



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Efecto de la radiación ultravioleta (UV) en la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad (PEBD) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria mellonella*, Chiclayo.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
Bachiller en Ingeniería Ambiental

AUTORES:

Prada Veliz, Karen Antonella (ORCID: 0000-0003-2738-5935)

Rojas Llamo, Deysi Natalic (ORCID: 0000-0002-7529-9700)

ASESOR:

Dr. Lloclla Gonzales, Herry (ORCID: 0000-0002-0821-7621)

Dr. Ponce Ayala, José Elías (ORCID: 0000-0002-0190-3143)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Tratamiento y Gestión de los Residuos

CHICLAYO – PERÚ

2020

Índice de contenidos

Carátula.....	i
Índice de contenidos	ii
Índice de tablas	iii
Resumen.....	iv
Abstract.....	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. METODOLOGÍA	14
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
IV. CONCLUSIONES	25
V. RECOMENDACIONES.....	26
REFERENCIAS.....	27
ANEXOS	1

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Gráfico de larvas inoculadas con bacterias irradiadas</i>	21
Tabla 2. <i>Gráfico de grupo control</i>	22

Resumen

El presente trabajo de investigación titulado Efecto de la radiación ultravioleta en la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad (PEBD) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria mellonella* en Chiclayo, se elaboró con el fin de profundizar los conocimientos de la biodegradación de polietileno de baja densidad a través de bacterias aisladas del contenido intestinal de la larva, ejecutándose un proyecto de aislamiento de bacterias del contenido intestinal de dicha larva; las cuales fueron cultivadas en Agar MacConkey y se procedió hacer la identificación macroscópica, microscópica y pruebas bioquímicas según las bacterias identificadas, posteriormente irradiadas con luz ultravioleta e inoculadas en las larvas para ver la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad.

Teniendo un grupo testigo y dos grupos de bacterias irradiadas en tres repeticiones, para ver la comparación de biodegradación, concluyendo que las bacterias irradiadas *Enterobacteria sp* y *Bacillus sp* con tiempos de 1, 2 y 4 minutos, posteriormente inoculadas en dichas larvas; el tiempo de dos minutos fue el más eficiente con 0.89 y 1.12 gramos de biodegradación, se evaluó su peso inicial y un peso final comparando así que el grupo testigo degradó en menor porcentaje, concluyendo que el tiempo de irradiación es muy importante.

Palabras claves: Biodegradación, polietileno, radiación ultravioleta, inoculación y bacterias.

Abstract

This research, entitled "Efecto de la radiación ultravioleta (UV) en la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad (PEBD) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria Mellonella* en Chiclayo", aimed to deepen the knowledge of the Biodegradation of low-density polyethylene through isolated bacteria from the intestinal content of the larva, executing a project of isolation of bacteria from the intestinal content of said larva; which were cultured in MacConkey Agar and macroscopic and microscopic identification and biochemical tests were carried out according to the bacteria identified, subsequently irradiated with ultraviolet light and inoculated in the larvae to see the biodegrading capacity of low-density polyethylene.

Having a control group and two groups of bacteria irradiated in three repetitions, to see the comparison of biodegradation, concluding that the irradiated bacteria *Enterobacter sp* and *Bacillus sp* with times of 1, 2 and 4 minutes, later inoculated in said larvae; the time of two minutes was the most efficient with 0.89 and 1.12 grams of biodegradation, its initial weight and a final weight were evaluated, thus comparing that the control group degraded in a lower percentage, concluding that the irradiation time is very important.

Keywords: Biodegradation, polyethylene, ultraviolet radiation, inoculation and bacteria.

I. INTRODUCCIÓN

En el mundo actual uno de los problemas más notables, es el uso de las bolsas plásticas ya que estas tienen un incorrecto uso por parte de la sociedad en toda la urbe. Tanto así que gobiernos han implementado leyes que restrinjan el uso excesivo de bolsas de polietileno o por lo contrario hacer el uso de bolsas biodegradables, que se contradice con la situación real del uso cotidiano por parte de las personas; además de la inadecuada disposición de estos plásticos y por esta razón que tienen estos productos derivado del petróleo de permanecer por muchos años en los diferentes ecosistemas antes de transformarse, por lo que ha ocasionado que si se siguen generando el uso excesivo de las bolsas de polietileno pueden ser prohibidas definitivamente su uso.

Las bolsas de polietileno con el paso del tiempo se han transformado en algo muy cotidiano de la sociedad debido que es este tipo de material es muy común y tiene su demanda, ya que gracias a este producto lo hemos utilizado en nuestros quehaceres diarios de toda sociedad, pero esto se ha convertido en algo muy preocupante para el ambiente ya que ocasiona daños significativos sobre la flora y fauna en el mundo, Según Natura-medioambiente (2014).

La acumulación del plástico en los ecosistemas marinos, aguas dulces y el suelo trae consigo la contaminación de estos ambientes y la degradación lenta y paulatinamente con los años lo que acarrea la generación del micro plástico cuyo sistema de biodegradación y de acumulación se han convertido en el principal problema en el mundo por la escasa o nula forma de tratar tanto física, química y biológicamente a este nuevo tipo de plástico generando un problema serio ambiental relacionado con la contaminación macro muy particularmente las aves, peces y mamíferos cuyos componentes tóxicos de estos micro plásticos pueden dañar o se acumulan en el organismo de estas especies biológicas.

La contaminación por polietileno, esencialmente por los microplásticos se han convertido en una amenaza para la salud de las personas y de los animales ya que este material puede situarse en grandes cantidades como en los mares y

continentes; así mismo estos pueden ser ingeridos por los animales que habitan en el mar y les puede ocasionar la muerte.

Además, los microplásticos pueden ocasionar efectos perjudiciales en la salud de las personas. El invento de las bolsas biodegradables ha proporcionado una disminución favorable para el medio ambiente, pero sin embargo no se ha podido extinguir del todo esta contaminación al ambiente. Algunos autores han realizado proyectos que la forma de biodegradar este material es de forma microbiana utilizando cepas de distintas bacterias como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Nocardia*, *Brevibacterium*, *Streptomyces*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Bacillus* estas son aisladas en condiciones naturales.

Así mismos, ante la realidad de esta contaminación han ocasionado gran preocupación en la sociedad mundial es por ello que han invertido en la creación y producción de productos para mitigar el uso de este material ya que ocasiona grandes problemas en los diferentes ecosistemas.

En la actualidad se han creado normas y leyes que están relacionados al uso de las bolsas de polietileno y ahora se tiene que pagar para su uso, pero esto no se ve en todos los centros comerciales sino en algunos ya que existen mercados y tiendas que son informales y no cumplen con la normativa dada, es por ellos que tenemos como conclusión que las bolsas de plástico ya forman parte de la vida cotidiana de las personas así mismo que se plantea soluciones con estudios de mejoramiento genético con radiación ultravioleta con cepas de bacterianas aisladas en el intestino de la larva *Galleria mellonella* para así poder acelerar la biodegradación del plástico para así poder disminuir la contaminación ambiental por plásticos y tener un mejor ambiente para la sociedad.

A nivel mundial se origina una masa de residuos de plástico de 2.5 a 4 mil millones de toneladas métricamente por año, y eso que no se cuenta los otros residuos recolectados como de minería, demolición, construcción entre otros.

En la provincia de Chiclayo existe un acrecentamiento apresurado de los residuos sólidos de plástico, originando una gran contrariedad en la actualidad, ya que nos encontramos en una sociedad donde tienen un poco o a veces nada sobre cultura ambiental, ocasionando un gran impacto que perjudica el ambiente y es así que casi siempre buscamos obtener nuestras propias ambiciones, pero no nos damos cuenta que estamos ocasionando grandes problemas en la naturaleza.

En Chiclayo su población un gran desbalance para resguardar o satisfacer sus necesidades ya que vivimos en una población que solo busca satisfacer sus necesidades básicas por ejemplo el consumismo de productos que tienen plástico, alcanzando así el aumento de residuos de plásticos.

Así mismo según el (MINAM 2012) dice que “En el año 2010 en Perú, la generación de plástico obtuvo un porcentaje de 8,07% y en el 2011 se consiguió un 9.85% obteniendo un aumento, debido que la elaboración de este material es acelerada ya que en los mercados son más baratos estos plásticos y son manipulados por la mano del hombre.

Como bien se sabe el plástico es una problemática que se viene expandiendo desde los siglos pasados, ya que está compuesto por materiales simples que se pueden utilizar de diversas maneras. El problema no es fabricarlo sino darle un uso después de su utilidad ya que este plástico demora mucho tiempo para degradarse y así convirtiéndose en uno de los más contaminantes para el planeta.

Otra problemática que afecta mucho en el tema de los plásticos es los “microplásticos”, se encuentra en lagunas, ríos, playas, entre otros, estos generan impactos negativos en los ecosistemas cercanos, pero los más afectados son los ecosistemas marinos.

Este material de plástico sino tiene un apropiado manejo o un tratamiento, su destino es ir a parar hasta los océanos y estos pueden llegar hacer ingeridos por la fauna marina, según un estudio que fue publicado por la revista Nu2 Mar y Arte, nos dice que alrededor se localiza 3.500 partículas de plástico por kilómetro cuadrado en la costa de Sudáfrica. Estos controles se realizaron en 50 playas de Sudáfrica desde Ciudad del Cabo hasta Cabo Este proporcionando resultados que,

en un periodo de cinco años hasta 1989, la propagación de esta contaminación por plástico agrandó un 190%.

Como bien se manifestó la fauna marina es la que está siendo más afectada por la contaminación de plástico, ya que está asesinando a millón de fauna marina y aproximadamente 100000 tortugas marinas y mamíferos en un promedio de un año. Este microplástico ocasiona de dos modos a las aves y mamíferos marinos ya que cada uno de estas especies se quedan enmarañadas con este material de plástico, y otra causa puede ser que consumen este material y les puede ocasionar la muerte ya que pueden ser asfixiadas; es por ello que estas especies se hallan en peligro.

La finalidad principal del trabajo de investigación es genotipificar el ADN de las larvas de *Galleria mellonella*, para el estudio del incremento de la capacidad biodegradadora del plástico. Con los resultados del presente trabajo de investigación servirá para mejorar la calidad ambiental del lugar objeto de estudio en la formulación de alternativas en el correcto uso del plástico.

Seneviratne (2006), Según lo manifestado por el autor la biodegradación de plástico por bacterias se da por unas enzimas que se encuentran dentro del tracto digestivo de la bacteria, esta actividad microbiana se halla comprometida al ataque microbiano; es por ello que se sobresale que la cepa que se va tener para el tratamiento debe de estar en consorcio de biodegradación (p.40).

El autor nos comenta que la actividad microbiana en la degradación de residuos plásticos es una operación a través de enzimas que ayudan a degradar los polímeros.

Según Shah (2008), La biodegradación es determinada por una diversidad de componentes que implica las variedades de tipos de organismo, polímeros y su naturaleza de la anticipación del pre tratamiento. El polímero se describe sus plastificantes añadidos al polímero, los sustituyentes presentes en su estructura, movilidad, tipo de grupos funcionales, peso molecular, cristalinidad y la sutacticidad, gracias a estas propiedades se da el papel de la biodegradación (p.5).

Las características involucradas en los tipos de polímeros influyen con un rol muy importante en la biodegradación de estos.

Schwarz O, (2002), Nos manifiesta que el polietileno cuenta con distintas propiedades típicas que son de menor densidad, elevada tenacidad y elongación, duración térmica de -50°C a 90°C, una buena conducta como aislador eléctrico, con una menor filtración de agua y firmeza a los ácidos, soluciones salinas, agua, alcoholes y aceites. La organización de las macromoléculas y sus fuerzas de cohesión le otorgan a cada grupo de PE sus características concretas como la dureza y fragilidad de los duroplásticos y la firmeza mecánica y químicas a los termoplásticos, Este procedimiento se debe mediante los enlaces covalentes. El polietileno se puede caracterizar por su menor densidad en la que especifica cadenas moleculares ramificadas, así mismo el polietileno de mayor densidad las especifica lineales (p.4).

El polímero está conformado por distintas propiedades en los cuales tiene una buena conducta en la filtración de agua y firmeza de ácidos en la que se caracteriza la organización de las macromoléculas en la cohesión de los grupos PE.

De acuerdo Galvis, Quiñones y Jiménez, (2009), En sus estudios realizados con los gusanos de coleópteros han probado que existe una gran suma de cifras de especies de levaduras y bacterias que se ubican en el tracto digestivo de estos gusanos, simbolizando una gran viable muy estimado para la biotecnología en la cual diversas de estas enzimas (en su mayoría *Saccharomyces*) la manejan para su intervención del proceso de biodegradación (p.108).

Este artículo de investigación nos da a mencionar que los coleópteros y lepidópteros existen una gran variedad de bacterias biodegradadoras de plástico que estas las utilizan para su alimentación.

Según Zimmer, (2015), La contaminación por los plásticos se ha ido incrementado al pasar de los años de una forma muy acelerada, es por ellos que muchos autores se han dedicado hacer investigaciones sobre la biodegradación de este material, en la actualidad se han dado soluciones como normativas y leyes que restrinjan el

uso de estas bolsas, así mismo también el uso de compuestos de almidón o colágeno estos logran estar poco tiempo en el ecosistema (p.6).

El autor nos hace mención que en la actualidad la contaminación por polímeros se ha ido incrementando de una forma muy acelerada, es por ello que muchos investigadores están haciendo estudios para hacer plásticos biodegradables gracias a los almidones y colágenos, pero tiene un notable costo de fabricación a comparación de los plásticos tradicionales en la actualidad.

Timón (2017), Se hizo un descubrimiento sobre la larva de cera negra es óptima para la biodegradación de plástico y así mismo dar un medio de solución a este gran problema que es el material de plástico. En la actualidad es muy difícil de erradicar este problema que causa daños en el planeta ya que su degradación es muy lenta (p.2)

Según lo investigado hubo un descubrimiento el gusano de cera negra puede degradar plástico ya que este es un gran problema mundial, es por ello que tiene una gran importancia para mitigar el polietileno ya que este se demora en degradarse de forma natural miles de años.

RTVE.es / EFE (2017), Según lo investigado por la revista, la larva de cera negra así mismo también llamados orugas o zánganos son considerados como una plaga para las colmenas de abeja ya que estas destruyen sus panales de estas abejas, y posteriormente se comen la miel y otros derivados de las abejas y estos viven como parásitos, pero algo que se pudo investigar es que son idóneos para la degradación de plástico (p.2).

Según lo publicado en la revista nos hace mención que los gusanos de cera negra son considerados como una plaga para las colmenas de abejas, ya que estos se comen la miel y destruyen el panal, pero estos gusanos tienen la capacidad idónea de degradar el plástico debido a su trato digestivo.

Velasco, (2017), Según su tesis describe sus tipos de características del coleóptero *Galleria mellonella* definiendo su tamaño que mide entre 0.6 o 0.7 mm, teniendo así 7 mudas primero es la fase de huevo y la última es fase pupa, su color puede cambiar de gris a gris muy intenso (p.7).

Velasco, (2017), También establece las condiciones térmicas adecuadas, así mismo se debe adquirir la temperatura perfecta en el cual este gusano de cera negra biodegrada de una forma más rápido los plásticos de menor magnitud. Exponiendo así al polietileno a dos temperaturas distintas (25° y 35°) manipulando un termohigrómetro, y así poder lograr una investigación concreta de la temperatura y humedad en determinado tiempo de 12 horas. La temperatura fue calibrada para las muestras A (25 C°) y B (35 C°) con una humedad de 62%” (p.23).

EL Lepidóptero *Gallería mellonella* es una de las larvas de cera negra que son biodegradadoras de plástico que son sometidas a una temperatura adecuada según a las condiciones térmicas para poder identificar cual es la temperatura eficaz para la aceleración de degradación de este Lepidóptero.

Revilla, (2018), En su proyecto de investigación obtuvo que a gran cantidad de volumen homogenizado derivado del contenido del tracto digestivo de las larvas de gusano de cera negra, siendo eficaz en la biodegradación del polietileno de menor consistencia de categoría 2 las cuales son las bolsas plásticas y también siendo eficaz en la biodegradación de polietileno de menor consistencia de categoría 1 que es el film, y asegurándose que en algunos casos las condiciones más adecuadas para trabajar se deben tener en cuenta con los volúmenes trabajados que son de 7.5 ml, 5ml, y 10ml (p.61).

La eficacia del volumen homogenizado del contenido del tracto digestivo de la larva de cera negra tiene que estar a una mayor densidad para la biodegradación de polietileno y trabajar con los volúmenes adecuadas para una mayor eficiencia de estas.

Manrique (2019) Nos dice que la degradación en sus propiedades de los microplásticos permanece exhibidos al medio, en sus circunstancias del clima y en el tiempo de degradación del material del plástico en un tiempo dado. La degradación se da por medios biológicos, físicos y químicos. (p.26)

La degradación del microplástico se da por la exposición del material al medio ya que se da por tiempo dado y afecta en sus propiedades.

Enríquez y Plaza (como se citó en Cubero, 2003) El autor hace mención que realizar mutaciones en insectos con rayos ultravioleta se obtiene una eficiencia máxima debido a que esta operación mutagénica trabaja ablandando los tejidos y se convierte en su medio favorito. Donde el autor concluyó que la radiación ultravioleta a una longitud de onda de 260 nanómetros es más eficiente debido a que se da mayor adsorción de ácidos nucleicos. (p.3)

Enríquez y Plaza (2012) En su investigación nos dice que trabajó con una muestra que es el tiempo de radiación ultravioleta donde se tomó en cuenta la variabilidad genética de cada insecto irradiado, logrando así afirmar antecedentes de diferentes autores donde se hace mención que la concentración de radiación es un factor muy influyente debido a que sin este no se puede obtener un resultado ya sea positivo o negativo. (p.38)

La autora nos confirma que los antecedentes de las mutaciones por rayos ultravioletas sí dan resultados, donde la irradiación y la concentración de radiación UV tienen un gran papel para la modificación genética en los insectos.

Gutiérrez (2014), Nos comenta que las bacterias celulíticas poseen genes que originan las celulasas y puede ser modificada con la luz ultravioleta, en su trabajo de investigación planteó estudiar los efectos de la radiación ultravioleta en el incremento de *Bacillus* sp. productor de celulasas, teniendo como resultados que la población de *Bacillus* sp. ha ido reduciéndose en un tiempo de 10 segundos a una exposición de 0 a 60 segundos con luz ultravioleta (p. 3).

Ciclo biológico del lepidóptero de *Galleria mellonella*

Lloret, (2006), El autor en su trabajo de investigación nos habla sobre el ciclo biológico de la *Galleria mellonella* donde pasa por cuatro etapas huevo, larva, pupa o crisálida y polilla. Su ciclo biológico depende mucho de las condiciones climáticas como la temperatura o humedad, esta larva tiene un ciclo biológico muy celerado de 8 a 9 semanas aproximadamente. En la fase adulta las polillas se encargan de poner sus huevos en las celdillas de las ceras para así poder continuar con su ciclo, dichas larvas son muy eficientes debido a que tienen un aparato masticador muy fuerte con la capacidad de formar túneles y galerías que las cubrirán con unas redes de seda.

Además, Lloret, (2006), Nos hace mención que las larvas recién nacidas son muy ágiles ya que se pueden trasladar a colonias vecinas sin ninguna dificultad, afirmando investigaciones de algunos autores que logran recorrer hasta 50 metros. Si las larvas se encuentran a una temperatura de 25 a 30° estas a los 38 días transcurridos se convertirán en crisálidas para ello buscarán un lugar apropiado que no tenga mucha iluminación y se enrollaran en un capullo que es la etapa de pupa esta durara un aproximado de 10 a 15 días y por último queda la etapa de polilla que se encargara de reproducirse y empezar nuevamente el ciclo biológico de la larva *Galleria mellonella*. Cabe recalcar que el macho adulto cumple la función de captar feromonas expulsadas por las hembras. (p.21)

En el ciclo biológico del lepidóptero de cera negra nos podemos dar cuenta que primero se encuentran en fase de huevo, después de unos días más pasan a estado de larva y posteriormente a enrollarse en un capullo de seda para convertirse en crisálida en este ciclo la función de la hembra es colocar el huevo en las celdillas de la cera.

Además, REVILLA (como se citó en LLORET, 2006), nos comenta en su trabajo de investigación que las larvas de *Galleria mellonella* se alimentan de polen, miel y cera es por ello que son consideradas como una plaga que destruye los panales de abejas ya que estas larvas son intrusas de las colmenas logrando así hasta destruir su hogar. (p.13)

La polilla de cera negra es una plaga que puede terminar con las colmenas de abejas ya que estas se alimentan de miel, polen, y cera de estas; también puede afectar en la economía de los apicultores ya que estos se sustentan en la venta de los productos obtenidos gracias a las colmenas de abejas.

Polietileno biodegradación por las orugas de la polilla de cera *Galleria mellonella*

Bombelli, Howe y Betocchini (2017), En su revista habla sobre nuevas técnicas de biodegradación de PE por medio de la larva *Galleria mellonella*, también conocida como cera negra o ocio de la familia de Lepidóptera. Estos autores expusieron una muestra de plástico de baja densidad (bolsa de supermercado) a un grupo de 100 larvas de *Galleria mellonella* de forma directa en el transcurso de 40 min ya había una diferencia en la muestra de plástico mostrándose con un intervalo de 2.2 a 1.2 orificios por cada larva expuesta a la muestra en promedio total por hora, dejando actuar por un total de 12 horas y logrando así un resultado de biodegradación por dichas larvas de 92 mg. (p.3)

En esta revista no habla sobre la biodegradación de PE por la larva de *Galleria mellonella* que ponen a prueba sobre una cantidad específica de PE sobre un determinado tiempo con una cantidad específica de estas larvas para poder ver así su eficiencia y cuanto mg de PE degradan en el tiempo específico que se le pone a prueba.

Efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella*

Marquina, R., y Carbajal, W. (2017). En esta revista científica nos hace mención que un factor muy importante para el ciclo biológico de la larva *Galleria mellonella* es su temperatura ya que a mayores temperaturas el ciclo biológico durara menos días y a menores temperaturas o extremadamente frías demorara en reproducirse en cada etapa, concluyendo que la temperatura optima para estas larvas es en calor o en primavera, estas larvas no necesitan de mucha ventilación o iluminación se alojan en panales enfermizos, por ello se considera una plaga para los panales de abejas. (p.2)

La temperatura es muy importante para el desarrollo de *Galleria mellonella* ya que si estas no se encuentran en lugares cálidos pueden morir o no desarrollarse de manera óptima. También se dice que estas son enemigas de las colmenas ya que causan daños a la fase larvaria.

Factores que condicionan la polilla grande de la cera

Lloret, (2006), en su investigación nos dice que los factores esenciales para el ciclo de la larva *Galleria mellonella* son los siguientes temperatura, humedad y alimento. La temperatura ideal para desarrollarse es de 30 a 35 °C y una humedad de 75 a 85% considerando el aire, respecto a su alimentación estas se alimentan de miel polen y cera. En estas condiciones la duración de su ciclo biológico será de 7 a 8 semanas aproximadamente.

Además, Lloret, (2006), Nos dice que si se alteran algunos de los factores mencionados la duración del ciclo biológico puede variar, estas variaciones pueden ser producidas por la misma colmena o ya sea por el hombre. (p.21)

Los factores esenciales para el acondicionamiento adecuado del crecimiento de la larva de la polilla de cera negra son las temperaturas, humedad y el alimento ya que sin ellos pueden ocasionar bastantes daños en el acondicionamiento y esto se da dentro de las colmenas de abejas.

Eficiencia

Revilla (como se citó en Cerda, 2010), en su artículo nos dice que son los productos adquiridos en intereses de desarrollo, donde se crea una cavidad de los sujetos debido a la eficiencia basándose en esfuerzo en este caso por la polilla de cera negra (p.15)

Biodegradación de polietileno por orugas

Weber, Puschy y Opatz, (2017) En el artículo nos hace mención sobre absorbancia infrarroja donde consiste en desintegrar el polietileno, lo cual el autor trabajó con 1 cm a 3.300 cm producido por etilenglicol, cuando se habla de caracteres infrarrojos se deduce que son producidos por el contra proteico en la muestra del polietileno.

Otro argumento sería por la rugosidad superficial que se le aplicó al tratamiento de la polilla de cera negra. (p. 1)

En el artículo los autores nos mencionan que la absorbancia infrarroja para la desintegración del polietileno es de 1cm a 3.300 cm, pero esto se hace posteriormente a partir del tratamiento con las polillas de cera negra.

Degradación biológica

Revilla (como se citó en Frías, [ét al], 2003) en su artículo nos hace referencia que trabajar con organismos vivos para degradar plástico existe una concordancia a un modelo de degradación sintética potente relacionada con la parte microbiana debido a que estos organismos vivos producen su propia enzima la cual cuenta con la capacidad de degradar polímeros ya sea de alta, mediana o baja calidad siendo de origen natural o artificial. (p.15)

La degradación biológica nos da entender que es la capacidad de degradar cualquier tipo de polímero gracias a que microorganismos elaboran enzimas que puedan degradarlos y poder controlarlos.

La formulación del problema de esta presente investigación fue la siguiente ¿Cuál es el efecto de la radiación ultravioleta (UV) en la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad (PEBD) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria mellonella*?

La justificación de llevar a cabo este proyecto de investigación fue de que el plástico en la actualidad es un problema a nivel mundial que causa mucho daño a los diferentes factores ambientales contribuyendo a la acumulación de carbono en la atmósfera, así mismo existen muchas alternativas de solución ya sea reciclar o métodos tradicionales de transformación, pero se trabaja muy poco con biodegradación por organismos vivos por ejemplo con larvas que tienen sus propias enzimas degradadoras de plástico, esto fomentando utilizar nuevas alternativas de solución ante esta problemática.

Existen estudios donde muestran que el mundo microbiano e insectil están cumpliendo un papel muy importante ya que pueden biodegradar plásticos de

diferentes densidades baja, media y alta calidad, gracias a unas enzimas que producen su propia microflora en la biotransformación. Esto se convierte en una solución para largo plazo y formar parte del componente inorgánico del agua o de un suelo logrando así disminuir los contaminantes que están sometidos los diferentes tipos de ecosistemas causados por la humanidad.

La finalidad de este proyecto de investigación es ver la eficiencia de biodegradación utilizando la radiación ultravioleta de las bacterias presentes en el intestino de las larvas *Galleria mellonella* logrando así reducir el plástico a través de la biodegradación siendo más rápida por parte de estos grupos microbianos que se encuentran en las larvas insectiles.

La hipótesis alternativa planteada fue la siguiente, H1: Las bacterias de la larva de *Gallería mellonella* sometidas a radiación ultravioleta conseguirán incrementar su capacidad degradadora de plástico; y la hipótesis nula planteada es, Ho: Las bacterias de la larva de *Galleria mellonella* sometidas a radiación ultravioleta no conseguirán incrementar su capacidad degradadora de plástico.

El objetivo general planteado fue el de Estudiar el efecto de la radiación ultravioleta (UV) en la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad (PEBD) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria mellonella* y dentro de los objetivos específicos tenemos:

- Aislar en medios de cultivo los géneros bacterianos presentes en el contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella* con capacidad biodegradadora de plástico.
- Identificar mediante el análisis macro, microscópico y bioquímico de los géneros bacterianos biodegradadoras de plástico.
- Comparar las larvas de *Galleria mellonella* inoculadas en la parte cloacal con bacterias irradiadas y su grupo control en el proceso de degradación del plástico.

II. METODOLOGÍA

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.1.1. Tipo de investigación.

El presente proyecto de investigación es de tipo exploratoria – Experimental, ya que no se encuentran investigaciones preliminares con respecto a estudios de modificaciones con radiación ultravioleta (UV), en larvas *Galleria mellonella*, es por ello que no se cuenta con mucha información respecto al tema. La investigación exploratoria consiste en estudiar diversos problemas que no se encuentran con mucha información trabajada para así poder llevar a cabo estas investigaciones hacer más profundas y concluyentes.

2.1.2. Diseño de investigación.

Este diseño de investigación es de tipo experimental, puesto que las larvas *Galleria mellonella* se consideraron 2 grupos de 10 individuos con tres repeticiones y un grupo control previamente desinfectados superficialmente, las bacterias extraídas del contenido intestinal se sometieron a un proceso de irradiación ultravioleta (UV) con longitud de onda de 200 nm.

2.2. Variables, operacionalización

2.2.1. Variable dependiente: Incrementar la capacidad biodegradadora de plástico.

2.2.2. Variable independiente: Modificación de larvas *Galleria mellonella* con radiación ultravioleta (UV).

2.3. Población, muestra y muestreo

2.3.1. Población.

Se trabajo con una población de 100 larvas de *Galleria mellonella*.

2.3.2. Muestra.

El número de individuos de la muestra estará representado por 10 larvas de *Galleria mellonella*.

2.3.2. Muestreo.

Se hizo uso de 2 grupos de 10 individuos con tres repeticiones y un grupo control de *Galleria mellonella*.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

2.4.1. Técnicas.

Observación: El experimento nos permitió distinguir la acción del sujeto sobre el objeto.

2.4.2. Instrumentos de recolección de datos.

- Agenda de apuntes
- Cámara fotográfica
- Caja de radiación ultravioleta
- Estufa
- Autoclave
- pH- metro
- Agares
- Jeringas, pipetas, placas, láminas, entre otros.

Registro de la modificación genética de larvas *Galleria mellonella*: Este instrumento se utilizó para verificar de qué manera la radiación ultra violeta consigue modificar el material genético de la larva de *Galleria mellonella*.

Cuadro para identificar el incremento de la capacidad biodegradadora del plástico: Este instrumento se utilizó para verificar el incremento de la capacidad biodegradadora del plástico.

2.4.3. Validez y Confiabilidad.

El mencionado proyecto utilizó el método cuantitativo directo, realizándose cálculos para medir la eficiencia en relación al peso inicial (Pi) y peso final (Pf) del polietileno de baja densidad (PEBD) en contacto con las larvas de *Galleria mellonella* cuyo contenido intestinal tienen bacterias modificadas con radiación ultravioleta (UV) la que llamamos tratamiento. Dichas pruebas se realizaron en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad Cesar Vallejo.

2.5 Procedimiento

2.5.1. Recolección de larvas de *Galleria mellonella*.

Se procedió a recolectar larvas de *Galleria mellonella* de la zona apícola de Illimo con una edad promedio de 5 – 8 días, se procedió a llevar la cera con los huevos hasta el invernadero donde se condicionaron para su uso posterior.

2.5.2. Invernadero.

Las larvas fueron alimentadas con miel de abeja y Cera negra, los mismos que se acondicionaron en pequeños invernaderos hechos a base de táper de plástico a una temperatura de 30° C con la finalidad de que se generen pupas y luego emerjan los adultos, los mismos que depositarán sus huevos y de estos saldrán las larvas objeto del presente estudio.

2.5.3. Laboratorio.

Primera etapa

Se llevaron las larvas de *Galleria mellonella* en una refrigeradora a 4°C por espacio de 30 minutos.

Se desinfectó las larvas, en una solución de etanol al 95% en un tiempo de 1 minuto.

Las larvas fueron colocadas en una placa Petri cuyo fondo tenían una cartulina negra sobre la cual se realizó la disección, utilizando estiletes en forma de agujas de insulina se procedieron a realizar cortes ventrales y transversales desde la zona anal y la zona cefálica. El contenido digestivo fue extraído cortando la región

anterior y posterior del sistema intestinal con el fin de separarlo del resto del cuerpo de la larva.

Finalmente se procedió a homogenizar el contenido intestinal en una placa Petri que contenía 5 ml de solución salina fisiológica estéril.

Preparación de Agar Mc Conkey y Agar Nutritivo, se procedió a pesar 2.5 gramos de los mismos que fueron disueltos en 90 ml de agua destilada estéril, con ayuda de una cocina eléctrica se procedió a disolver el Agar, luego se enfrió con ayuda del agua de caño, posteriormente se midió el pH ajustándolo hasta 7, el matraz conteniendo el medio de cultivo se esterilizó usando la autoclave considerando la temperatura de 121° C una atmósfera de presión y 15 minutos de tiempo; finalmente el medio se vertió en dos placas Petri estériles para su uso posterior .

Aislamiento bacteriano de la suspensión intestinal, con la ayuda del asa bacteriológica se procedió a sembrar en una placa petri con agar MacConkey y agar nutritivo por la técnica del agotamiento por estría posteriormente se llevó a estufa a una temperatura de 37° C por espacio de 24 horas.

Identificación macro y microscópica, las colonias que crecieron en la parte superficial del Agar Mac Conkey y Agar Nutritivo con la ayuda de una lupa se procedió a caracterizarlas en relación a su forma, color, aspecto, tamaño, etc.

Para la identificación microscópica tomamos con el asa bacteriológica una parte de la colonia y lo extendemos en una lámina porta objetos para posteriormente realizarle la coloración Gram para luego ser llevada al microscopio y observarlo con el objetivo de 10x y 100x haciendo uso del aceite de inmersión donde se puede identificar la forma y la afinidad tintórea de la bacteria.

Pruebas bioquímicas para confirmar el género de las bacterias aisladas del intestino de *Galleria mellonella* se procedieron a realizar las pruebas bioquímicas, Catalasa, Oxidasa, Agar TSI (Agar Triple Azúcar Hierro), Agar LIA (Agar Lisina Hierro), Agar Citrato de Simons.

Segunda etapa

Irradiación con luz ultravioleta

Se colocó una muestra de las colonias identificadas en cada placa con Agar Nutritivo y se procedió a irradiarlo por 1, 2 y 4 minutos, respectivamente utilizando una lámpara de luz ultravioleta (fluorescente marca OSRAM HNS FOR, de luz UV-C con longitud de onda de 200 nm) a 40 cm de distancia; con una placa testigo sin irradiar.

Se tomaron dos azadas por cada placa irradiada con colonias bacterianas y se suspendieron en un tubo de ensayo de 17 x 100 que contenía solución salina fisiológica.

Inoculación de la suspensión bacteriana irradiada en la zona cloacal de la larva de *Galleria mellonella*.

Con la ayuda de una jeringa de insulina se procedió a inocular 5 ul de la suspensión de *Enterobacter* sp. irradiada en la parte posterior de 10 larvas *Galleria mellonella* en 3 repeticiones en la zona cloacal, teniendo cuidado de no dañar esta región y evitar con esto la muerte de las mismas.

Se consideraron dos grupos control de 10 larvas *Galleria mellonella* cada uno.

Tercera etapa

Las muestras de polietileno de baja densidad (PEBD), se llevaron a pesar utilizando la balanza analítica haciendo un peso de 1.9 gramos para los tres grupos, antes de aplicar el tratamiento de biodegradación con las larvas de *Galleria mellonella*.

La biodegradación del plástico por parte de las larvas cuyo contenido intestinal lleva las bacterias modificadas por radiación ultravioleta se determinó mediante el porcentaje de peso perdido del plástico en un lapso de tiempo de 7 días. Donde las muestras volvieron a ser pesadas anteriormente y posteriormente al tratamiento.

Se aplicó el método cuantitativo para estimar las muestras biodegradadas de Polietileno de baja densidad (PEBD).

2.6 Método de análisis de datos

La información generada en el laboratorio se procesó con el uso de Microsoft y Excel 2013, teniendo como finalidad efectuar los análisis estadísticos.

2.7 Aspectos éticos

Dichos información obtenida en laboratorio estuvieron almacenados de forma discreta, también se pudo obtener nuevos conocimientos por parte de la información adquirida de trabajos relacionados y asesoramiento técnico, así mismo este proyecto de investigación consiste en la biodegradación de plástico con el uso de bacterias irradiadas con ultravioleta (UV), y después inoculadas en larvas de *Galleria mellonella*, citando a los autores de manera pertinente.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. RESULTADOS

Objetivo: Aislar en medios de cultivo los géneros bacterianos presentes en el contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella* con capacidad biodegradadora de plástico.

Según el procedimiento aplicado se logró obtener el aislamiento de géneros bacterianos del contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella* a través de medios de cultivo de Agar Mc Conkey, Agar Nutritivo y Triple Soy Agar. Para ello previamente las larvas fueron desinfectadas colocándolas en una nevera a una temperatura de 4°C por un espacio de 30 minutos y en una solución de etanol al 95% por un tiempo de un 1 minuto. Después de esto se continuo a hacer la disección de su contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella*, para poder así sembrar su contenido intestinal en los cultivos antes mencionados, para concluir el procedimiento se llevó a la estufa a una temperatura de 37° C por espacio de 24 horas.

Objetivo: Identificar mediante el análisis macro, microscópico y bioquímico de los géneros bacterianos biodegradadores de plástico.

Gracias al proceso de aislamiento en medios de cultivo de los géneros bacterianos, se pudo lograr identificar los análisis macro, microscópico y bioquímico de los géneros bacterianos biodegradadores de plástico. En los análisis antes mencionados se demostró que:

En el nivel Macro: En este nivel se pudo identificar características como familias de colonias de color blanco, que fueron identificadas a simple vista sin ayuda de ningún instrumento óptico complejo.

En el nivel Microscópico: En este nivel se utilizó el método aleatorio para la selección de diversas familias, aplicando el procedimiento de coloración Gram, por consecuente se logró identificar las bacterias *Enterobacter* sp y *Bacillus* sp las cuales tienen una particularidad en sus características, que son de color rojo y color morado.

En el nivel bioquímico: En este nivel se realizaron pruebas bioquímicas como el Agar TSI (Agar Triple Azúcar Hierro), Agar LIA (Agar Lisina Hierro), Agar Citrato de Simons y la prueba de peróxido de hidrogeno, que son Catalasa y Oxidasa, con la obtención de sus resultados se pudo reafirmar que existen bacterias *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp.

Objetivo: Comparar las larvas de *Galleria mellonella* inoculadas en la parte cloacal con bacterias irradiadas y su grupo control en el proceso de degradación del plástico.

De acuerdo al objetivo planteado sobre las lavas de *Gallería mellonella* inoculadas con bacterias irradiadas y el grupo control, se pudo determinar los siguientes resultados:

Tabla 1. Gráfico de larvas inoculadas con bacterias irradiadas.

	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Bacillus sp</i>
P. I	1.9 g	1.9 g
P. F	1.11 g	1.15 g
P. I	1.9 g	1.9 g
P. F	0.89 g	1.12 g
P. I	1.9 g	1.9 g
P. F	1.78 g	1.84 g

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: De acuerdo a las bacterias irradiadas *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp se establecieron tiempos de 1 minuto, 2 minutos y 4 minutos en estudio las cuales fueron inoculadas en larvas *Galleria mellonella*; se trabajó con dos grupos de tres repeticiones, donde cada grupo constaba de un peso inicial (PI) y un peso final (PF). En los grupos inoculados se determinó que, en el tiempo de irradiación de cuatro minutos no es recomendable realizar este procedimiento ya que dichas bacterias no son compatibles al momento de ser inoculadas en las larvas de *Galleria mellonella*, causando su muerte.

En relación al tiempo de irradiación de las bacterias se determinó que, el tiempo eficiente en dicho estudio fue de dos min debido a que dichas larvas fueron más resistente al momento de ser inoculadas de tal manera que logro degradar de manera eficaz la muestra del plástico.

Tabla 2. *Gráfico de grupo control.*

	Grupo control 1	Grupo control 2
P. I	1.9 g	1.9 g
P. F	1.16 g	1.23 g

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Tras la evaluación del grupo control junto con las larvas de *Galleria mellonella* que fueron inoculadas con bacterias irradiadas; se determinó que existe un efecto relevante en las larvas inoculadas ya que logro degradar más muestra de plástico eficientemente a diferencia que las del grupo control, teniendo en cuenta los tiempos de irradiación.

Objetivo general: Estudiar el efecto de la radiación ultravioleta (UV) en la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad (PEBD) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria mellonella*.

Se logró estudiar el efecto de la radiación ultravioleta (UV) en la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad(PEBD) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria mellonella*, mediante el procedimiento realizado, el cual me determino que los tiempos de irradiación es un factor el cual influye en la inoculación de las larvas *Galleria mellonella* debido a que al darle mucho tiempo de irradiación a las bacterias estas al momento de ser inoculadas causaron la muerte de dichas larvas de tal manera que afecto la capacidad de biodegradar el plástico, mientras que al trabajar a menor tiempo de irradiación en las bacterias se obtuvo resultados eficientes en la biodegradación del plástico.

3.2. DISCUSIÓN

En el trabajo de investigación de Velasco, (2017), el método que utilizó para su proyecto fue insertar larva de *Galleria mellonella*, con diferentes temperaturas logrando determinar la eficiencia al momento de biodegradar el polietileno de baja densidad, usando un diseño experimental mediante el cual se manejó la variable dependiente (polietileno de baja densidad) logrando ver la medida exacta de la muestra de bolsas biodegradadas a través del uso del lepidóptero.

Al igual que los trabajos de los autores ya mencionados en mi proyecto de investigación también se usó un diseño experimental - exploratorio, el muestreo fue por conveniencia y la muestra fue el número de individuos que estará representado por 10 larvas de *Galleria mellonella*.

Los autores mencionados en líneas anteriores, estudiaron el efecto de la radiación ultravioleta (UV) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria mellonella* mediante el método de inoculación y radiación determinando la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad (PEBD).

Revilla, (2018), en su trabajo de investigación nos menciona la eficiencia se obtuvo en la aplicación de la fórmula mediante su cálculo $W. PLASTICO (P_i - P_f / P_f \%)$. Dichos resultados nos mostraron que existe biodegradación. Los promedios obtenidos fueron en una muestra de 20cm X 10 cm con el volumen de 5 ml de tratamientos fue de 0,64% con el volumen de 7,5 ml de tratamiento fue de 3,36% y con el volumen de 10ml fue de 9,79% lo que representó un promedio parcial de 4,60%, el promedio de eficiencia de la biodegradación de film, mayor evidenciándose con 5 ml se puede biodegradar con una eficiencia de 9,70 %, con 7,5 ml fue de 11,02% y con 10ml fue 16,13% obteniendo como promedio parcial 12,28% indicando así que a un volumen superior en el tratamiento existe mayor eficacia y a la vez el film se puede biodegradar más rápido diferencia de los polietilenos de baja densidad que demoran en biodegradarse.

Gutiérrez (2014) nos da a conocer en su trabajo de investigación la consecuencia de la radiación de ultravioleta, sobre el incremento de *Bacillus sp* productor de celulosa al igual que nuestro trabajo; donde ella manifiesta que colocó 1.5 cm de agar carboximetilcelulosa 1% (CMC) y se realizó una suspensión de solución salina

fisiológica estéril para poder ser irradiada con luz ultravioleta a 44cm de distancia con 6 repeticiones de 10, 20, 30, 40,50 y 60 s mediante el método de incorporación de agar (CMC), siendo incubado a una temperatura de 37°C por 24 horas pasado este tiempo. Posteriormente los resultados fueron expresados por gráficos en Excel, teniendo en cuenta el tiempo de exposición, estableciendo que la radiación UV tiene un efecto bactericida, por la reducción de la población bacteriana dependiendo del tiempo de irradiación, pudiéndose lograr el 0.1% de sobreviviente, probablemente mutados, fue de 40 segundos (p. 4).

En lo que respecta a mi trabajo de investigación, las bacterias irradiadas *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. se sometieron a diferentes tiempos en estudio 1 minuto, 2 minutos y 4 minutos las cuales fueron inoculadas en larvas *Galleria mellonella*; se trabajó con dos grupos de tres repeticiones, donde cada grupo constaba de un peso inicial (PI) y un peso final (PF). En los grupos inoculados se determinó que, en el tiempo de irradiación de cuatro minutos no es recomendable realizar este procedimiento ya que dichas bacterias no son compatibles al momento de ser inoculadas en las larvas de *Galleria mellonella*, causando su muerte.

Con respecto al tiempo de irradiación de las bacterias se determinó que, el tiempo eficiente en dicho estudio fue de dos min debido a que dichas larvas fueron más resistente al momento de ser inoculadas de tal manera que logro degradar de manera eficaz la muestra del plástico y que tras la evaluación del grupo control junto con las larvas de *Galleria mellonella* que fueron inoculadas con bacterias irradiadas; se determinó que existe un efecto relevante en las larvas inoculadas ya que logro degradar más muestra de plástico eficientemente a diferencia que las del grupo control, teniendo en cuenta los tiempos de irradiación.

IV. CONCLUSIONES

1. En conclusión, con el primer objetivo específico se logró el aislamiento de los géneros bacterianos del contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella* a través de medios de cultivos de los Agar Mc Conkey, Agar Nutritivo y Triple Soy Agar, pudiendo observar que estos organismos se pueden adecuar en cualquier ambiente.
2. En conclusión, con el segundo objetivo específico se realizó las pruebas bioquímicas realizando los análisis macro, microscopio y bioquímico de los géneros bacterianos biodegradadores de plástico aislados en el contenido intestinal de larva *Galleria mellonella*, logrando así identificarlas bacterias *Enterobacter* sp. Y *Bacillus* sp.
3. Por último, en la comparación de las larvas *Galleria mellonella* inoculadas en la parte cloacal con bacterias irradiadas y el grupo control se pudo determinar que los grupos inoculados con el tiempo de irradiación de cuatro minutos no es recomendable ya que causa la muerte de estas larvas, teniendo así que el tiempo eficiente de irradiación es de dos minutos debido que estas larvas fueron más resistentes al momento de inocularlas y siendo más eficaz en la degradación de la muestra de plástico. Así mismo tras la evaluación del grupo control y las larvas inoculadas con el tiempo de irradiación de dos minutos, se mostró un efecto relevante en las larvas inoculadas ya que logro degradar la muestra de plástico más eficientemente a diferencia del grupo control.

V. RECOMENDACIONES

1. Para poder lograr tener un ambiente saludable y armonioso se debe llevar acabo muchos procesos extensos para el cumplimiento de normas y leyes que pueden hacer el cumplimiento del cuidado del ambiente por parte de las autoridades competentes de cada lugar, para así poder proteger y hacer que se respete los derechos de la población conjuntamente estar en armonía con el ambiente, pudiendo así poder hacer un monitoreo seguido sobre las contaminaciones por residuos sólidos para poder así velar por las generaciones futuras.
2. Teniendo en cuenta que para poder realizar este proyecto de investigación se tuvo mucho cuidado al momento de trabajar con bacterias aisladas en el contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella*. También se tuvo cuidado al momento de hacer la radiación ultravioleta a las bacterias y ser muy cuidadosos al momento de inocular las bacterias en las larvas.
3. Se pudo confirmar que las bacterias aisladas en el contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella* son degradadoras de plástico, siendo así una producción ecológica para hacer aprovechada en la minimización de polietileno de baja densidad.
4. Es recomendable realizar análisis genético a las bacterias para poder observar cuál es su estructura molecular ya que por falta de tiempo no se logró realizar este análisis.

REFERENCIAS

ARCINIEGA, Ilse. Aislamiento de microorganismos degradadores de tereftalato de polietileno (PET) en medio ambiente combinado. Tesis (Ingeniero en Biotecnología).

México, D.F: Instituto Politécnico Nacional de México, 2008. Disponible en <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/14439/ProyectoFinal.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ARANEDA Ximena, GRANDON Elizabeth, ESCOBAR Paul y BARAHONA José. Evaluación de la viabilidad de huevos de abeja *Apis mellifera* L. sometidos a radiación ultravioleta. *Idesia* [en línea]. Enero - abril 2011. Volumen 29. Disponible en https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292011000100007%20Importante

ISBN: 0718-3429

ENRIQUEZ, Carlos y PLAZA, Cindy. Inducción de la resistencia de *Ipomea batatas* (L) Lam. var. 9 a mosca blanca (*Bemisia tabaci*) usando radiación ultravioleta. (Licenciado en Biología). Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Perú, 2012. Disponible en <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/790/BC-TES-3574.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

GALVIS Juan, QUIÑONES Roberto y JIMÉNEZ Pedro. Aislamiento de microorganismos del tracto digestivo de larvas de coleópteros y lepidópteros detritívoros y evaluación, in vitro, de su efecto antagónico de una cepa de *Fusarium oxysporum* [en línea]. Volumen 5. Universidad de Nueva Granada, 2009. Disponible en <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/view/2124/1663>

ISBN: 1900-4699

GALVIS Juan, QUIÑONES Roberto y JIMÉNEZ Pedro. Aislamiento de Microorganismos del Tracto Digestivo de Larvas de Coleópteros y Lepidópteros Detritívoros y Evaluación, In Vitro, de su Efecto Antagónico en una Cepa de

Fusarium oxysporum. Editorial Neogranadina [en línea], 2009. Volumen 5. Disponible en <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/view/2124>
ISBN:1900-4699

GUTIÉRREZ Evelin. Efecto de la radiación ultravioleta sobre el crecimiento de *Bacillus* sp. Productor de celulasas. Tesis (Biólogo- Microbiólogo). Perú: Universidad Nacional de Trujillo, 2014. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4095/Guti%C3%A9rrez%20Castro%20Evelin%20Katia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

LLORET I, Mar. El ciclo biológico de la polilla grande de la cera. Trabajo de investigación de Bachillerato. IES Escola Municipal del Treball Granollers, 2006. Disponible en <http://www.galanthus.cat/Web%20galleria/portada/tdrvcast.pdf>

MANRIQUE, Rubén. Microplásticos en sedimentos fluviales de la cuenca baja y Desembocadura del río Jequetepeque. (Magister en Química). Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, 2019. Disponible en http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/15030/MANRIQUE_MU%C3%91ANTE_RUB%C3%89N_MICROPL%C3%81STICOS_SEDIMENTOS_FLUVIALES.pdf?sequence=1&isAllowed=y

REVILLA, Sandra. Eficiencia del homogenizado proveniente del tracto digestivo de la *Galleria mellonella* en la biodegradación de dos tipos de polietileno de baja densidad. Tesis (Ingeniero Ambiental). Lima: Universidad Cesar Vallejo, 2018. Disponible en: <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/20217?locale-attribute=es>

RODRIGUEZ Lenin, RODRIGUEZ Luz y PIGNATARO Gabriela. Efecto de la radiación UV en la inactivación genética del esperma de botete diana *Sphoeroidesannulatus*. Ciencias Marinas [en línea]. Marzo 2004. Volumen 30. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/ciemar/v30n3/v30n3a2.pdf>
ISBN: 391-402

RODRIGUEZ Lenin, IBARRA Luz y IGNATARO Gabriela. Efecto de la radiación UV en la inactividad genética del espermatozoide de botete diana *Spherooidesannulatus*. Ciencias Marinas [en línea], marzo de 2003, Vol. 30, No. 3. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/ciemar/v30n3/v30n3a2.pdf>

VELASCO, Miguel. Biodegradación del polietileno de baja densidad, mediante el uso del lepidóptero *Gallería mellonella* bajo condiciones térmicas controladas. Tesis (Ingeniero Ambiental). Lima: Universidad César Vallejo de Perú, 2017. Disponible en <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/12614>

ANEXOS
Anexo 01

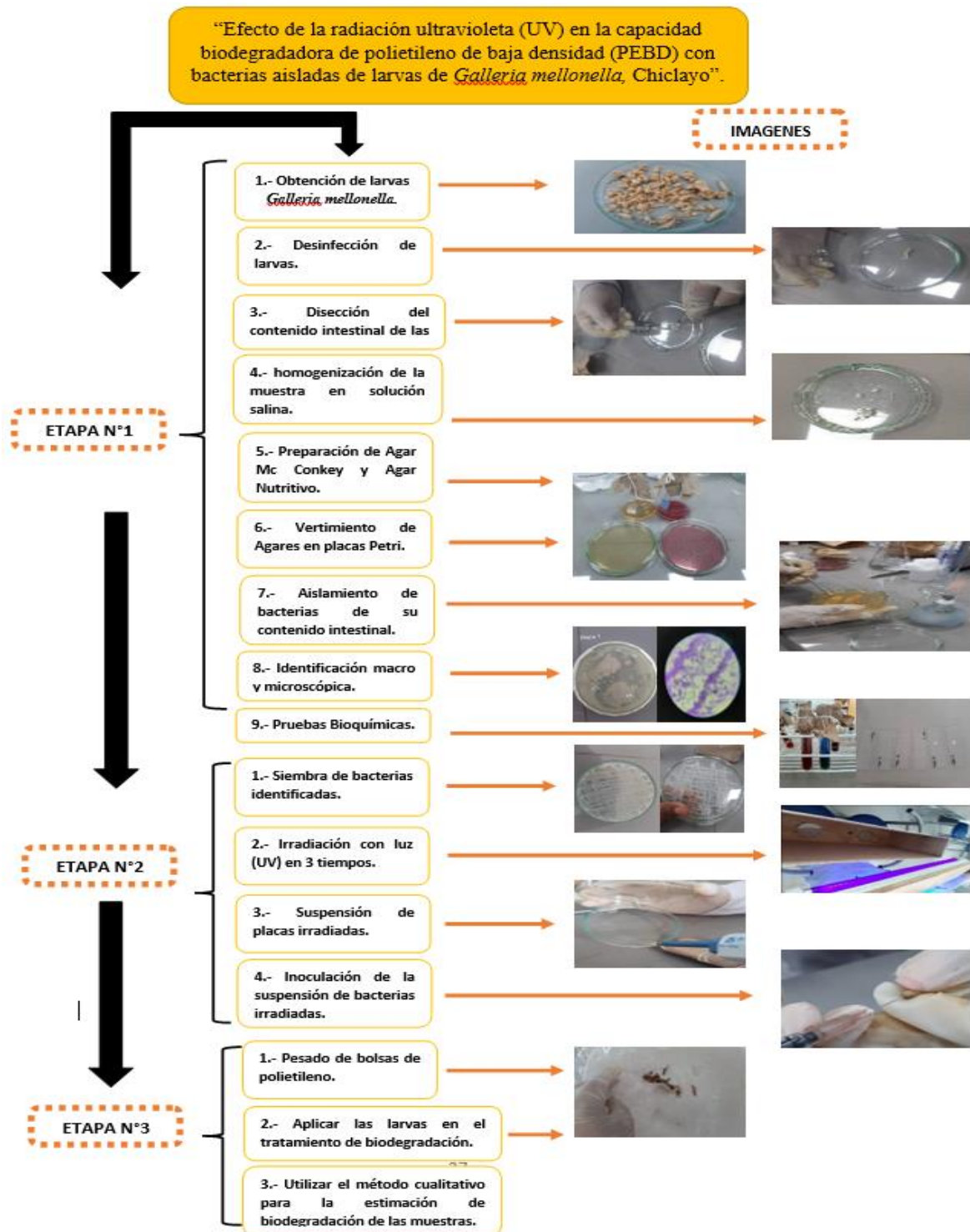
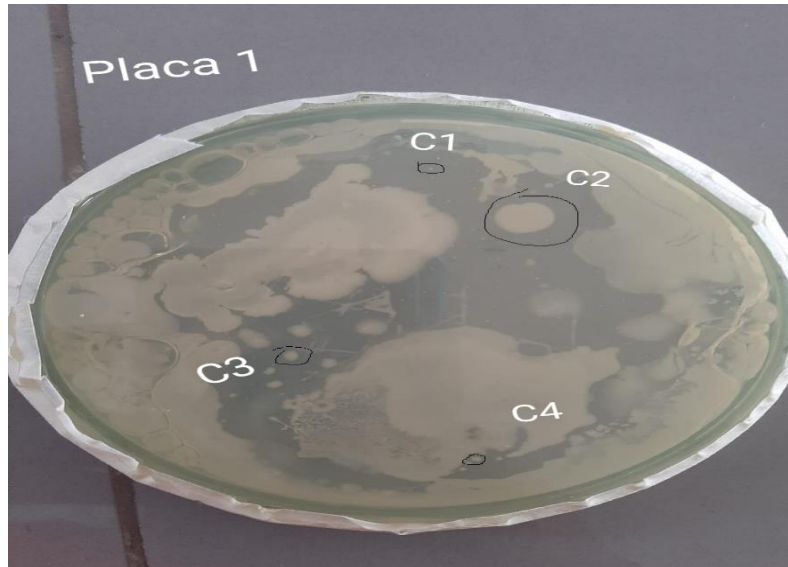


Diagrama de flujo



Crecimiento de los géneros bacterianos en agar nutritivo.

Fuente: Elaboración propia



Aislamiento de bacterias del contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella*.

Fuente: Elaboración propia



Pruebas bioquímicas para la confirmación de las bacterias aisladas.

Fuente: Elaboración propia



Irradiación de luz ultravioleta a las bacterias.

Fuente: Elaboración propia



Inoculación de las bacterias irradiadas a las larvas *Galleria mellonella*.

Fuente: Elaboración propia

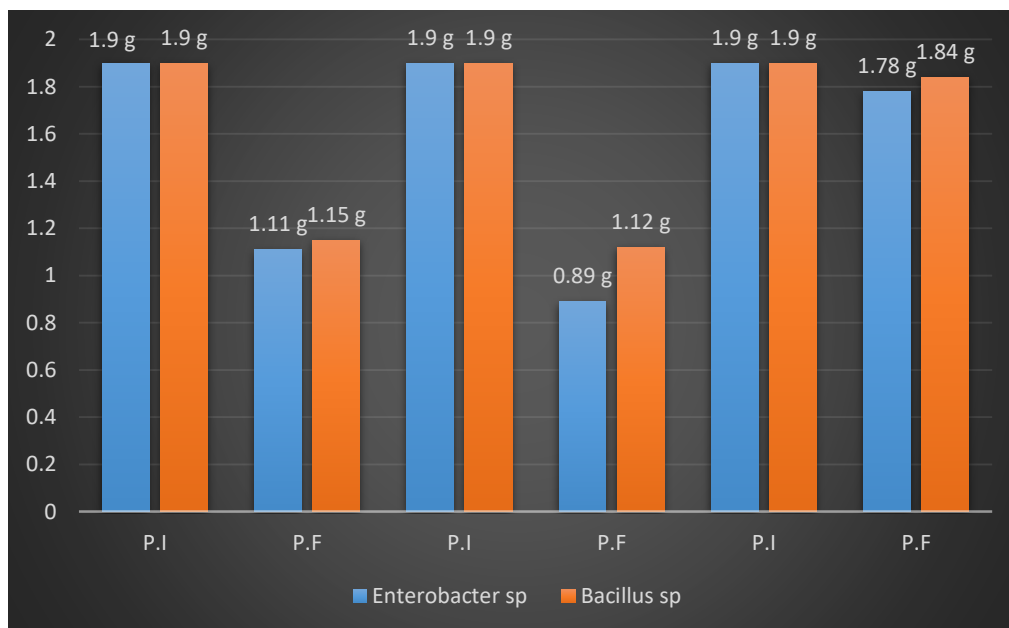


Gráfico de larvas inoculadas con bacterias irradiadas.

Fuente: Elaboración propia

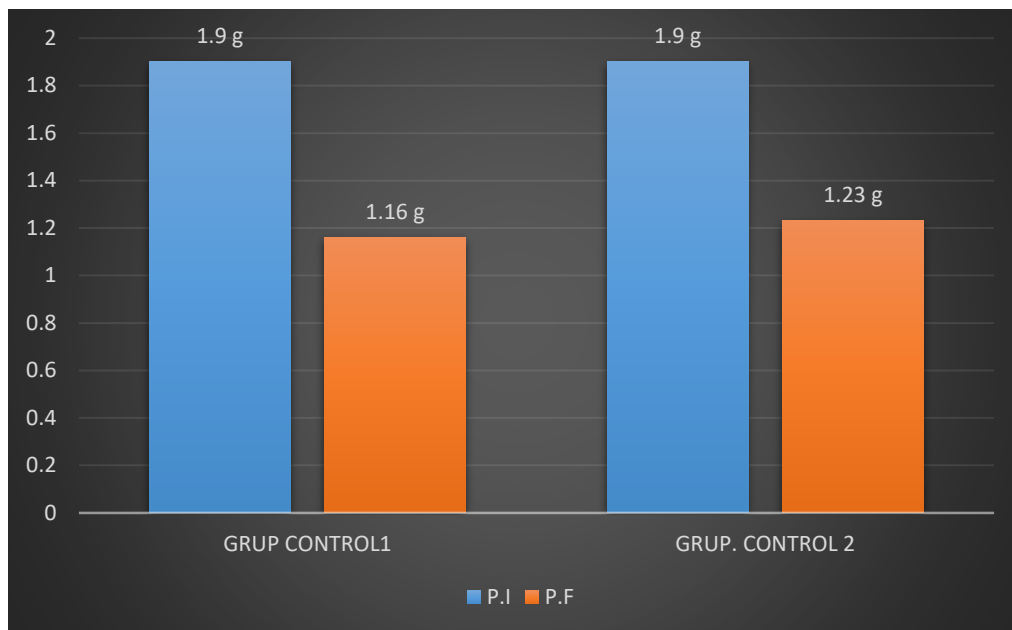


Gráfico de grupo control.

Anexo 02. Operacionalización de variables.

Efecto de la radiación ultravioleta (UV) en la capacidad biodegradadora de polietileno de baja densidad (PEBD) con bacterias aisladas de larvas de *Galleria mellonella*, Chiclayo

Fuente: Elaboración propia

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición	Fuente de verificación
Incrementar la capacidad biodegradadora de plástico	El incremento de la capacidad Biodegradadora de plástico es el término utilizado para indicar a los microorganismos que degradan un material que contiene polietileno de baja densidad (PEBD) en un corto tiempo	La Incrementación de la biodegradación de plástico se da mediante pruebas gravimétricas para estimar el peso del plástico antes y después del tratamiento.	Estimación del peso	Gramos	Balanza
Efecto de la radiación ultravioleta (UV) en bacterias aisladas de las larvas de <i>Galleria mellonella</i>	Los rayos ultravioletas (UV) son los que le dan una eficacia máxima para la obtención de mutaciones. La habilidad de conducción, su compra libre, las adecuadas fuentes instaladas y la facilidad de estas, su operación mutagénica en los tejidos blandos de los insectos es su medio favorito. Su mayor eficiencia le corresponde a la longitud de onda de 260 nanómetros	La modificación genética de las bacterias aisladas de Larvas <i>Galleria mellonella</i> por radiación ultravioleta se dará a una longitud de onda de 200 nanómetros por 40, 50 y 60 segundos con tres repeticiones.	Intensidad de la radiación	Rad	Lámpara de UV