

**Efecto del consumo del polietileno de baja
densidad en el desarrollo de la polilla de la
cera (*Galleria mellonella*, Lepidóptera:
Pyralidae)**

Gonzalo Andrés Deras Hernández

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2018

ZAMORANO
CARRERA DE AMBIENTE Y DESARROLLO

**Efecto del consumo del polietileno de baja
densidad en el desarrollo de la polilla de la
cera (*Galleria mellonella*, Lepidóptera:
Pyralidae)**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Ambiente y Desarrollo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Gonzalo Andrés Deras Hernández

Zamorano, Honduras


Noviembre, 2018

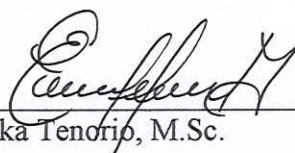
Efecto del consumo del polietileno de baja densidad en el desarrollo de la polilla de la cera (*Galleria mellonella*, Lepidóptera: Pyralidae)


Presentado por:

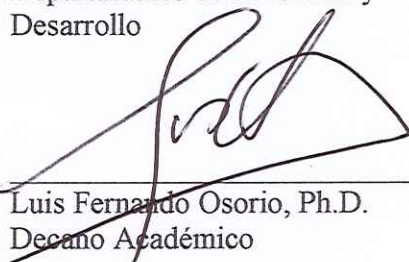
Gonzalo Andrés Deras Hernández


Aprobado:


Eric van den Berghe, Ph.D.
Asesor Principal


Erika Tenorio, M.Sc.
Directora
Departamento de Ambiente y
Desarrollo


Rogelio Trabanino Young, M.Sc.
Asesor


Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Decano Académico


Jose Fernando Tercero, M.Sc.
Asesor

Efecto del consumo del polietileno de baja densidad en el desarrollo de la polilla de la cera (*Galleria mellonella*, Lepidóptera: Pyralidae)

Gonzalo Andrés Deras Hernández

Resumen. El polietileno es un polímero resistente a la biodegradación. Como consecuencia, enormes cantidades de residuos plásticos se acumulan en el medio ambiente y en rellenos sanitarios. Algunas investigaciones indican que la larva de *Galleria mellonella*, conocida como polilla de la cera es capaz de consumir y biodegradar polietileno. Los objetivos del estudio fueron cuantificar la ganancia de peso y determinar el impacto del polietileno de baja densidad en el crecimiento y sobrevivencia de la larva de *G. mellonella* criada en cuatro dietas con diferentes proporciones de dieta artificial (DA) y polietileno de baja densidad (PEBD). Muestras por conveniencia de 50 larvas se pesaron cada tres días, hasta completar su estadio de larva. Además, se cuantificó y registró el número de individuos que sobrevivieron. Se utilizó un Análisis de Varianza (ANDEVA) repetido en el tiempo para el peso y una ANDEVA de una vía para la sobrevivencia. Posteriormente, se realizó un análisis de correlación de Pearson para la sobrevivencia y porcentaje de PEBD. Finalmente se realizó la prueba de “Least Significant Difference” (LSD) de Fisher para ambas variables. El estudio concluyó que las larvas que recibieron un menor porcentaje de PEBD sobrevivieron mejor y crecieron más rápido.

Palabras clave: Biodegradación, biorremediación, residuos plásticos.

Abstract. Polyethylene resists biodegradation, which results in enormous quantities of plastic residues accumulating in the environment and in landfills. However, some studies indicate that the larva of *G. mellonella*, (aka waxworms), reportedly consume and biodegrade polyethylene. The objectives of the study were to quantify growth and survival of *G. mellonella* larva reared on four diets with different proportions of low-density polyethylene. A random sample of 50 larvae was weighed every three days, until pupation. The number of surviving individuals was also recorded for each treatment. A one-way ANOVA was used for survival and weight change between treatments. Subsequently, a Pearson correlation was used for survival and Fisher’s “Least Significant Difference” (LSD) was performed for both variables. Larvae that were given a lower proportion of polyethylene survived better and grew faster.

Key words: Biodegradation, bioremediation, plastic waste.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4. CONCLUSIONES.....	9
5. RECOMENDACIONES	12
6. LITERATURA CITADA.....	13
7. ANEXOS	13

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Distribución de raciones de dieta artificial (DA) y polietileno de baja densidad (PEBD) por semanas.	3
2. Composición de las dietas evaluadas en las larvas de <i>Galleria mellonella</i>	4

Figuras	Página
1. Evolución del peso de las larvas de <i>Galleria mellonella</i> durante su estadio larval.....	7
2. Supervivencia de las larvas de <i>Galleria mellonella</i> durante su estadio larval.....	8

Anexos	Página
1. Gráfico de normalidad para los datos de supervivencia de las larvas de <i>Galleria mellonella</i>	13
2. Gráfico de homocedasticidad para los datos de supervivencia de las larvas de <i>Galleria mellonella</i>	14
3. Análisis de correlación para las variables porcentaje de polietileno de baja densidad y supervivencia.....	14
4. Peso inicial y final (mg) de las larvas de <i>Galleria mellonella</i>	14

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el plástico ha revolucionado nuestras vidas. Desde su introducción en el año 1950, la producción mundial de plástico ha aumentado rápidamente (Cózar, et al., 2014). De hecho, en los últimos años se han diseñado una amplia variedad de nuevos productos plásticos (Thompson, Swan, Moore y Vom Saal, 2009) a partir de polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), cloruro de polivinilo (PVC) y polietileno tereftalato (PET) (Miandad, Barakat, Aburiazaza, Rehan y Nizami, 2016). Por otra parte, Lebreton et al. (2018) aseguran que cada año se consumen más de 320 millones de toneladas de plástico a nivel mundial. De hecho, casi todos los sectores de la población utilizan el plástico de alguna forma u otra. Geyer, Jambeck y Law (2017) afirman que entre los años de 1950 y 2015, la generación de residuos plásticos ascendió a 6,300 millones de toneladas (Mt) a nivel mundial, de las cuales aproximadamente 800 Mt de plástico fueron incineradas, 600 Mt recicladas y 4,900 Mt vertidas y acumuladas en rellenos sanitarios y/o medio ambiente.

El polietileno es uno de los polímeros más comunes, constituyendo aproximadamente el 64% del total de plástico producido a nivel mundial (Wilkes y Aristilde, 2017). Este polímero está compuesto por largas cadenas de monómeros de etileno (Kale, Deshmukh, Dudhare y Patril, 2015). El cual, de acuerdo a sus características físicas y químicas, se clasifica en: polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de alta densidad (HDPE) y polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) (Das y Kumar, 2014). En los ambientes terrestres y marinos la degradación natural de los residuos de polietileno está influenciada por diferentes factores ambientales, como la luz solar, el calor y la humedad (Hiejima, Kida, Takeda, Igarashi y Nitta, 2018), los cuales, afectan las propiedades físicas y químicas del polímero. A partir de esto, Sangale, Ade y Shahnawaz (2012) aseguran que existen tres mecanismos responsables de la degradación del polietileno: la fotodegradación, la degradación termo-oxidativa y la biodegradación.

La biodegradación es un proceso natural de asimilación de compuestos orgánicos a través de microorganismos como bacterias, hongos y algas. Con respecto a lo anterior, se encontró que la larva de *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae), comúnmente conocida como gusano de la cera, es capaz de consumir y biodegradar polietileno (Bombelli, Howe y Bertocchini, 2017). *G. mellonella* es un insecto con una amplia distribución geográfica que habita en las colmenas de las abejas, donde crece y se alimenta de cera y miel. Este insecto tiene cuatro etapas de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto. La duración del ciclo de desarrollo completo es de aproximadamente 40 días dependiendo de la temperatura y la cantidad de alimento (Jorjao et al., 2018).

De acuerdo con Bombelli, Howe y Bertocchini (2017) 100 larvas de *G. mellonella* son capaces de consumir 92 miligramos de polietileno de baja densidad en 12 horas, esto sugiere que el tiempo de degradación es extremadamente rápido en comparación a otros organismos. Por ejemplo, se reportó que una cepa de *Pseudomona* causó una pérdida del 20% del peso de polietileno en 120 días (Kyaw, Champakalakshmi, Sakharkar, Lim y Sakharkar, 2012). Adicionalmente, se informó que dos bacterias del género *Sphingomona* y *Pseudomona* degradan el 22% del peso de polietileno en un período de seis semanas (Burd, 2008). Por ende, la capacidad de consumir y degradar el polietileno de la larva de *G. mellonella*, puede convertirse en una herramienta para la gestión de residuos plásticos que permita reducir y eliminar de manera eficaz las grandes cantidades de desechos plásticos que se depositan en el medio ambiente y/o rellenos sanitarios.

A partir de esto, los objetivos específicos del estudio fueron:

- Evaluar la ganancia de peso en la larva de *G. mellonella* alimentada con diferentes proporciones de dieta artificial y polietileno de baja densidad.
- Determinar el impacto del polietileno de baja densidad en la sobrevivencia de larva de *G. mellonella*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del sitio de estudio.

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de la Unidad de Control Biológico del Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria de la Universidad de Zamorano, Honduras.

Origen y manejo del experimento.

Las posturas de huevos de *G. mellonella* se obtuvieron a través del Laboratorio de la Unidad de Control Biológico de la Universidad de Zamorano. Cada uno de los pesajes se llevó a cabo en una balanza analítica de 0.001 g de exactitud. Al inicio del experimento, se pesaron 0.05 g de huevos de *G. mellonella* y siete gramos de dieta artificial, los cuales se colocaron en 10 recipientes de plástico de una onza líquida. Una vez sembradas las posturas de huevos, se cubrieron con una hoja de aluminio de 7 × 7 cm y se incubaron en una habitación con poca iluminación y buena aireación a una temperatura de 27 ± 3 °C y 35 ± 5% de humedad relativa durante siete días. Seguidamente, se seleccionaron y pesaron 200 larvas recién eclosionadas, las cuales se colocaron en 12 bandejas plásticas de 32 × 18 × 13 cm con dieta artificial (DA) y polietileno de baja densidad (PEBD). Adicionalmente, se colocó grasa en los bordes de cada bandeja plástica para evitar la fuga de las larvas. A continuación, se elaboraron cuatro dietas con diferentes proporciones de DA/PEBD (100/0, 50/50, 30/70, 10/90), las cuales se suministraron semanalmente durante tres semanas en diferentes cantidades. Finalmente, se cuantificó y registró la cantidad de larvas que sobrevivieron de cada una de las bandejas plásticas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de raciones de dieta artificial (DA) y polietileno de baja densidad (PEBD) por semanas.

Tratamientos	Semana 1		Semana 2		Semana 3	
	DA (g)	PEBD (g)	DA (g)	PEBD (g)	DA (g)	PEBD (g)
Testigo ¹	200	-	200	-	100	-
50DA/50PEBD ²	100	100	100	100	50	50
30DA/70PEBD ³	50	150	50	150	50	50
10DA/90PEBD ⁴	17	200	17	200	17	50

¹ Testigo 100% dieta artificial

² 50% dieta artificial / 50% polietileno de baja densidad

³ 30% dieta artificial / 70% polietileno de baja densidad

⁴ 10% dieta artificial / 90% polietileno de baja densidad

Formulación y preparación de las dietas.

En esta fase se formularon cuatro dietas, las cuales fueron elaboradas a partir de la incorporación de diferentes cantidades de DA y PEBD (Cuadro 2). Se utilizaron bolsas de polietileno de baja densidad, las cuales se cortaron en fragmentos de aproximadamente 1 × 1 cm para alcanzar el peso requerido en la formulación. Cada uno de los ingredientes de la dieta fueron pesados y mezclados.

Cuadro 2. Composición de las dietas evaluadas en las larvas de *Galleria mellonella*.

Ingredientes	Tratamientos			
	Testigo ¹	50DA/50PEBD ²	30DA/70PEBD ³	10DA/90PEBD ⁴
Polietileno (g)	-	250.00	350.00	450.00
Leche de soya en polvo (g)	22.68	11.34	6.80	2.27
Miel de abeja (g)	52.58	26.29	15.77	5.26
Levadura (g)	10.63	5.31	3.19	1.06
Afrecho de trigo (g)	136.08	68.04	40.82	13.61
Semolina (g)	136.08	68.04	40.82	13.61
Melaza (g)	17.75	8.88	5.33	1.78
Glicerina (g)	47.25	23.63	14.18	4.73
Sirope (g)	170.00	85.00	51.00	17

¹ g de ingredientes / 500 gramos de dieta artificial

² g de ingredientes / 250 gramos de dieta artificial

³ g de ingredientes / 150 gramos de dieta artificial

⁴ g de ingredientes / 50 gramos de dieta artificial

Indicadores productivos.

Peso. Del total de larvas de cada bandeja plástica, se seleccionó una muestra por conveniencia de 50 larvas, las cuales se colocaron en una placa de Petri y posteriormente se pesaron. Finalmente, cada muestra se colocó nuevamente en la bandeja plástica correspondiente. Este proceso se realizó cada tres días (número de días en el cual las larvas completan su instar) hasta completar su estadio de larva.

Sobrevivencia. Para estimar la sobrevivencia de las larvas, se contaron de cada bandeja plástica todas las larvas que alcanzaron su estadio de pupa.

Análisis estadístico. A los datos obtenidos de la medición del peso de las larvas en los diferentes instar y la sobrevivencia al final del experimento, se les verificó los supuestos de normalidad y homocedasticidad (igualdad de varianza). La normalidad fue evaluada a través del gráfico “QQplots” utilizando los residuales esperados, posteriormente se aplicó la prueba de Shapiro Wilk. Para la homocedasticidad se realizó el gráfico de “QQplots” utilizando los residuales estandarizados. Debido a que los pesos no cumplen con los supuestos antes mencionados, se procedió a modelar los datos a través del módulo: Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM). Este módulo generaliza los datos que no cumplen con los supuestos de normalidad e igualdad de varianza. Para las variables de peso y sobrevivencia de las larvas se utilizaron cuatro tratamientos, tres repeticiones para cada uno y un total de 12 unidades experimentales. El análisis estadístico utilizado para el peso de las larvas fue el Análisis de Varianza (ANDEVA) repetido en el tiempo (tratamiento y tiempo). Para la variable sobrevivencia se utilizó un ANDEVA de una vía (tratamiento). Posteriormente, se realizó la prueba de comparación múltiple de “Least Significant Difference” (LSD) de Fisher lo que permite comparar las medias de los niveles del factor tratamiento y tiempo en el caso de los pesos. Finalmente se utilizó un análisis de correlación de Pearson para las variables de porcentaje de polietileno de baja densidad y sobrevivencia. El nivel de significancia usado fue de 5% y para el procesamiento de los datos se utilizó el programa “Infostat” (versión 2018).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evolución del peso de las larvas de *G. mellonella*.

Los datos obtenidos de la medición de pesos en los diferentes instar, no cuentan con una distribución normal e igualdad de la varianza ($P \leq 0.05$). Debido que los datos no cumplen con los dos supuestos antes mencionados, se procedió a modelar los datos a través del módulo: Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM).

El Análisis de la Varianza resultante indicó que existen diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en la interacción del factor tiempo y tratamientos con respecto a la variable de respuesta peso, es decir, que el tiempo y los tratamiento tienen un efecto combinado sobre el peso de las larvas de *G. mellonella* en los diferentes instar. La prueba de LSD de Fisher indicó que las dietas Testigo y 50DA/50PEBD en la última medición (día 15), resultaron en los mayores pesos con respecto al resto de tratamientos y mediciones ($P \leq 0.05$). Según Jindra y Sehnal (1989), la ganancia de peso de las larvas de *G. mellonella* está influenciada por el consumo, la disponibilidad y composición del alimento, lo que sugiere que las larvas a las que se les suministró una mayor cantidad de dieta artificial y menor cantidad de polietileno de baja densidad obtuvieron mayores pesos, en comparación con aquellas a las que se les suministró menor cantidad de dieta artificial y mayor cantidad de polietileno de baja densidad. No obstante, la prueba LSD de Fisher determina que entre la dieta Testigo y 50DA/50PEBD los pesos son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$) en la última medición.

Por otro lado, se observa en la Figura 1 que al comenzar el experimento, los pesos de todas las larvas de cada tratamiento fueron iguales ($P \leq 0.05$). Lo anterior demuestra que la asignación de los organismos en las unidades experimentales fue completamente aleatoria. Asimismo, se observa que a partir de la medición 3 (día 6) los pesos de las larvas comienzan a diferenciarse, específicamente para la dieta 10DA/90PEBD con respecto al resto ($P \leq 0.05$), y el patrón continúa hasta la última medición (Figura 1). Se observa que esta dieta es donde ocurre la menor ganancia de peso de las larvas ($P \leq 0.05$). Resultados similares fueron reportados por Krams et al. (2015), quienes evaluaron el crecimiento de las larvas de *G. mellonella* en diferentes dietas, concluyendo que las larvas con menor peso se encuentran en dietas con menor cantidad de alimento y baja calidad nutricional.

Esto sugiere que las larvas de *G. mellonella* criadas en condiciones de laboratorio y con dieta artificial no son capaces de asimilar y aprovechar el polietileno de baja densidad. Sin embargo, lo anterior difiere de lo reportado por Bombelli, Howe y Bertocchini (2017), quienes encontraron que las larvas que habitan en su medio natural si son capaces de asimilar y alimentarse de este polímero. Existe la probabilidad que las larvas que habitan en su medio natural presenten una comunidad bacteriana diferente a aquellas que han sido

criadas en condiciones controladas con dieta artificial. Con relación a lo anterior, Mason y Raffa (2014), afirman que ambos factores afectan negativamente la diversidad microbiana que habita en el interior de larvas de lepidópteros. Asimismo, Gayatri, Ojha, Kajla, Raj y Raman (2012) encontraron diferencias en la diversidad de microorganismos que se encuentran en el interior de las larvas *Helicoverpa armigera* (Lepidóptera: Noctuidae) criadas con dieta artificial durante 30 generaciones, en comparación con aquellas recolectadas de diferentes plantas hospederas. Por lo cual, la cría de larvas de *G. mellonella* en condiciones de laboratorio no puede ser considerada como una alternativa para la gestión de residuos plásticos.

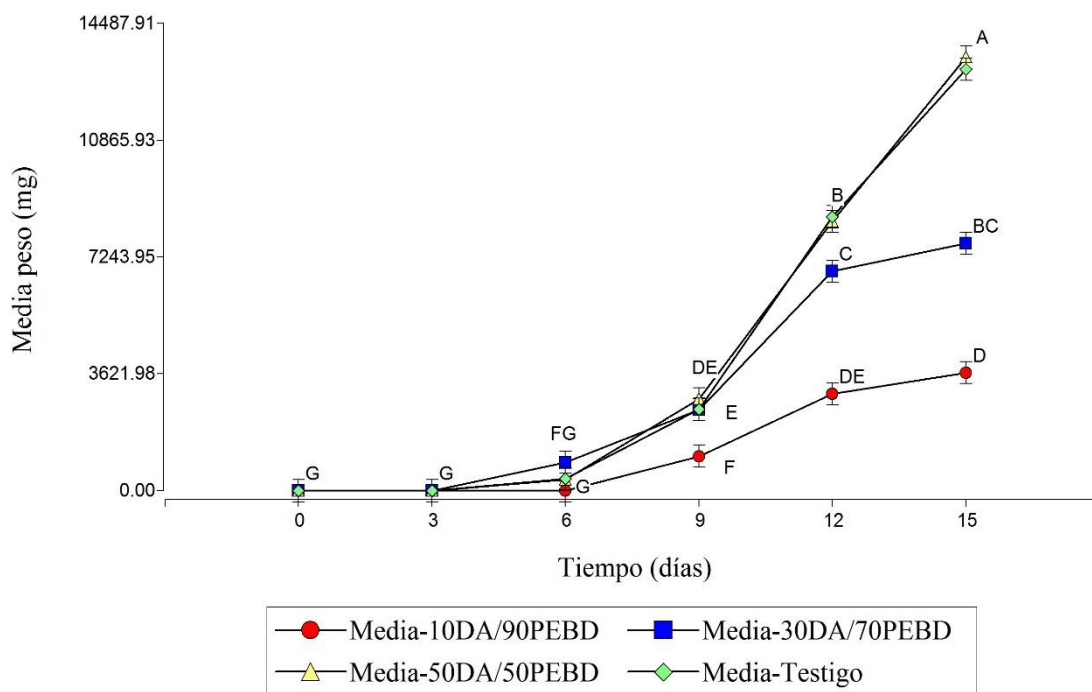


Figura 1. Evolución del peso de las larvas de *Galleria mellonella* durante su estadio larval. Medias con letras diferentes denotan diferencias significativas al nivel de 0.05.

Sobrevivencia de las larvas de *G. mellonella*.

Los datos obtenidos de la sobrevivencia no tienen una distribución normal ($p \leq 0.05$). Posteriormente, el Análisis de Varianza (ANDEVA) de una vía, indicó la existencia de diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en la cantidad de larvas que sobrevivieron entre los tratamientos al final del experimento (Figura 2). Seguidamente, la prueba de LSD Fisher indicó la existencia de diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en la dieta Testigo en comparación con el resto de las dietas. En cambio en las dietas 50DA/50PEBD y 30DA/70PEBD, no existen diferencias significativas ($P \geq 0.05$). La dieta 10DA/90PEBD es donde sobreviven menos individuos ($P \leq 0.05$) en comparación con el resto (Figura 2). Asimismo, la prueba de correlación de Pearson indicó que existe una correlación alta negativa ($r = -0.91$; $P \leq 0.05$) entre el porcentaje de polietileno de baja densidad y sobrevivencia de las larvas. Indicando que a medida se aumenta el porcentaje de polietileno de baja densidad en las dietas, disminuye la cantidad de larvas que sobreviven.

De acuerdo con Krams et al. (2015) la disponibilidad y composición nutricional de la dieta afecta negativamente la supervivencia de las larvas de *G. mellonella*. Lo que explica, que las larvas que recibieron una menor proporción de polietileno de baja densidad sobrevivieron mejor.

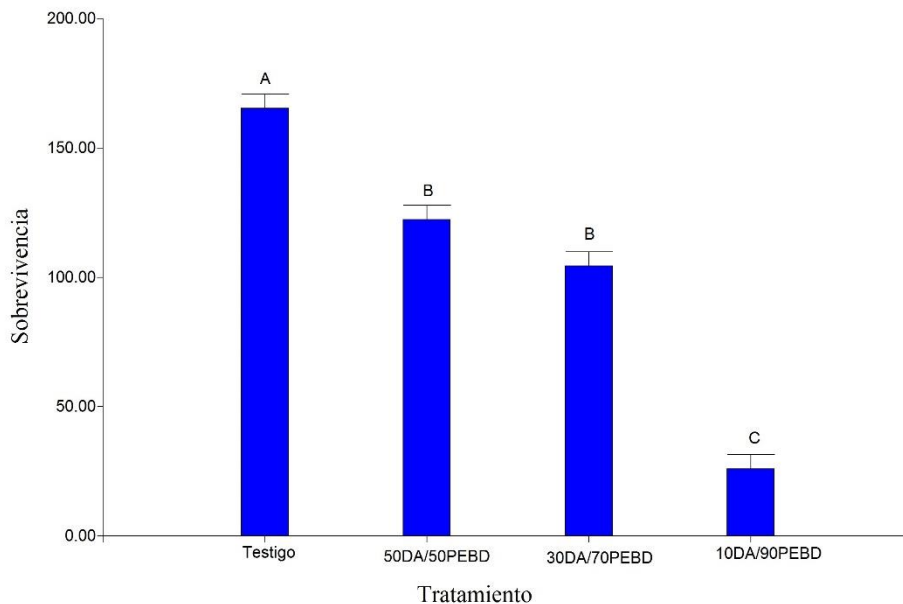


Figura 2. Supervivencia de las larvas de *Galleria mellonella* durante su estadio larval. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P \geq 0.05$).

Los resultados obtenidos indican que las larvas de *G. mellonella* utilizadas en el experimento no son capaces de degradar el polietileno de baja densidad. Por tal razón, existe la probabilidad que las larvas que habitan en su medio natural presenten microorganismos capaces de biodegradar el polietileno de baja densidad como ocurre con la larva *Plodia interpunctella* (Lepidóptera: Pyralidae) (Yang, Yang, Wu, Zhao y Jiang, 2014). Por lo cual, es posible aislar, reproducir y utilizar los microorganismos involucrados en la degradación del polietileno como una alternativa de biorremediación para eliminar y/o reducir de manera eficaz los residuos plásticos acumulados en el medio ambiente y en rellenos sanitarios. Sin embargo, Javed y Talkad (2014) afirman que los pretratamientos de termo y foto oxidación son un paso crítico en la degradación del polietileno, ya que ocasionan cambios en las propiedades físicas, estructura química y peso molecular del polímero que tanto las bacterias como hongos no pueden generar por si solos (Manzur, Limón-González y Favela-Torres, 2003; Yamada-Onodera, Mukumoto, Katsuyaya, Saiganji y Tani, 2000).

Por lo tanto, previo a considerar las comunidades bacterianas del intestino de *G. mellonella* como alternativa para la eliminación de residuos plásticos, es preciso evaluar la habilidad de los microorganismos para biodegradar el polietileno de baja densidad, mediante la identificación de reacciones similares a las de pretratamientos de foto y termo oxidación.

4. CONCLUSIONES

- El polietileno de baja densidad en la dieta con 10% dieta artificial y 90% polietileno de baja densidad disminuye la ganancia de peso de las larvas de *G. mellonella* criadas en condiciones laboratorio.
- El aumento del polietileno de baja densidad en las dietas, disminuye la supervivencia de las larvas de *G. mellonella* en condiciones de laboratorio.
- El exponer a las larvas de *G. mellonella* a una sustitución mayor al 70% de residuos de polietileno de baja densidad como única fuente de alimento, afecta negativamente el crecimiento y supervivencia, por lo cual no es posible considerar las larvas utilizadas en el experimento como una alternativa para la gestión de residuos plásticos.

5. RECOMENDACIONES

- Replicar el estudio con larvas de *G. mellonella* que sean recolectadas de su hábitat natural.
- Realizar un estudio con diferentes proporciones de dieta artificial y material no asimilable, y otro con polietileno de baja densidad y material no asimilable, con el fin de comprobar que las larvas de *G. mellonella* no son capaces de asimilar este polímero.
- Cuantificar el consumo de polietileno de baja densidad de forma simultánea al crecimiento de las larvas de *G. mellonella*.

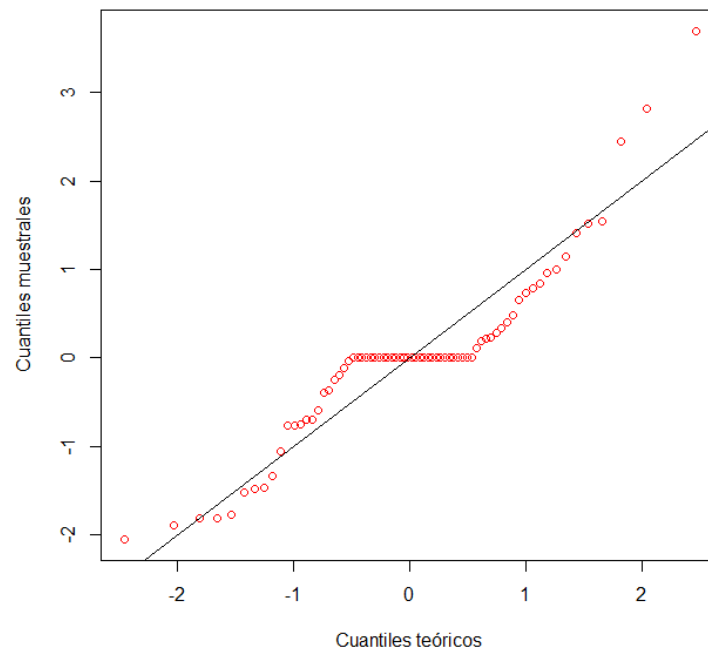
6. LITERATURA CITADA

- Bombelli, P., Howe, C., y Bertocchini, F. (2017). Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Current Biology*, 27(8), 292-293. doi: 10.1016/j.cub.2017.02.060
- Burd, D. (2008). Plastic Not Fantastic. Recuperado de <http://wwsef.uwaterloo.ca/archives/2008/08BurdReport.pdf>
- Cózar, A., Echeverría, F., González-Gordillo, I., Irigoien, X., Úbeda, B., Hernández-León, S., . . . Duarte, C. (2014). Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(28), 1,0239-1,0244. doi: 10.1073/pnas.1314705111
- Das, M., y Kumar, S. (2014). Microbial Deterioration of Low Density Polyethylene by *Aspergillus* and *Fusarium* sp. *ChemTech Research*. 6(1), 299-305. Recuperado de [http://sphinxesai.com/2014/ChemTech/JM14CT1_50/CT=35\(299-305\)JM14.pdf](http://sphinxesai.com/2014/ChemTech/JM14CT1_50/CT=35(299-305)JM14.pdf)
- Gayatri, N., Ojha, A., Kajla, M., Raj, A., y Raman, R. (2012). Host Plant Induced Variation in Gut Bacteria of *Helicoverpa armigera*. *PLoS ONE*, 7(1), 1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0030768
- Geyer, R., Jambeck, J., y Law, K. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7), 1-5. doi: 10.1126/sciadv.1700782
- Hiejima, Y., Kida, T., Takeda, K., Igarashi, T., y Nitta, K. (2018). Microscopic structural changes during photodegradation of low-density polyethylene detected by Raman spectroscopy. *Elsevier*, 150, 67-72. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2018.02.010
- Javed, A., y Talkad, M. (2014). Microbial Degradation of Plastic (LDPE) & domestic waste by induced mutations in *Pseudomonas putida*. *ResearchGate*, 1(5), 210-215. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/263658062>
- Jindra, M., y Sehnal, F. (1989). Larval Growth, Food consumption, and Utilization of Dietary Protein and Energy in *Galleria mellonella*. *Elsevier*, 35(9), 719-724. doi: 10.1016/0022-1910(89)90091-7
- Jorjao, A., Oliveira, L., Scorzoni, L., Mara, L., Godoi, F., Prata, M., . . . Junqueira, J. (2018). From moths to caterpillars: Ideal conditions for *Galleria mellonella* rearing for in vivo microbiological studies. *National Library of Medicine National Institutes of Health*, 9(1), 383-389. doi: 10.1080/21505594.2017.1397871

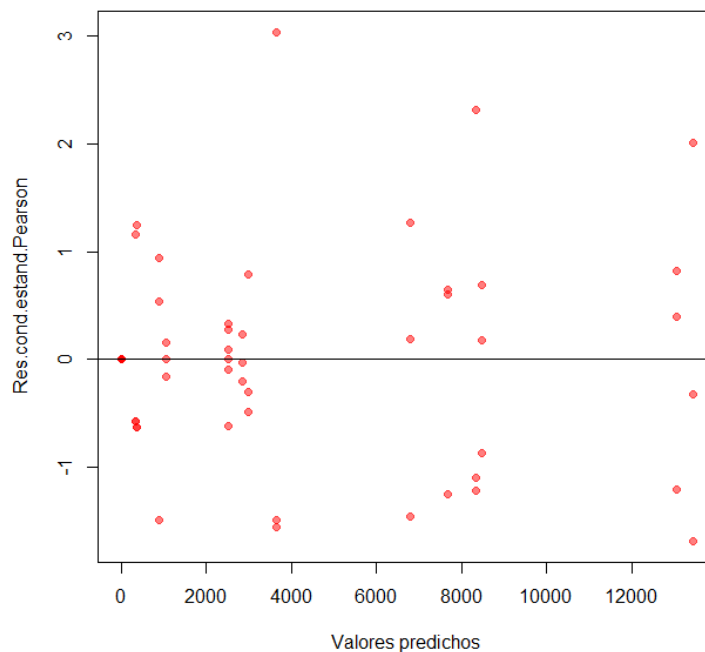
- Kale, S., Deshmukh, A., Dudhare, M., y Patil, V. (2015). Microbial degradation of plastic: a review. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 4(2), 231-242. Recuperado de https://www.jpccbs.info/2016_4_2_12_Praseetha.pdf
- Krams, I., Kecko, S., Kangassalo, K., Moore, F., Jankevics, E., Inashkina, I., . . . Rantala, M. (2015). Effect of food quality on trade-offs among growth, immunity and survival in the greater wax moth *Galleria mellonella*. *Wiley Online Library*, 22(3), 431-439. doi: 10.1111/1744-7917.12132
- Kyaw, B., Champakalakshmi, R., Sakharkar, M., Lim, C., y Sakharkar, K. (2012). Biodegradation of Low Density Polythene (LDPE) by *Pseudomonas* Species. *National Library of Medicine National Institutes of Health*, 52(3), 411-419. doi: 10.1007/s12088-012-0250-6
- Lebreton, L., Slat, B., Ferrari, B., Sainte-Rose, B., Aitken, J., Marthouse, R., . . . Reisser, J. (2018). Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic. *Scientific Reports*, 8(4666). doi: 10.1038/s41598-018-22939-w
- Mason, C., y Raffa, K. (2014). Acquisition and Structuring of Midgut Bacterial Communities in Gypsy Moth (Lepidoptera: Erebidae) Larvae. *Environmental Entomology*, 43(3), 595-604. doi: 10.1603/EN14031
- Manzur, A., Limón-González, M., y Favela-Torres, E. (2003). Biodegradation of Physicochemically Treated LDPE by a Consortium of Filamentous Fungi. *Wiley Online Library*, 92, 265-271. doi: 10.1002/app.13644
- Miandad, R., Barakat, A., Aburiazaiza, S., Rehan, M., y Nizami, S. (2016). Catalytic Pyrolysis of Plastic Waste: A Review. *Elsevier*, 102, 822-838. doi:10.1016/j.psep.2016.06.022
- Sangale, M., Ade, A., y Shahnawaz, M. (2012). A Review on Biodegradation of polyethylene: The Microbial Approach. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 3 (164), 1-9. doi: 10.4172/2155-6199.1000164
- Thompson, R., Swan, S., Moore, C., y vom Saal, F. (2009). Our plastic age. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*. 364, 1973-1976. doi: 10.1098/rstb.2009.0054
- Wilkes, R., y Aristilde, L. (2017). Degradation and metabolism of synthetic plastic and associated products by *Pseudomonas* sp.: capabilities and challenges. *National Library of Medicine National Institutes of Health*, 123(3), 582-593. doi: 10.1111/jam.13472
- Yamada-Onodera, K., Mukumoto, H., Katsuyaya, Y., Saiganji, A., y Tani, Y. (2000). Degradation of polyethylene by a fungus *Penicillium simplicissimum* YK. *Elsevier*, 72(2), 323-327. doi: 10.1016/S0141-3910(01)00027-1

7. ANEXOS

Anexo 1. Gráfico de normalidad para los datos de sobrevivencia de las larvas de *Galleria mellonella*.



Anexo 2. Gráfico de homocedasticidad para los datos de sobrevivencia de las larvas de *Galleria mellonella*.



Anexo 3. Análisis de correlación para las variables porcentaje de polietileno de baja densidad y sobrevivencia.

Variable 1	Variable 2	n	Pearson	p-valor
Porcentaje de polietileno de baja densidad	Sobrevivencia	12	-0.91	0.0001

Anexo 4. Peso inicial y final (mg) de las larvas de *Galleria mellonella*.

Tratamientos	Peso inicial (mg)	Peso final (mg)
	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
Testigo	0.233 \pm 0.006 ^a	13,067 \pm 633.14 ^a
50DA/50PEBD	0.276 \pm 0.093 ^a	13,440 \pm 1,107.29 ^b
30DA/70PEBD	0.263 \pm 0.015 ^a	7,670 \pm 640.94 ^c
10DA/90PEBD	0.273 \pm 0.015 ^a	3,660 \pm 1,558.97 ^d

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \geq 0.05$).
D.E. = Desviación estándar.