 2018). Las muestras se analizaron mediante espectroscopia infrarroja (IR). Dicha prueba se obtiene al pasar radiación a través de una muestra, y se determina que fracción de esta radiación ha sido absorbida o transmitida, generando un espectro IR en donde la energía particular a la que aparece cada pico del espectro guarda relación con la frecuencia de vibración con una parte de la molécula (Serrano, n.d.). En otras

palabras, la IR determina los grupos funcionales de las heces o de que están compuestas las mismas.

### **Métodos de recolección de datos**

La presente investigación fue realizada según el método de experimentación. Esto quiere decir que las variables son manipuladas en situaciones que permiten la recolección de datos, reconociendo los efectos que propician los estímulos recibidos y creados para su apreciación (Torres, 2015). El método requiere la selección de grupos de individuos, que serán sometidos a diferentes tratamientos, y a su vez se controlan las variables para comprobar si las diferencias observadas son significativas (Torres, 2015). La unidad estadística de análisis fueron los tratamientos y los datos obtenidos de dicha unidad fueron cuantitativos.

### **Método de análisis de datos**

Con el fin de medir si existían diferencias significativas entre la tasa de consumo de plástico de las larvas por cada tratamiento se realizó un ANOVA anidado, en donde la variable de respuesta fue la masa del material consumido y el factor de anidamiento fue la réplica en el tratamiento. Dicho análisis se realizó para medir las diferencias en intervalos de siete días. Es decir, del día del montaje al día siete que se tomaron datos se considera el primer intervalo, del día 7 al 14, del 14 al 21 y finalmente del 21 al 28. Si no se cumplía alguna de las dos condiciones para realizar el ANOVA, homogeneidad de varianzas o la normalidad de los datos, se procedió a realizar un modelo lineal generalizado (GLM), igualmente con la réplica anidada en el tratamiento.

Se realizaron espectros infrarrojos (IR) de transmitancia de las heces de las larvas, este proceso de interacción de la radiación infrarroja con las heces genera una lectura ó espectro de la vibración en las heces, esto genera una lectura de los cambios en los estados vibracionales de las moléculas en las heces, lo que permite identificar las muestras desconocidas mediante la comparación de espectros de referencia (Serrano, n.d.). Este proceso se logra a través de un espectrofotómetro de un solo lector, el cual emite un rayo que pasa a través de la muestra, el rayo es desviado con un espejo rotatorio que lo divide en dos, lo que resulta en un paso alternativo por la celda que contiene la muestra y la celda de referencia, ambos rayos se mezclan y este llega al detector (Sosa & Sánchez, 2004)

Con el fin de medir la supervivencia y crecimiento de *G. mellonella* bajo consumo de plástico se realizaron ANOVAs anidados para evaluar las diferencias entre la masa corporal de las larvas por tratamiento. Si no se cumplían los supuestos de homogeneidad de varianzas o la normalidad de los datos se realizó un GLM. De igual manera, para evaluar si existían diferencias significativas en el tiempo que tarda la larva en llegar a su estado adulto (tiempo de desarrollo), se realizaron ANOVAs anidados. Con el fin de evaluar si existían diferencias significativas en el cambio de peso de los adultos ya emergidos por cada tratamiento se realizó un GLM anidado. Para evaluar como incide el tratamiento (alimentación) en la mortalidad de las larvas se realizó un GLM. Finalmente, los

análisis estadísticos se realizaron con el programa R (vers 3.4.1) (R core team, 2013).

## Resultados

### Efecto del consumo de plástico en la degradación por *G. mellonella*

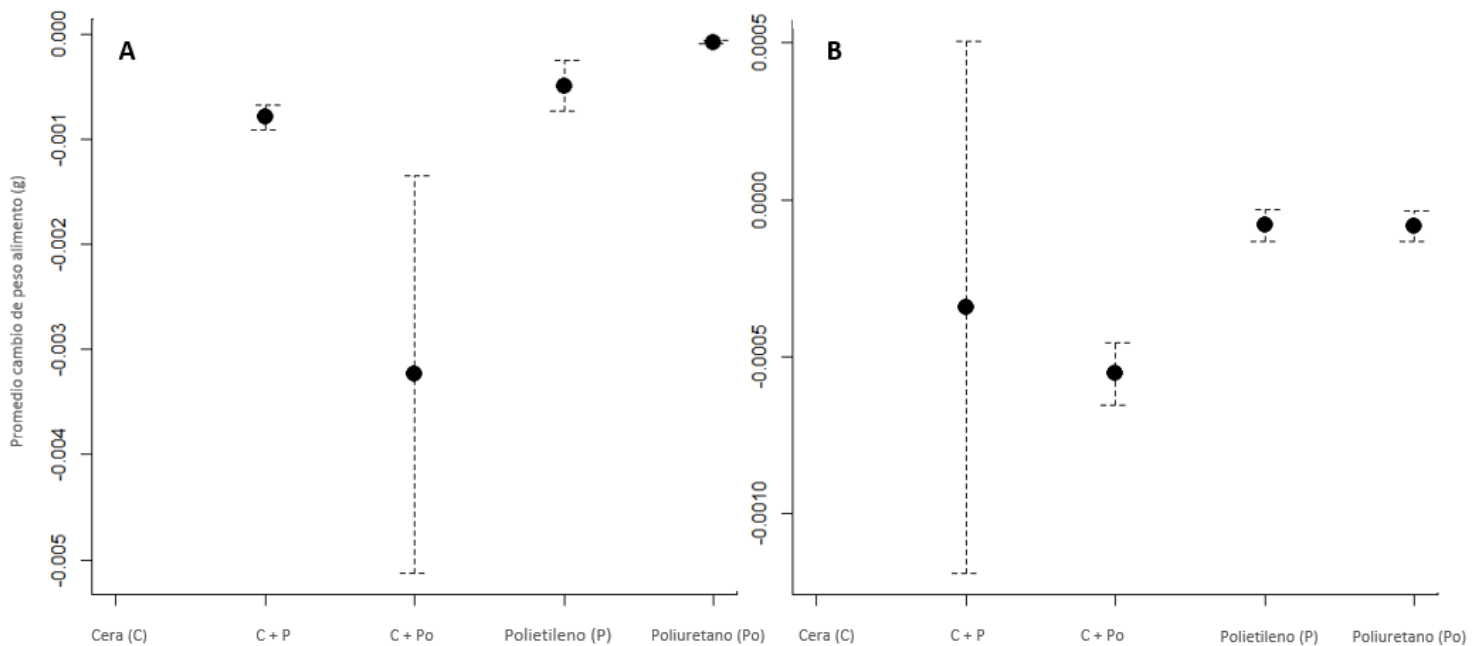
#### Cambio en el peso del material

Se encontraron diferencias significativas en el peso del material por tratamiento después de 7 días de exposición a las larvas de *G. mellonella* (**Tabla 1**) Así como para el tratamiento Cpo del rango de 7 a 14 (GLM, P= 0.00265 \*\*). Las diferencias consisten en que los tratamientos que contienen cera presentan un mayor consumo de dichos materiales plásticos. Por otro lado, los demás momentos en la toma de datos no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, si se puede observar una disminución en el peso de los componentes plásticos en la segunda mitad de la experimentación (**Fig 2**).

**Tabla 1.** ANOVA del cambio de peso del material plástico entre tratamientos por cada rango de día que se realizaron las pruebas estadísticas, la réplica esta anidada dentro del tratamiento.

| Rango días | DF | F     | P        |
|------------|----|-------|----------|
| 0-7        | 9  | 79.19 | 2e-16*** |
| 14-21      | 9  | 0.483 | 0.886    |
| 21-28      | 7  | 1.671 | 0.119    |
| 0-28       | 5  | 1.306 | 0.267    |

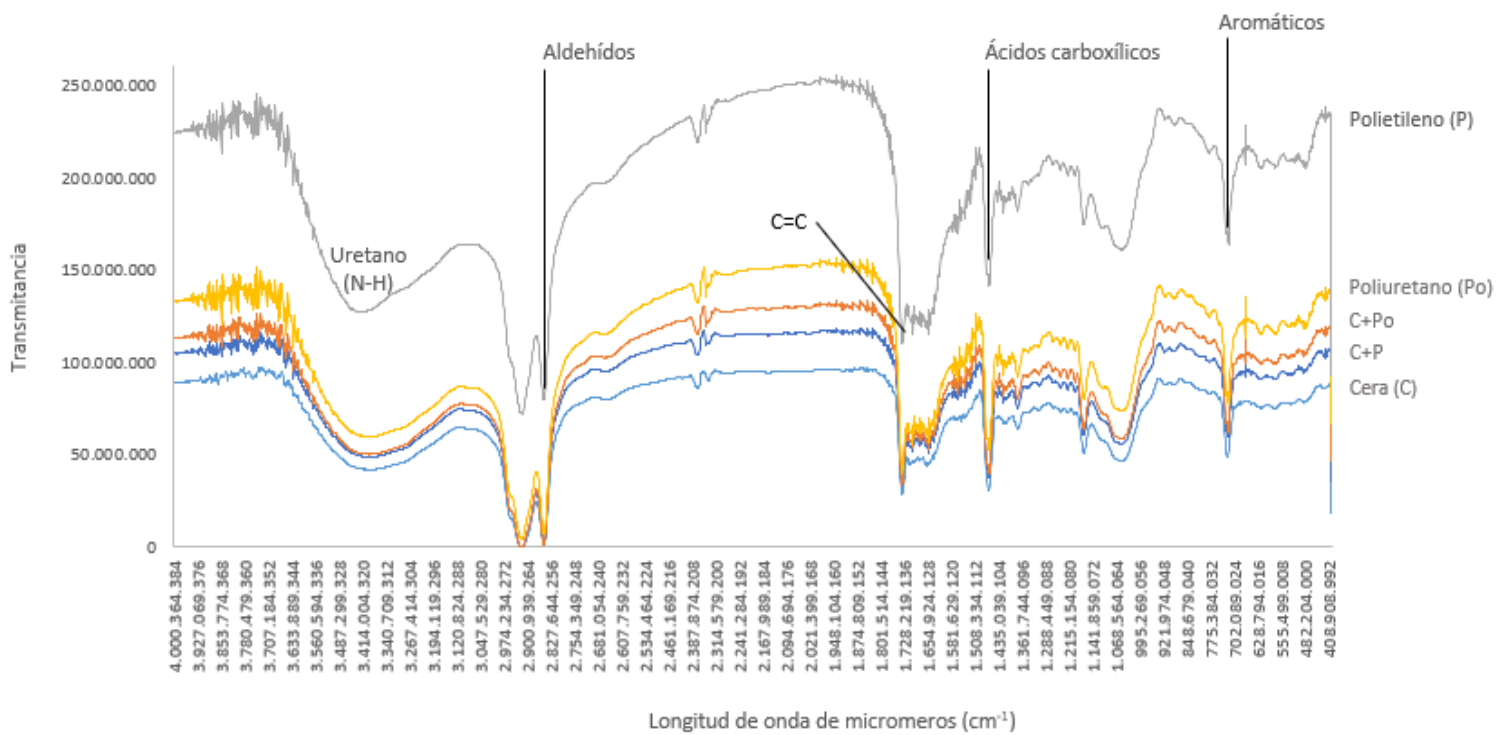
DF: grados de libertad



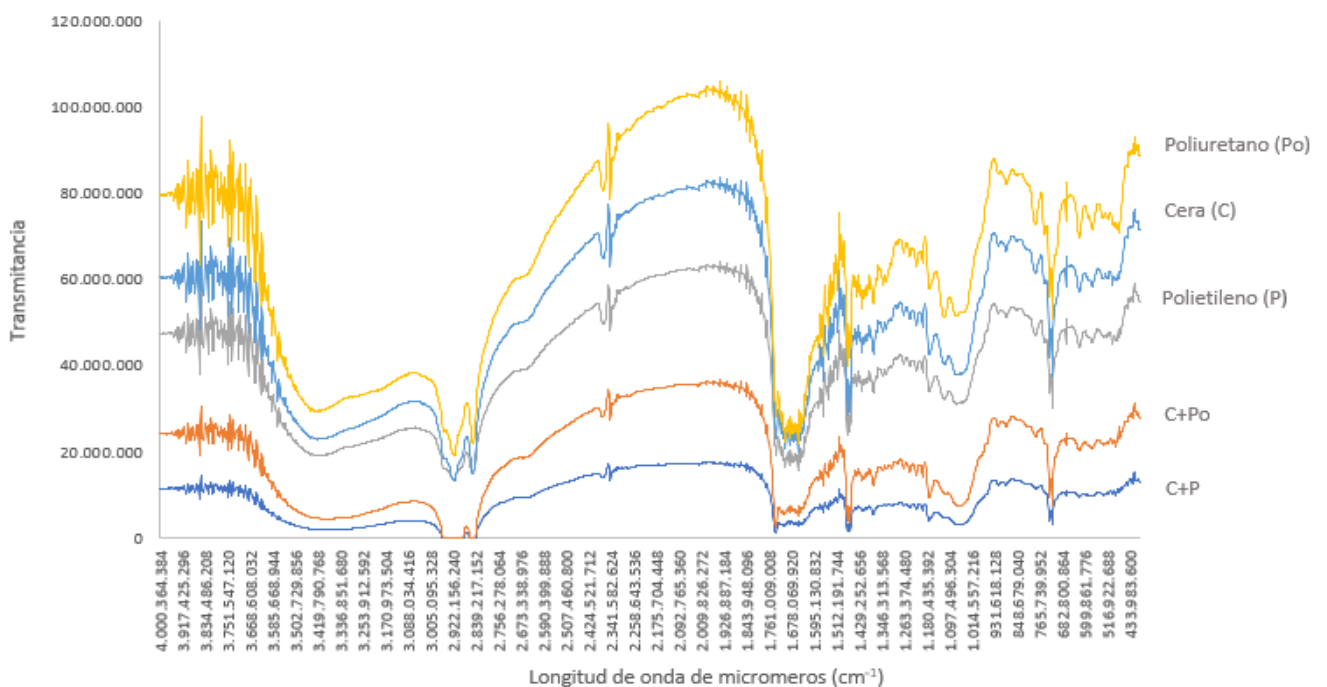
**Fig 2.** Gráficos de medias que mide el cambio en el peso de los materiales plástico bajo diferentes momentos temporales. **A.** del séptimo día al catorce **B.** del día catorce al veintiuno.

### Cambio en la composición de las heces

Los espectros infrarrojos del día siete y catorce varían entre sí (**Figura 3 y 4**). Estos representan la interacción de las moléculas que se encuentran en las heces, dichos movimientos generan patrones particulares con los cuales se pueden determinar los grupos funcionales de las heces. Estos son los siguientes: 1) Se encuentra un alcohol (O-H) polimérico en la posición  $3400 \sim 3200 \text{ cm}^{-1}$ , este pico también es característico del enlace uretano N-H, está pendiente disminuye bastante en la muestra de los 14 días. 2) se observan aldehídos en los picos 2900-2800. 3) Se encuentran ácidos carboxílicos en los picos 1725-1700 y 1420-1200.4) La pendiente 1700 es característica de enlaces doble de nitrógenos (N=N) y de carbonos(C=C). 5) Alcanos  $-(\text{CH}_2)_4 -\text{O}-$  en la posición  $742 \sim 734$ . Los Espectros infrarrojos de los plasticos utilizados en el experimento se encuentran en la (**Fig 5**).



**Fig 3.** Espectros Infrarrojos de las muestras de excremento de *Galleria mellonella* del día 7 de los diferentes tratamientos alimenticios.



**Fig 4.** Espectros Infrarrojos de las muestras de excremento de *Galleria mellonella* del día 14 de los diferentes tratamientos alimenticios.

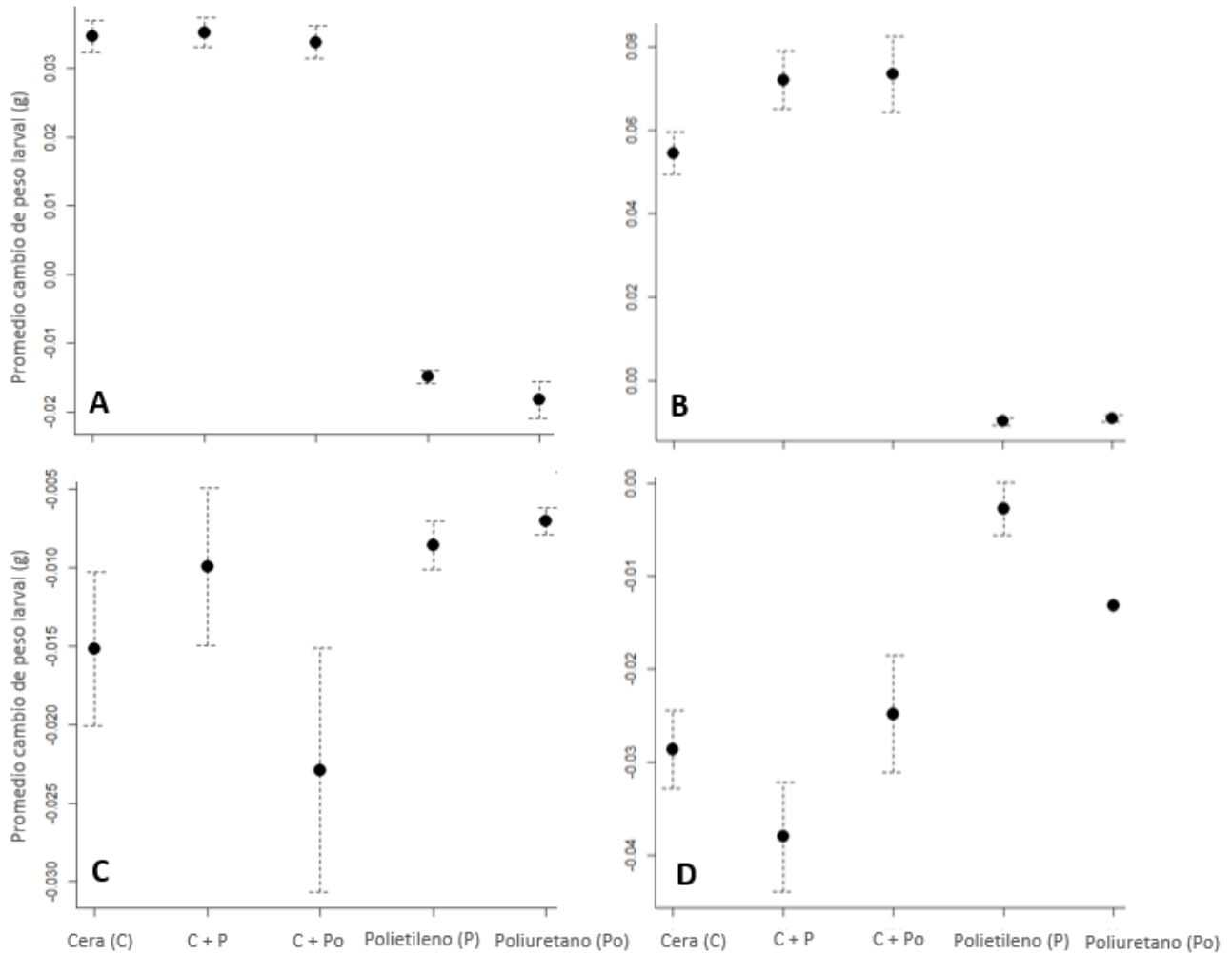
## Supervivencia y crecimiento de *G. mellonella* bajo consumo de plástico

### Crecimiento - Masa corporal

Se presentó un efecto significativo del cambio en el peso corporal de las larvas de *G. mellonella* para los rangos de días 0-7 y 7-14 (**Tabla 2**). Se puede evidenciar un incremento en la masa corporal de las larvas para los tratamientos que contienen cera, mientras que las larvas de los tratamientos P y Po disminuyeron significativamente su masa en el día 7 y 14 (**Fig 6**). Por otro lado, para los rangos de días 14-21 y 21-28 no hubo cambio significativo en el peso en los diferentes tratamientos. Sin embargo, para el rango de 0 a 28 si (ANOVA,  $P= 2e-16$  \*\*\*).

**Tabla 2.** GLMs del cambio de peso de las larvas entre tratamientos por los rangos de días 0-7 y 7-14, la réplica esta anidad dentro del tratamiento.

| Replica | Rango días | Tratamiento | Valor T | P         | Rango días | Valor T | P                 |
|---------|------------|-------------|---------|-----------|------------|---------|-------------------|
| Uno     | 0-7        | cp          | 13.476  | 2e-16 *** | 7-14       | 9.208   | 2e-16 ***         |
| Uno     | 0-7        | po          | NA      | NA        | 7-14       | NA      | NA                |
| Uno     | 0-7        | p           | 1.532   | 0.126     | 7-14       | -0.019  | 0.985             |
| Uno     | 0-7        | cpo         | 14.623  | 2e-16 *** | 7-14       | 9.519   | 2e-16 ***         |
| Uno     | 0-7        | c           | 14.066  | 2e-16 *** | 7-14       | 6.156   | 0.00000000153 *** |
| Dos     | 0-7        | cp          | 12.441  | 2e-16 *** | 7-14       | 4.750   | 0.00000266208 *** |
| Dos     | 0-7        | po          | 0.740   | 0.459     | 7-14       | -0.193  | 0.847             |
| Dos     | 0-7        | p           | 0.771   | 0.441     | 7-14       | -0.257  | 0.797             |
| Dos     | 0-7        | cpo         | 10.547  | 2e-16 *** | 7-14       | 4.341   | 0.00001716095 *** |
| Dos     | 0-7        | c           | 11.553  | 2e-16 *** | 7-14       | 4.717   | 0.00000310116 *** |

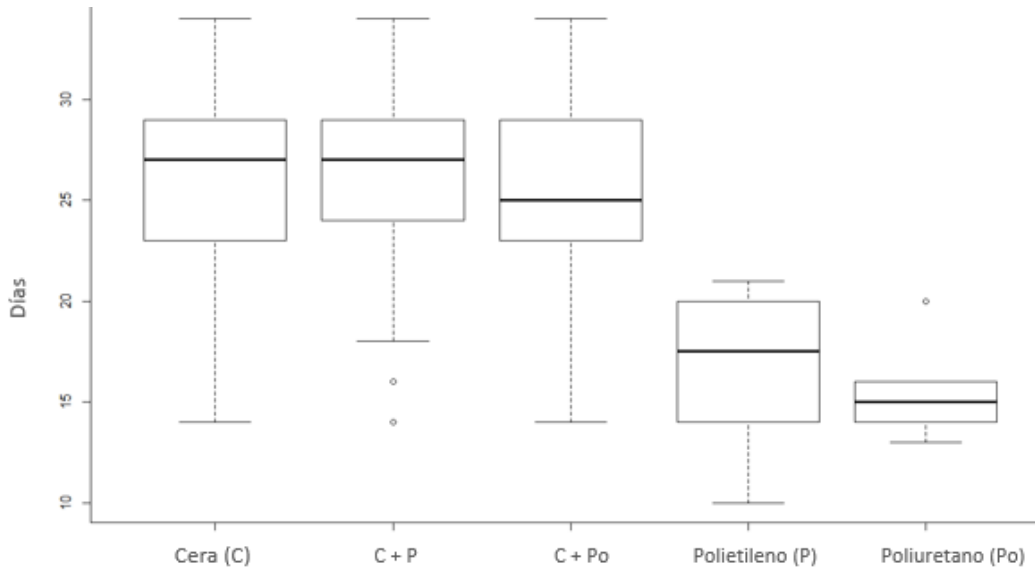


**Fig 6.** Gráficos de medias que mide el cambio en el peso corporal de las larvas en sus respectivos tratamientos y bajo diferentes momentos temporales: **A.** de 0 a 7 días, **B.** de 7 a 14 días **C.** de 14 a 21 días y **D.** 21 a 28 días.

### Tiempo de desarrollo de pupa-adulto y larva-adulto

Se encontraron diferencias significativas en el tiempo de desarrollo de las larvas por cada tratamiento (ANOVA,  $p=1.22e-14$  \*\*\*) de larva a adulto. Se aprecia una disminución considerable de los días que la larva se demora en llegar a su estadio adulto para los tratamientos P y Po (**Fig 7**). Así mismo, se encuentran diferencias significativas en el tiempo que se demora la pupa en llegar a su estadio adulto (ANOVA,  $p=0.0365$  \*).





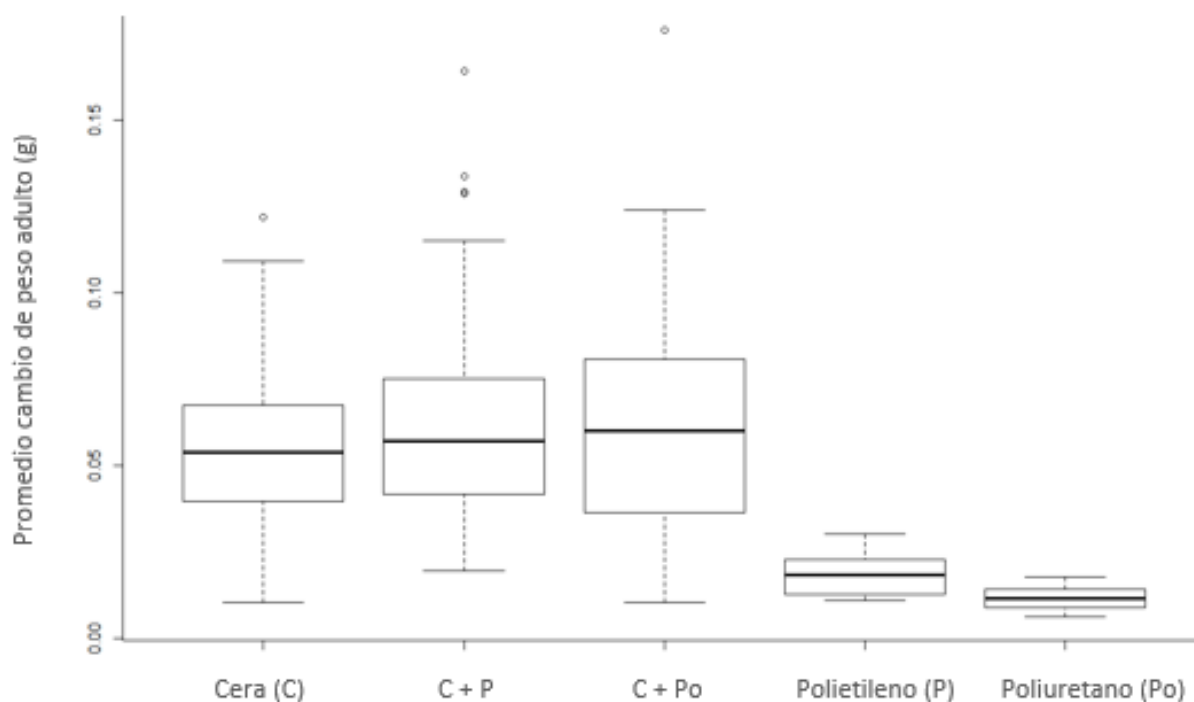
**Fig 7.** Tiempo de desarrollo de las larvas para los diferentes tratamientos.

### Peso adulto

Se encontraron diferencias significativas entre el peso de las larvas emergidas entre los tratamientos que contenían cera y alguna combinación de poliuretano y polietileno con los adultos de los tratamientos que contenían solo plástico (**Tabla 3**). Los adultos emergidos en los tratamientos que contenían cera resultaban tener un peso superior a los adultos emergidos de los tratamientos P y Po (**Fig 8**).

**Tabla 3.** GLM del cambio del peso final del adulto por tratamiento. Los datos se tomaron el día que las larvas emergían.

| Replica | Tratamiento | Valor T | P            |
|---------|-------------|---------|--------------|
| Uno     | Cp          | 5.961   | 8.18e-09 *** |
| Uno     | Po          | NA      | NA           |
| Uno     | P           | 0.457   | 0.648068     |
| Uno     | CPo         | 6.354   | 9.38e-10 *** |
| Uno     | C           | 5.190   | 4.25e-07 *** |
| Dos     | Cp          | 4.272   | 2.73e-05 *** |
| Dos     | Po          | NA      | NA           |
| Dos     | P           | 0.408   | 0.683282     |
| Dos     | CPo         | 3.239   | 0.001357 **  |
| Dos     | C           | 3.446   | 0.000665 *** |



**Fig 8.** Promedio del cambio de peso de los adultos en los diferentes tratamientos. El peso de los adultos se tomo el día que emergieron de la pupa.

### Mortalidad

Se presentó un efecto significativo de los tratamientos P y Po en la mortalidad de las larvas (**Tabla 4**).

**Tabla 4.** GLM de la influencia de la mortalidad de las larvas por tratamiento.

| Replica | Tratamiento | Valor T | P            |
|---------|-------------|---------|--------------|
| Uno     | Cp          | 1.285   | 0.199        |
| Uno     | Po          | -7.044  | 1.87e-12 *** |
| Uno     | P           | -6.474  | 9.52e-11 *** |
| Uno     | CPo         | 0.938   | 0.348        |
| Dos     | Cp          | 0.332   | 0.739962     |
| Dos     | Po          | -0.024  | 0.981120     |
| Dos     | P           | -6.345  | 2.22e-10 *** |
| Dos     | CPo         | -1.709  | 0.087360     |

## Discusión

Los plásticos sintéticos no son biodegradables, y si lo son tienen unas tasas de degradación muy lentas o minúsculas (Mukherjee & Chatterjee, 2014). Anualmente se acumulan 25 millones de toneladas de residuos plásticos en el medio ambiente (Bhatia, Girdhar, Tiwari, & Nayariseri, 2014). Es por ello que se debe abogar por encontrar una opción de manejo de residuos plásticos rápida, efectiva y ecológicamente viable. Para ello se debe crear un modelo donde el consumidor y fabricante tomen la responsabilidad y apropiación por el desecho plástico que se genera (Espinoza, 2009). A partir de i) Educación ambiental, ii) La eficiencia en la asignación de recursos, de los iii) Instrumentos legales y normativos, iv) Soluciones tecnológicas adecuadas, y v) la participación ciudadana se pueden crear estrategias óptimas para la gestión de residuos plásticos.

Haciendo énfasis en las soluciones tecnológicas adecuadas, la innovación y el desarrollo tecnológico son fundamentales para abordar la problemática de los plásticos. Es por ello que el estudio de biodegradación de estos polímeros por parte de *G. mellonella* cobra importancia en la búsqueda de alternativas viables para la eliminación de residuos plásticos. Este al ser uno de los pocos artículos que analiza la viabilidad de un insecto en degradar plástico y por sobre todo al conocerse muy pocos organismos con dichas características, la comparación entre especies distintas se hace pertinente.

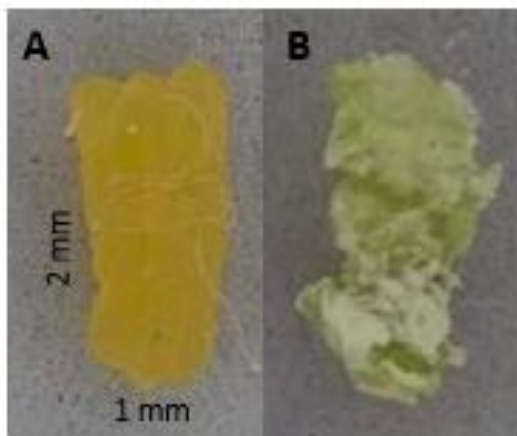
### Cambio peso plástico

Se hallaron diferencias significativas en el cambio del peso neto de los materiales plásticos para el rango de 0-7, así como para el tratamiento Cpo del rango de 7 a 14 (GLM,  $P= 0.00265^{**}$ ). Sin embargo, pese a este resultado estadístico se aprecia una disminución evidente en los tratamientos que contienen cera y alguna combinación de plástico (**Fig 2**). Este resultado es similar al encontrado por Yang y colaboradores (2018), pues larvas de *Tenebrio molitor* pudieron degradar mayores cantidades de poliestireno cuando se les proporcionó una dieta con proteína y plástico, es decir, con un mayor suplemento nutricional.

Bombelli y colaboradores confirmaron que "*G. mellonella* generó una pérdida de 13 % de polietileno dentro de 14 horas de tratamiento, que corresponde a una tasa de degradación promedio de  $0.23 \text{ mg cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ " (Bombelli, Howe, & Bertocchini, 2017). Pese a que los resultados de degradación estén en unidades diferentes (tasa de corrosión,  $\text{mg cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ) estos resultados son distintos a los encontrados en la presente investigación. Las 480 larvas que se encontraban con tratamientos con polietileno y poliuretano pudieron degradar en promedio 0.173 mg. Lo anterior podría ocurrir debido a que el artículo de Bombelli no especifica la densidad del plástico utilizado, si este es menos denso la degradación sería más rápida, pues así se demostró en larvas de *T. molitor* (Yang et al., 2018). Además,

estos autores no dan a conocer el estadio en el que se encuentran las larvas, tampoco se conoce a que temperatura y humedad realizaron los experimentos. Finalmente, no se especificaron lo que pasa con las larvas después de consumir plástico, ni qué pasa con las heces, o el adulto emergido.

El crustáceo marino *Idotea emarginata* que se alimentó con microplásticos, presentó heces con la misma concentración de microplásticos que el alimento, lo que indica que no hubo acumulación de microplásticos durante el paso intestinal o una degradación efectiva del material, asimismo, la experimentación a largo plazo no mostró efectos distintos del consumo de microplástico continuo sobre la mortalidad o el crecimiento (Hamer, Gutow, Saborowski, & Köhler, 2014) Sin embargo, la presente investigación no determino la acumulación de microplásticos en los individuos de *G. mellonella*, pero si demostró que la presencia de microplásticos en las heces, los efectos de los plásticos en la mortalidad, crecimiento y peso final del individuo, estos resultados se discutirán más adelante. Finalmente, se encontraron microplásticos (partículas plásticas menores a 5mm) y porciones grandes de plástico en las heces de las larvas (**Fig 9**).

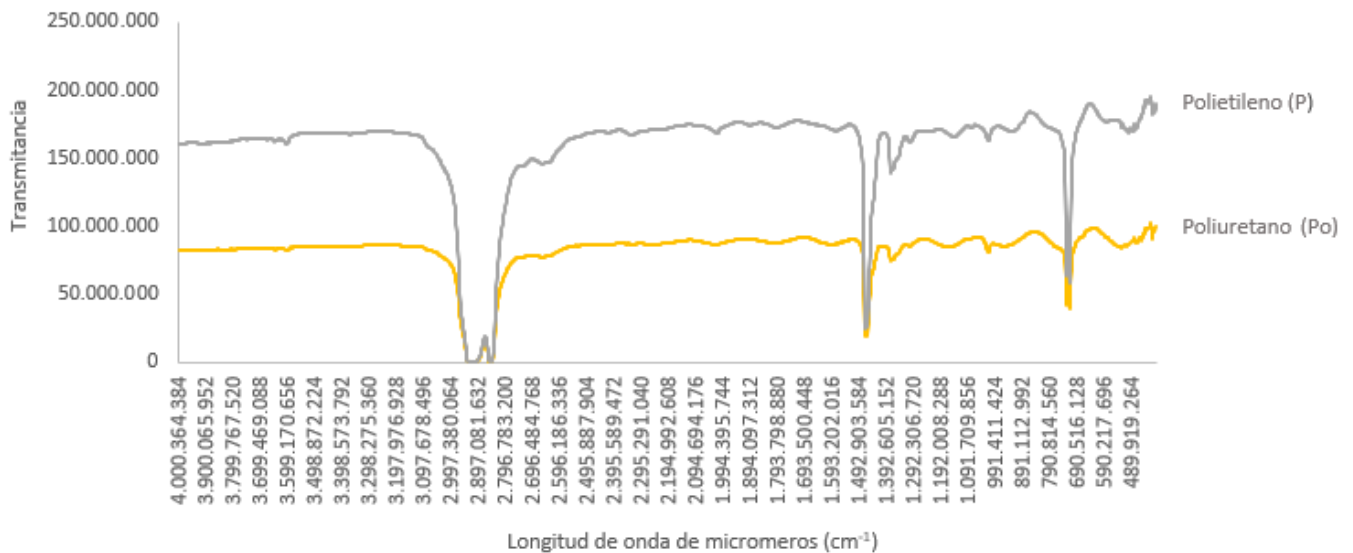


**Fig 9.** **A.** Hace parte del tratamiento control Cera, **B** Hace parte del tratamiento polietileno, se evidencia un cambio en la coloración de las heces a verde fosforescente, se presentan Irregularidades en la composición de las heces y presencia de microplásticos. Las medidas de **A** y **B** son las mismas.

### **Espectroscopia infrarroja (IR)**

Los espectros infrarrojos de las heces del día 7 y 14 presentan diferencias entre si, como se puede observar en las (**Fig 3 y 4**). Lo primero que se aprecia es la disminución de los picos característicos de los plásticos (**Fig 5**), que se ubican en la longitud de onda  $2,921$  y  $2,852\text{ cm}^{-1}$ , así como, del pico que se encuentra en el  $1462\text{ cm}^{-1}$ . En el día 14 los tratamientos cpo y cp mostraron una disminución en otro de los picos característicos de los plásticos en  $736\text{ cm}^{-1}$ . Además, se aprecia un ensanchamiento del espectro en la longitud de onda  $3400\text{ cm}^{-1}$ . Stefan Oprea en el

2010 demostró que el hongo *Chaetomium globosum* al consumir poliuretano generó un ensanchamiento en el pico de N-H en el espectro infrarrojo, este se desplaza desde  $3500\text{ cm}^{-1}$  a  $3300\text{ cm}^{-1}$  y aumenta en amplitud e intensidad con el aumento en el tiempo de biodegradación. Resultado semejante al encontrado en la presente investigación, puesto que el ensanchamiento del espectro ocurre a medida que pasa el tiempo en la experimentación (Fig 3 y 4).



**Fig 5.** Espectros infrarrojos de los materiales plásticos usados en el experimento.

Estudios de IR de absorbancia en tratamientos de poliestireno con larvas de *T. molitor* demostraron cambios en los espectros y la incorporación de oxígeno previamente asociado a la degradación del plástico por medio de irradiación, biotransformación y envejecimiento (Yang et al., 2018). Pese a que el artículo midió absorbancia y el presente estudio transmitancia, se encontraron resultados similares. Por un lado, se evidenciaron disminuciones en los picos característicos de los plásticos. En ambos casos se amplió el ancho de los rangos  $2500\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$  en todos los espectros con heces, lo anterior está asociado con el enlace de hidrógeno de los grupos hidroxilo y / o grupos ácido carboxílico, lo que sugiere un cambio de propiedades de superficie hidrófobas a más hidrófilas (Yang et al., 2018).

Es decir, que las propiedades superficiales del plástico son más afines a las moléculas del agua, y por lo tanto más susceptibles a la biodegradación (Park, Kim, Yoo, & Im, 2003). Todo lo anterior demuestra que *G. mellonella* al alimentarse de polietileno y poliuretano genera un cambio en la configuración de dichos materiales. Lo cual es considerado como las etapas iniciales en el proceso de degradación, pues aumentaría la capacidad de formar biofilm y por más la acción de las bacterias, estas se fijan mejor a la superficie y la modifican mientras captan nutrientes (Piera, 2003).

## Cambio de peso de las larvas

Lo que se puede observar en la (**Fig 6**) es que las larvas que se encuentran en tratamientos con polietileno y poliuretano en ausencia de cera tienen efectos negativos en su crecimiento corporal. Lo que podría sugerir que los materiales plásticos no brindan una buena nutrición para el desarrollo óptimo de *G. mellonella*. Durante el período que duro el experimento con gusanos de la harina *T. molitor* alimentados solo con poliestireno mantuvieron un peso estable, y los gusanos de la harina alimentados con salvado y poliestireno experimentaron un aumento de peso de  $32.0 \pm 1.5\%$  (Yang et al., 2018). Resultado que difiere de lo encontrado, pues las larvas alimentadas solo con materiales plásticos disminuyeron su peso corporal, sin embargo, las larvas que contenían plástico y algún suplemento nutricional si aumentaron su peso corporal (**Fig 6 A y B**).

Como se mencionó anteriormente las larvas no obtienen una buena nutrición al consumir plástico. Una de las posibilidades del porque se observa el plástico roído por las larvas de *G. mellonella*, es debido a que sus dientes apicales podrían conferir una ventaja adaptativa, pues utilizan sus mandíbulas para hacerse caminos y lo que le proporciona la característica de ser una especie con naturaleza destructiva (Kwadha et al., 2017). No obstante, un artículo demuestra que las larvas de *G. mellonella* son capaces de convertir diversos alimentos en su biomasa con una eficacia notablemente similar y por lo tanto, las variaciones en la tasa de crecimiento larvario en tales alimentos son directamente proporcionales a las diferencias en su consumo (Jindra, 1989). Aunque, las dietas que se utilizaron en el experimento eran diferentes mezclas de proteína, nitrógeno y agua, no se evaluaron polímeros de alta resistencia a modo de alimentación.

Los primeros catorce días se apreciaron diferencias significativas en la masa corporal de las larvas. Esto puede deberse a que las larvas al encontrarse en las primeras etapas de la experimentación se están alimentando en mayores cantidades para completar sus necesidades para llegar al estadio de pupa. Asimismo, una vez pasado dichos 14 días la mayoría de las larvas ya están pupando, han llegado al peso que consideran necesario para empezar el proceso de metamorfosis y por lo tanto su peso corporal no varía lo suficiente en los últimos 20 días del experimento para que estas diferencias sean significativas. Mohamed y colaboradores determinaron que en cinco diferentes tratamientos alimenticios, el desarrollo de las larvas de *G. mellonella* en etapas progresivas del ciclo de vida se redujeron, pero no se inhibieron (Anwar Mohamed et al., 2014) lo cual puede explicar porque el cambio en el peso corporal de las larvas no es significativo en las últimas etapas del experimento.

## Tiempo de Desarrollo

Se encontraron diferencias significativas en el tiempo que se demoraron las larvas en pasar de su estado de pupa al estado adulto en todos los tratamientos (ANOVA,  $p=1.22e-14^{***}$ ). Esto se puede deber a que como se mencionó anteriormente la mayoría de las larvas en dichos tratamientos no alcanzaron a suplir sus necesidades nutricionales y por lo tanto el tiempo que se demoraron en desarrollarse varió significativamente entre tratamientos. Las pocas larvas de los tratamientos P y Po que llegaron a su estadio adulto lo hicieron con un peso corporal bajo en comparación con las larvas de otros tratamientos (**Fig 8**). Estudios con *G. mellonella* demostraron que existe una gran variación en la duración del periodo larvario, incluso cuando las condiciones del alimento y del clima eran aparentemente iguales (Paddock, 1918). Lo cual podría explicar el porqué de lo encontrado en la presente investigación.

No obstante, la nutrición juega un rol importante en el desarrollo y mortalidad de *G. mellonella*. Un estudio con la misma especie determina que una dieta deficiente en la etapa larvaria obligaría a las larvas a asignar recursos a la función inmunológica en lugar de al crecimiento (Krams et al., 2015). Lo cual podría sugerir el porqué de los resultados obtenidos, además, de otorgarle más fuerza a la hipótesis de que las larvas no pueden utilizar el plástico como fuente de alimentación para su crecimiento efectivo. De manera análoga, los gusanos marinos que se mantienen y alimentan en sedimentos enriquecidos con microplásticos en concentraciones que se superponen a las del medio ambiente han reducido significativamente sus reservas energéticas hasta en un 50% (Wright, Rowe, Thompson, & Galloway, 2013). En el mismo sentido, pueden explicarse las diferencias significativas encontradas en la duración del estado de pupa en donde se encontró que las larvas en los tratamientos P y Po en carencia de los nutrientes necesarios estarían acelerando sus procesos de metamorfosis con el fin de sobrevivir a los escasos de recursos.

Para el tratamiento C, Cp, P y Cpo el promedio que se demoró la pupa pasar a su estadio adulto fue de 11 días, mientras que para el tratamiento Po fue de 8 días. Pese a que los promedios sean similares para la mayoría de los tratamientos la diferencia radica en el número de adultos emergidos, ya que para los tratamientos P y Po el total de adultos emergidos fue de doce, comparada con los 251 adultos emergidos en los otros 3 tratamientos. Realpe-Aranda y colaboradores en el 2007 realizaron un estudio con *G. mellonella* que determinó las diferencias significativas en el tiempo que se demoró la larva en su estadio de pupa, la duración promedio fue de 17,2; 14,2 y 8,9 días para los tratamientos 20, 25 y 30°C.

## Peso adulto

Se encontraron diferencias significativas entre el peso de las larvas emergidas entre los tratamientos (**Tabla 3**) este puede ocurrir debido a que en los tratamientos P y Po no existe los nutrientes ideales para el crecimiento normal de las larvas, resultado que refuerza la hipótesis de que las larvas no pueden utilizar el plástico como alimentación efectiva. Por ejemplo, Paddock (1918) demostró que, sin importar el sexo, los primeros y últimos individuos emergentes de *G. mellonella* son más pequeños en tamaño que el promedio, además afirma que la cantidad de comida tiene mucho que ver con el tamaño de los adultos.

El promedio del peso de los adultos para todos los tratamientos es de 57.69 mg, Para el tratamiento control fue de 55.28 mg, para el tratamiento Cp fue 62.53 mg, el tratamiento Cpo obtuvo 61.22 mg, mientras que los tratamientos P y Po obtuvieron un promedio de 18.76 mg y 11.57 mg respectivamente. Todos los tratamientos presentaron un peso bastante bajo en comparación a lo encontrado en otros artículos. En efecto, existe dimorfismo sexual y los machos suelen ser considerablemente más pequeños que las hembras, pues éstas pesan en promedio pesan 169 mg, (Ellis et al., 2013). Este resultado se puede deber a que los individuos utilizados en el experimento no se les conocía el sexo. Además, el tamaño de *G. mellonella* puede variar dependiendo la calidad de la alimentación que se les proporciona, así como de factores extrínsecos (Gulati & Kaushik, 2004).

## Mortalidad

Se encontraron diferencias significativas en la mortalidad de las larvas en los tratamientos P y Po. Esto se puede deber a que el plástico no proporciona los elementos nutricionales necesarios para que la larva se desarrolle correctamente durante su ciclo de vida, pues también se encontraron diferencias significativas de estos tratamientos en el peso de las larvas en los rangos de 0 a 7 y 7 a 14 (**Fig 6**). La gran mayoría de las larvas que se encontraban en los tratamientos con solo plástico no sobrevivían más de 15 días. Por cada tratamiento de P y Po aproximadamente ~3 larvas llegaban a su estadio adulto. Sin embargo, estas llegaban a tener pesos muy bajos, estos individuos llegaron a ser los de menor peso en todos los tratamientos. Mientras que en los demás tratamientos aproximadamente 50 larvas llegaban a su estado adulto con pesos normales.

En un estudio realizado con 5 diferentes tipos de dieta en *G. Mellonella* se encontró que la dieta más pobre en nutrientes induce a una duración prolongada de la etapa inmadura, acorta la longevidad de la polilla adulta, disminuye la productividad del huevo, retrasa la oviposición, prolonga la duración del ciclo de vida completo y causa una mortalidad general significativamente mayor (Anwar Mohamed et al., 2014). Krams y colaboradores demostraron que una mala nutrición resultó en una disminución del tamaño corporal de *G. mellonella* en la pupación, tuvo un desarrollo larvario prolongado y alta mortalidad. Los resultados anteriores coinciden con lo encontrado en la presente investigación, pues lo único en lo que difiere es que las larvas no tenían un desarrollo larvario prolongado. Sin embargo,



un estudio realizado con el mosquito del género *Culex* se encontró lo contrario, pues los microplásticos en este estudio no tiene un efecto en el crecimiento o mortalidad de los individuos. Los microplásticos son ingeridos por las larvas del mosquito, estos se transfieren en las diferentes etapas durante la metamorfosis, pero no tienen impacto en el crecimiento o la mortalidad del individuo (Al-Jaibachi, Cuthbert, & Callaghan, 2019).

Con el fin de determinar si las siguientes generaciones de *G. mellonella* podían degradar más plástico se intentó realizar una optimización de la cría de esta especie a través de la selección artificial de los individuos que consumieran más plástico, se optó por no mezclar los individuos de los diferentes tratamientos. Se dispuso de aproximadamente 10 individuos adultos por cámara de reproducción, se realizaron 10 réplicas de este procedimiento. A pesar de que los individuos adultos depositaban huevos (lotes con peso promedio de 0,04685 mg) estos nunca llegaron a eclosionar.

## Conclusiones

*Galleria mellonella* es una especie que podría tener un gran potencial biodegradador de polímeros tales como el polietileno. Con lo demostrado en este estudio se demuestra que existe una biotransformación del polietileno y el poliuretano, lo que podría indicar los pasos iniciales de la degradación de dichos materiales. En términos de identificar el efecto del consumo de plástico en la degradación por *G. mellonella* se encontraron diferencias significativas en el peso del material por tratamiento después de 7 días de exposición a las larvas de *G. mellonella*. Así como para el tratamiento Cpo del rango de 7 a 14. Pese a que los demás días del experimento no se presentaron diferencias significativas si ocurrió una disminución en el peso de los materiales plásticos.

Por otro lado, los espectros infrarrojos del día 7 y 14 presentaron diferencias entre sí. Ocurrió una disminución de los picos característicos de los materiales plásticos. Así como un cambio en las propiedades superficiales del plástico, estos son más afines a las moléculas del agua, y por lo tanto más susceptibles a la biodegradación. Por lo tanto, los resultados combinados generan indicios de una degradación o los pasos iniciales para que se efectúe dicha degradación.

Con respecto a la supervivencia y crecimiento de *G. mellonella* bajo consumo de plástico se determinó que una dieta rica en nutrientes aumenta tanto el crecimiento de la larva como el consumo del plástico. Asimismo, realizar el experimento a 27 °C y 70% de humedad relativa fue propicio para el desarrollo óptimo de la especie durante el experimento. Se encontraron diferencias significativas en el cambio el peso de *G. mellonella* bajo los diferentes tipos de dieta en las primeras etapas del experimento, las demás no presentaron diferencias significativas debido a que la mayoría de las larvas se encontraban pupando, en el proceso de pupar o muertas (tratamiento P y Po). Así como en el periodo de desarrollo de las larvas por tratamiento. Las diferencias significativas se mantuvieron para el tiempo que se demoró la pupa en pasar a su estadio adulto. Por otro lado, se encontraron diferencias significativas en la mortalidad de las larvas

en los tratamientos P y Po. Todo lo anterior se debe a que el plástico no proporciona los elementos nutricionales necesarios para que la larva se desarrolle correctamente durante su ciclo de vida.

### **Recomendaciones**

Se deben realizar aproximaciones interdisciplinarias para lograr un adecuado plan de manejo de los desechos plásticos, pues se debe encontrar alternativas viables y seguras para la eliminación de dichos desechos. Asimismo, se debe abogar por entender el problema de manera más completa e integral, lo anterior con el fin de convergir diferentes procesos, experticias y puntos de vista que ayuden a solucionar la problemática del plástico a nivel mundial. Finalmente, una concientización de la población humana es esencial para lograr un efectivo manejo de los residuos plástico, se debe eliminar el uso de plásticos de un solo uso de todas nuestras sociedades de manera radical.

Con respecto a la especie *G. mellonella* se deben continuar los experimentos con la especie con el fin de incrementar la capacidad de degradación del plástico. Por ejemplo, lo anterior se puede lograr sometiendo los plásticos a tratamientos previos para debilitar la composición química del polímero y potenciar dicha habilidad. Una de las hipótesis que se maneja del porque *G. mellonella* puede degradar plástico es que la microfauna que se encuentra en el aparato digestivo de la especie es la encargada de realizar dichos procesos. Con el fin de determinar si esto es cierto lo que se debe hacer es una extracción de la mencionada microfauna y realizar la experimentación pertinente. Con lo anteriormente mencionado y realizando procesos de degradación se podrían desarrollar estrategias biotecnológicas que contribuyan a solucionar la problemática mundial del uso de plásticos.

### **Agradecimientos**

Agradezco a mi familia por todo el apoyo y amor brindado.

A la profesora Ángela Amarillo por el apoyo, guianza y enseñanzas durante este proceso y por mi formación como ecólogo.

A el profesor Jorge Robles por su ayuda en la producción y análisis de los espectros infrarrojos.

A Santiago Sarmiento y Gabriel Rico por cuidar la colonia mientras no me encontraba en la ciudad.

Al semillero GeeA: Entomoceno por el acompañamiento a lo largo de mis últimos cinco semestres.

## Bibliografía

- Al-Jaibachi, R., Cuthbert, R. N., & Callaghan, A. (2019). Examining effects of ontogenic microplastic transference on *Culex* mosquito mortality and adult weight. *Science of the Total Environment*, 651, 871–876. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.236>
- Albertsson, A. -C, & Karlsson, S. (1988). The three stages in degradation of polymers—polyethylene as a model substance. *Journal of Applied Polymer Science*, 35(5), 1289–1302. <https://doi.org/10.1002/app.1988.070350515>
- Allen-wardell, G., Bernhardt, P., Bitner, R., Burquez, A., Buchmann, S., Cane, J., & Cox, P. A. (1998). The Potential Consequences of Pollinator Declines on the Conservation of Biodiversity and Stability of Food Crop Yields. *Conservation Biology*, 12(1), 8–17.
- Anwar Mohamed, A., Ansari, M. J., Al-Ghamdi, A., Mohamed, M. O., & Kaur, M. T. (2014). Effect of larval nutrition on the development and mortality of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Revista Colombiana de Entomologia*, 40(1), 49–54.
- APME (2006) *An analysis of plastics production, demand and recovery in Europe*. Brussels, Belgium: Association of Plastics Manufacturers.
- Aryan, Y., Yadav, P., & Samadder, S. R. (2018). Life Cycle Assessment of the Existing and Proposed Plastic Waste Management Options 2 in India: A Case Study. *Journal of Cleaner Production*. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.236>.
- Barnes, D. K. A., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Berry, M. A., & Rondinelli, D. A. (1998). Proactive corporate environmental management: A new industrial revolution. *Academy of Management Perspectives*, 12(2), 38–50. <https://doi.org/10.5465/AME.1998.650515>
- Bhatia, M., Girdhar, A., Tiwari, A., & Nayariseri, A. (2014). Implications of a novel *Pseudomonas* species on low density polyethylene biodegradation : an in vitro to in silico approach. *Springer Plus*, 3(497), 1–10.
- Birley A.W., Heath R.J., Scott M.J. (1988). Polyurethane plastics. In: Plastic Materials. Springer, Dordrecht
- Bombelli, P., Howe, C. J., & Bertocchini, F. (2017). Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Current Biology*, 27(8), R292–R293. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.060>
- Bourguignon, D. (2017). Plastics in a circular economy Opportunities and challenges. *European Parliamentary Research Service*, (May), 1–8.
- Chandel, Y.S., Sharma S., Verma, K. S. (2003). Comparative biology of the greater wax moth, *Galleria mellonella* L., and lesser wax moth, *Achoria grisella*. *Forest Pest Management and economic zoology*, 11, 69–74.
- Crabbe, J. R., Campbell, J. R., Thompson, L., Walz, S. L., & Schultz, W. W. (1994). Biodegradation of a colloidal ester-based polyurethane by soil fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 33(2), 103–113. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(94\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0964-8305(94)90030-2)
- Cregut, M., Bedas, M., Durand, M., & Thouand, G. (2013). New insights into polyurethane biodegradation and realistic prospects for the development of a sustainable waste recycling process. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1634–1647. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.08.011>
- Das-gupta, D. K. (1994). Polyethylene: Structure, Morphology, Molecular Motion and Dielectric Behavior. *Electrical Insulation Magazine*, 10, 5–15.
- Dordinejad, A. K., Sharif, F., Ebrahimi, M., & Rashedi, R. (2018). Time-sweep rheometry for evaluating polyethylene degradation behavior: Effect of formulation and process conditions. *Polymer Testing*, 70(April), 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.06.015>
- Ellis, J. D., Graham, J. R., & Mortensen, A. (2013). Standard methods for wax moth

- research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1–17.  
<https://doi.org/10.3896/ibra.1.52.1.10>
- El-sawaf, S.K. (1950). the life history of the greater wax moth (*Galleria mellonella*) in Egypt with special reference to the morphology of the mature larva (Lepidoptera: Pyralidae). *Bull. Soc. Fouad. Ier. Ent.* 34, 247-297
- Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., ... Ryan, P. G. (2014). Plastic Pollution in the World ' s Oceans : More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250 , 000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE*, 1–15.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- Eskander, S., & Saleh, H. E. M. (2017). Biodegradation : Process Mechanism. *Biodegradation and Bioremediation*, 8(January), 1–31.
- Espinoza, E. . (2009). Modelo de gestion de residuos plasticos. *Red de Ingeniería En Saneamiento Ambiental*, 1(1), 1–42.
- Földes, E., & Turcsanyi, B. (1991). Transport of Small Molecules in Polyolefins. Diffusion of Irganox 1010 in Polyethylene ENiKO. *Transport of Small Molecules in Polyolefins*. 1., 507–515.
- Gall, S. C., & Thompson, R. C. (2015). The impact of debris on marine life. *Marine pollution bulletin*, 92(1-2), 170-179.
- Gomez, C. J. R., Martínez, L. M. A., Pérez, M. Y., & Guillermo, A. C. L. (2016). Production and Characterization of Polyhydroxyalkanoates and Native Microorganisms Synthesized from Fatty Waste. *International Journal of Polymer Science*, 2016.  
<https://doi.org/10.1155/2016/6541718>
- Gulati, R., & Kaushik, H. D. (2004). Enemies of honeybees and their management - A review, 25(3), 189–200.
- Hamer, J., Gutow, L., Saborowski, R., & Köhler, A. (2014). Fate of Microplastics in the Marine Isopod *Idotea emarginata*. *Environmental Science and Technology*.
- Jackman, J. A., Drees, B. M. (1998). A field guide to Texas in- sects, *Gulf Publishing Company*, Houston, Texas.
- Jakubowicz, I. (2003). Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE). *Polymer Degradation and Stability*, 80(1), 39–43. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(02\)00380-4](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(02)00380-4)
- Jindra, M. (1989). Larval Growth, Food Consumption, and Utilization of Dietary Protein and Energy in *Galleria mellonella*. *J. Insect. Physiol*, 35(9), 719–724.
- Khabbaz, F., & Albertsson, A. C. (2001). Rapid test methods for analyzing degradable polyolefins with a pro-oxidant system. *Journal of Applied Polymer Science*, 79(12), 2309–2316. [https://doi.org/10.1002/1097-4628\(20010321\)79:12<2309::AID-APP1038>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1097-4628(20010321)79:12<2309::AID-APP1038>3.0.CO;2-E)
- Krams, I., Kecko, S., Kangassalo, K., Moore, F. R., Jankevics, E., Inashkina, I., ... Rantala, M. J. (2015). Effects of food quality on trade-offs among growth, immunity and survival in the greater wax moth *Galleria mellonella*. *Insect Science*, 22(3), 431–439. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12132>
- Kwadha, C. A., Ong'Amo, G. O., Ndegwa, P. N., Raina, S. K., & Fombong, A. T. (2017). The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Insects*, 8(2), 1–18. <https://doi.org/10.3390/insects8020061>
- Lindberg, T., Albertsson, A.-C., Barenstedt, C., Karlsson, S., & Lindberg, T. (1995). Degradation morphology differentiate degradable product pattern and changes as means to abiotically and biotically polyethylene. *Science*, 36(16), 3075–3083.
- Lwanga, E., Thapa, B., Yang, X., Gertsen, H., Salánki, T., Geissen, V., & Garbeva, P. (2018). Decay of low-density polyethylene by bacteria extracted from earthworm's guts: A potential for soil restoration. *Science of the Total Environment*, 624, 753–757. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.144>
- Mukherjee, S., & Chatterjee, S. (2014). A comparative study of commercially available plastic carry bag biodegradation by microorganisms isolated from hydrocarbon effluent enriched soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(5), 318–325.

- Nazmov, V. P., Korobeynikov, M. V., & Bryazgin, A. A. (2016). Structure investigations of radiation-modified polymers Polyethylene and Polymethylmethacrylate. *Physics Procedia*, 84, 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.phpro.2016.11.061>
- Neumann, P., & Carreck, N. (2010). Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research*, 49, 0–6. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.01>
- Nielsen, R. A., & Brister, C. D. (1979). Greater Wax Moth : Behavior of Larvae. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 72, 811–815.
- Oprea, S. (2010). Dependence of fungal biodegradation of PEG/castor oil-based polyurethane elastomers on the hard-segment structure. *Polymer Degradation and Stability*, 95(12), 2396–2404. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.08.013>
- Paddok, F. B. (1918). The Beemoth or Waxworm. *Texas Agricultural Experiment Station*.
- Piera, G. (2003). ESTUDIO DEL BIOFILM : Formación y Consecuencias. *Escols de Provenció i Seguretat Integral*, 1(1), 1–27.
- PlasticsEurope, (2015). Plastics—the facts 2015. In: An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data. Association of Plastics Manufacturers, Brussels, Belgium.
- PlasticsEurope, (2018). Plastics - the facts 2018: an analysis of European plastics production, demand and waste data. Retrieved from [https://www.plasticseurope.org/download\\_file/force/2387/319](https://www.plasticseurope.org/download_file/force/2387/319)
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Park, C., Kim, E. Y., Yoo, Y. T., & Im, S. S. (2003). Effect of Hydrophilicity on the Biodegradability of Polyesteramides. *Journal of Applied Polymer Science*, 90, 2708–2714.
- Realpe-Aranda, J. F., Bustillo-pardey, A. E., & López-núñez, J. C. (2007). Optimización de la cría de *Galleria mellonella* (L.) para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café. *Cenicafé*, 58(2), 142–157.
- Rist, S., Carney, B., Hartmann, N. B., & Karlsson, T. M. (2018). A critical perspective on early communications concerning human health aspects of microplastics. *Science of the Total Environment*, 626, 720–726. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.092>
- Romeo, T., Pietro, B., Pedà, C., Consoli, P., Andaloro, F., & Fossi, M. C. (2015). First evidence of presence of plastic debris in stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 95, 358–361.
- Royer, S., Ferrón, S., Wilson, S., & Karl, D. (2018). Production of methane and ethylene from plastic in the environment. *PLoS ONE*, 1–13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200574>
- Serrano, J. L. (n.d.). Espectroscopía Infrarroja 1-Fundamentos. *Ingeniería Del Agua y Del Terreno*.
- Shimao, M. (2001). Biodegradation of plastics Masayuki Shimao. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(3), 242–247.
- Singh, B., & Sharma, N. (2008). Mechanistic implications of plastic degradation. *Polymer Degradation and Stability*, 93(3), 561–584. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008>
- Sivan, A. (2011). New perspectives in plastic biodegradation. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(3), 422–426. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.01.013>
- Smith, T. L. (2014). External Morphology of the Larva, Pupa, and Adult of the Wax Moth, *Galleria mellonella*. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 38(3), 287–310.
- Solis, M. A. (2007). Phylogenetic studies and modern classification of the Pyraloidea (Lepidoptera). *Revista Colombiana de Entomología*, 33(1), 1–9.
- Sosa, I., & Sánchez, J. L. (2004). ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN. *Universidad Nacional Autónoma de México*, 1–41.
- Teuten, E. L., Saquing, J. M., Knappe, D. R. U., Rowland, S. J., Barlaz, M. A., Jonsson, S., ... Tana, T. S. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 364, 2027–2045.

- <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0284>
- Thompson, R. C., Moore, C. J., Saal, F. S. V., & Swan, S. H. (2009). Plastics, the environment and human health: Current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2153–2166. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0053>.
- Torres, V. (2015). Metodos de recoleccion de datos para una investigación. *Research Gate*, 3, 1–21.
- Van Eygen, E., Feketitsch, J., Laner, D., Rechberger, H., & Fellner, J. (2017). Comprehensive analysis and quantification of national plastic flows: The case of Austria. *Resources, Conservation and Recycling*, 117, 183–194. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2016.10.017>
- Voronova, V. (2018). An Overview of the Problems Posed by Plastic Products and the Role of Extended Producer Responsibility in Europe Walter. *Journal of Cleaner Production*. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.256>
- Wright, S. L., Rowe, D., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Current Biology*, 23(23), R1031–R1033. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.068>
- Yang, S. S., Brandon, A. M., Andrew Flanagan, J. C., Yang, J., Ning, D., Cai, S. Y., ... Wu, W. M. (2018). Biodegradation of polystyrene wastes in yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus): Factors affecting biodegradation rates and the ability of polystyrene-fed larvae to complete their life cycle. *Chemosphere*, 191, 979–989. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.117>