

Universidad de Almería



Trabajo Fin de Máster

Máster en Horticultura Mediterránea Bajo Invernadero

Evaluación de la supervivencia de larvas de *Ephestia kuehniella* alimentadas con láminas de plástico de uso agrícola en condiciones controladas de laboratorio.

**Alumna: Mercy Ndanu Mutua
Tutor: Pablo Barranco Vega
Co-tutora: Patricia Castillo Martínez**

Junio, 2022

Abstract

Ephestia kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) commonly known as the Mediterranean Flour moth is a typical pest for stored food especially cereals. Apart from being a pest, it has been identified for its ability to various plastic polymers. Much of the process of degradation and the mechanisms involved in the degradation of plastic has been explored at length in multiple studies. However, little is known regarding the effects incurred by *E. kuehniella* following the ingestion of plastic. This study investigated the effects of ingestion of LLDPE, LDPE, PET, and PS plastic on the survival of *E. kuehniella* larvae. Third instar *E. kuehniella* larva were exposed to a diet composed of wheat semolina, wheat germ and brewer's yeast in a ratio of 3:1:1. In this study, *E. kuehniella* larva underwent two treatments. For each of the two treatments, fifty repetitions were made for each of the plastic polymers in their virgin and recycled forms. In the first treatment individual larva were inserted into 25ml plastic vials with a meshed cover with 0.03g of based diet and a 2cm-by-2cm piece of plastic i.e., 90% plastic+10% base diet. For the control treatment, individual larva was inserted into a similar vial with 0.3g of base diet and no plastic i.e., 100% base diet. All treatments were stored at in an incubator at controlled conditions of 25°C and darkness. Data on the weight of plastic pieces and the larva was measured and recorded at the beginning and the end of the study. Statistical analysis was then conducted to determine the impacts on survival of third instar *E. kuehniella* larva following the ingestion of the various plastic polymers under investigation. Statistical analysis in the collected data demonstrated that plastic ingestion has no significant effect on the survival of *E. kuehniella* larva as almost all the larva survived the 14-day period. The effect of plastic ingestion was however reflected in the weight loss of *E. kuehniella* larva as in all the eight plastic trials there was a significant difference in the final average weight of larva between the 90% plastic treatment and the control treatment.

Keywords: Plastic waste, biodegradation, biodegrading insect, *Ephestia kuehniella*.

Resumen

Ephestia kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) comúnmente conocida como la polilla de la harina mediterránea es una plaga típica de productos almacenados, especialmente de harinas de cereales. Además de ser una importante plaga, se ha identificado por su potencial capacidad para consumir y degradar polímeros plásticos. Gran parte del proceso de degradación del plástico, así como los mecanismos involucrados se han estudiado ampliamente por distintos autores. Sin embargo, se sabe poco sobre los efectos incurridos por *E. kuehniella* después de la ingestión de plástico. Este estudio investigó los efectos de la ingestión de film de plástico LLDPE, LDPE, PET y PS en estado virgen y reciclado en la supervivencia y en la variación de peso de las larvas de *E. kuehniella*. Para ello, se llevaron a cabo ensayos que consistían en dos tratamientos, con 50 repeticiones cada uno, por tipo y estado de polímero. Un tratamiento con dosis al 90% de film de plástico y 10% dieta estándar, y otro con dieta estandarizada al 100% (control). Estos experimentos se llevaron a cabo durante 14 días con larvas de tercer estadio sincronizadas. Los resultados obtenidos del ANOVA estadístico realizado a los parámetros de supervivencia y variación de peso muestran que la ingestión de plástico no tiene un efecto significativo en la supervivencia de la larva de *E. kuehniella*, ya que casi todas las larvas sobrevivieron un período de 14 días. Sin embargo, el impacto de la ingestión de plástico se reflejó en la pérdida de peso de las larvas de *E. kuehniella*. En todos los plásticos ensayados se obtuvieron diferencias significativas en la variación de peso de las larvas con dosis al 90% en comparación con los tratamientos de control.

Palabras clave: Residuos plásticos, biodegradación, insecto biodegradador, *Ephestia kuehniella*

INTRODUCCIÓN

El plástico tiene una amplia gama de aplicaciones intersectoriales debido a diversas características tales como la alta moldeabilidad, elevada resistencia a la degradación química y física, impermeabilidad líquida, alta relación resistencia-peso, bajo coste y fácil sustitución de otros materiales (Faraca et al., 2019; Global Plastics Outlook, 2022). Como resultado del rápido crecimiento de la población mundial y los mayores ingresos, la producción mundial de plástico ha aumentado rápidamente desde 1950, momento en que dio comienzo su producción. En 2019, se produjeron 460 millones de toneladas de este material a nivel mundial en comparación con los 234 millones de toneladas producidas en 2000 (Global Plastics Outlook, 2022).

La demanda de plástico en Europa se estima en 41,9 millones de toneladas, ocupando España el 5º lugar entre los países con mayor demanda de la Unión Europea (Plastics-the Facts, 2021). En 2019, España produjo 35.968,9 toneladas de residuos plásticos urbanos, de los cuales el 25% corresponden a Andalucía (INE, 2022). Almería aporta el 62,5% del total de productos hortícolas de España (Analistas Económicos de Andalucía, 2021). Sayadi-Gmada et al., 2019 estima que el 54% del total de residuos producidos por el sector hortofrutícola de Almería está formado por residuos plásticos. El polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno lineal de baja densidad (LLDPE), tereftalato de polietileno (PET) y poliestireno (PS) son algunos de los polímeros plásticos de gran importancia agrícola (FAO, 2021; Plastics the Facts, 2021).

En los últimos años, la contaminación del medio ambiente a causa de la mala gestión de los residuos plásticos se ha convertido en un asunto de grave preocupación mundial (Bilal et al., 2021; Huang et al., 2021). Anteriormente, se han aplicado métodos fisicoquímicos convencionales de gestión de plásticos, sin embargo, estos métodos tienen impactos secundarios indeseables en el medio ambiente, lo que requiere el uso de técnicas alternativas de gestión sostenible (Lee et al., 2020; Bilal et al., 2021). Recientemente, se han llevado a cabo investigaciones sobre la biodegradación de plásticos como posible alternativa prospectiva a los métodos convencionales de gestión del plástico, dado que no implica ningún impacto secundario conocido (Lee et al., 2020).

Essig et al. (1943) demostraron que las larvas de insectos mandibulados tenían un gran potencial para penetrar en los materiales plásticos. Después de esto, se han citado nueve especies de larvas de insectos con la capacidad de masticar diferentes películas de plástico. Entre ellas se encuentra el gusano de la harina mediterránea *E. kuehniella* (Gerhardt & Lindgren, 1954b).

E. kuehniella es una plaga de productos almacenados perteneciente a la familia Pyralidae dentro del orden de Lepidópteros. Otras especies dentro de la familia capaces de biodegradar el plástico son la polilla de la harina india (*Plodia interpunctella*), la polilla de cera menor (*Achroia grisella*), la polilla de cera mayor (*Galleria mellonella*) y el gusano de la harina de arroz (*Corcyra cephalonica*) (Bilal et al., 2021). En su estudio, Essig et al. (1943) concluyeron que *E. kuehniella* consume aproximadamente del 25-44% de las películas de celofán y (PE) (Polietileno).

Existe un gran interés de la comunidad científica en el estudio de la capacidad potencial de larvas de insectos pertenecientes a diversas especies para alimentarse de películas plásticas, prestando poca atención a los impactos de la ingestión de plástico en las propias larvas de insectos que se alimentan de estos materiales (Bilal et al., 2021; Cassone et al., 2022). Los objetivos de este estudio son establecer una población sincronizada de *E. kuehniella* y

evaluar la supervivencia y variación de peso de las larvas de esta especie tras la exposición a una dieta con un 90% de contenido de polietileno lineal de baja densidad (LLDPE), polietileno de baja densidad (LDPE), tereftalato de polietileno (PET) y poliestireno (PS), en formato film y en estado virgen y reciclado.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Localización del experimento

Este estudio se ha realizado en el laboratorio de Entomología del Departamento de Biología y Geología de la Universidad de Almería, localizado en el edificio CITE-IIB durante los meses de marzo y abril del presente año.

2. Obtención de larvas *E. kuehniella*

El laboratorio de Entomología de la Universidad de Almería dispone de un insectario en el que se crían poblaciones de distintas especies de insectos. Entre estas especies se encuentra una cría a pequeña escala de *E. kuehniella*, con stock disponible para la realización de ensayos. De ella, se ha obtenido una población con la que se van a realizar los ensayos se van a describir a continuación.

3. Preparación del plástico

Los materiales plásticos utilizados en este estudio fueron proporcionados por una empresa que forma parte de los consorcios europeos que están llevando a cabo el proyecto RECOVER ("Development of innovative biotic symbiosis for plastic biodegradation and synthesis to solve their end of life challenges in the agriculture and food industries"). Estos fueron LLDPE, LDPE, PET y PS (tabla 1) en la formulación de películas plásticas. Los experimentos se han realizado con estos polímeros en sus formas vírgenes y recicladas.

Se realizaron dos tratamientos para cada una de las formas virgen y reciclada de los polímeros utilizados en este estudio. En el primer tratamiento, las larvas individuales de *E. kuehniella* se expusieron a una dieta que consistía en un 90 % de plástico y un 10 % de dieta base. En el segundo tratamiento, las larvas recibieron 100% de dieta. Este fue el tratamiento control. Se realizaron 50 repeticiones para cada uno de los tratamientos descritos de todos los polímeros plásticos utilizados en este estudio (Tabla 1).

Tabla 1: Diseño del experimento en relación con los polímeros plásticos, estado de los polímeros plásticos, tratamiento utilizado y número de repeticiones.

Tipo de plástico	Estado	Tratamiento	Numero de repeticiones
LLDPE	Virgen	90% plástico + 10% dieta	50
		Control 100% dieta	50
	Reciclado	90% plástico + 10% dieta	50
		Control 100% dieta	50
LDPE	Virgen	90% plástico + 10% dieta	50
		Control 100% dieta	50
	Reciclado	90% plástico + 10% dieta	50
		Control 100% dieta	50
PS	Virgen	90% plástico + 10% dieta	50
		Control 100% dieta	50
	Reciclado	90% plástico + 10% dieta	50
		Control 100% dieta	50
PET	Virgen	90% plástico + 10% dieta	50
		Control 100% dieta	50
	Reciclado	90% plástico + 10% dieta	50
		Control 100% dieta	50

Con la ayuda de un cortador, una regla y un tablero calibrado, las películas de plástico se cortaron en pequeños trozos de 2 cm por 2 cm. El peso de cada pieza se midió utilizando una balanza electrónica de precisión (Figura 1 a y b). Cada pieza se introdujo en su correspondiente vial de plástico de 25 cm³, previamente etiquetado con el tratamiento al que pertenece (detallados en la siguiente sección), tipo de plástico, número de repetición y estado

del plástico, ya sea virgen o reciclado (Figura 1c). Del mismo modo, la cubierta de cada vial tenía una abertura mallada para permitir el suministro de aire para las larvas.

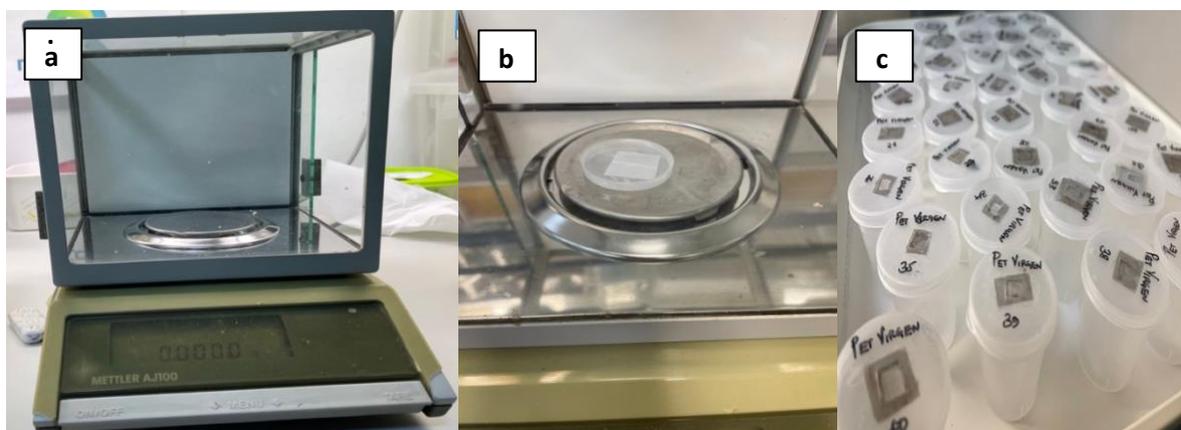


Figura 1. Preparación del plástico a) Balanza de precisión. b) Pesado de una pieza de película plástica de 2cm por 2cm. c) Viales de plástico de 25ml para ensayos, etiquetados con respecto al tipo de plástico, tratamiento y número de repetición correspondiente.

4. Preparación de la dieta

La dieta estándar de *E. kuehniella* empleada consiste en sémola de trigo, germen de trigo y levadura de cerveza en proporción 3:1:1. Para estos ensayos se han propuesto diferentes cantidades de la dieta estándar para una sola larva de *E. kuehniella*; así Xu et al., (2007) recomendaron 0,5 g/larva, mientras que Priya S., (2016) lo reduce a 0,25 g/larva. Finalmente, como se han empleado larvas de tercer estadio para llevar a cabo los tratamientos, se estimó que cada individuo necesita una cantidad de 0,3 g de la dieta estandarizada para completar su ciclo. Por lo tanto, para el primer tratamiento (90 % plástico + 10 % dieta), se suministró a las larvas individuales de *E. kuehniella* aproximadamente 0,03 g (0,3 g de dieta base x 10 %) de la dieta base. El 90% restante de las necesidades alimentarias (aproximadamente 0.27g) fue sustituido por plástico. Para el segundo tratamiento (100% dieta), se expusieron larvas individuales de *E. kuehniella* a 0,3 g de dieta base.

5. Ensayos con film de plástico y larvas individualizadas.

Para cada tratamiento, se obtuvieron 50 larvas individuales del mismo lote sincronizado. Las larvas individuales, tienden a agruparse en una red tejida de hilos de seda junto con la dieta estándar que actúa como una envoltura nutricional en la que se alimentan (CABI, 2022). Las larvas se extrajeron cuidadosamente de esta envoltura de seda utilizando unas pinzas finas y se depositaron sobre una placa Petri (Figura 2a). El peso de cada larva también se midió con la ayuda de una balanza electrónica de precisión y se registró (Figura 2b). Luego, cada larva se colocó en los viales de plástico con un 10% de alimento y un 90% de películas plásticas o solo dieta para el tratamiento control. Los viales de plástico se cubrieron y luego se colocaron en bandejas que se mantuvieron a una temperatura constante de 25 ° C en una incubadora Memmert.

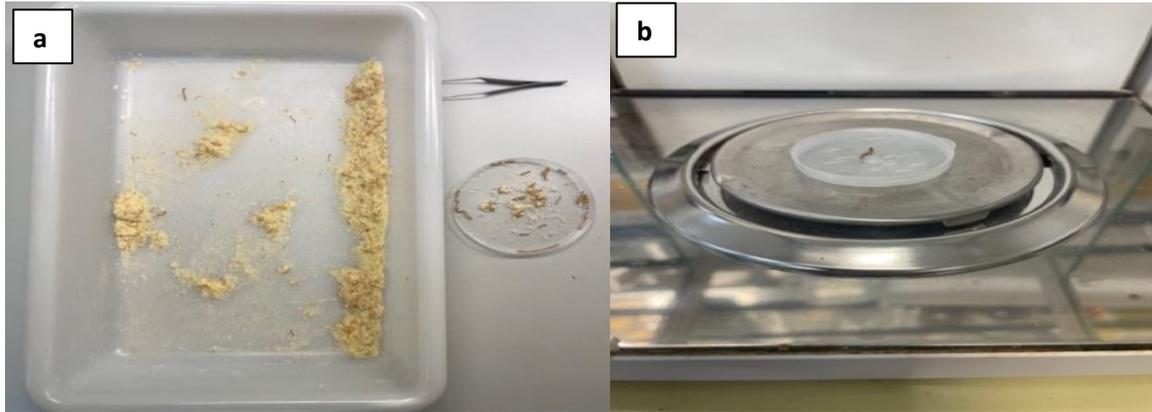


Figura 2. Proceso de ensayo de película plástica y larva individual: a) Extracción de *E. kuehniella* de la envoltura de seda utilizando unas pinzas finas y una placa Petri. b) Medición del peso de cada larva.

Después de catorce días, se registró el peso de la larva y la película plástica para cada repetición. Cada larva y film de plástico correspondiente a una repetición se almacenaron individualmente en viales eppendorf de 2 ml previamente etiquetados (Figura 3a). Los viales de cada lote se colocaron en una bolsa de plástico de 500 ml (previamente etiquetada según el tratamiento y el plástico correspondiente) (Figura 3b).

Las bolsas de cierre hermético fueron selladas y almacenadas en un congelador del laboratorio a una temperatura de -20°C , para su posterior análisis microbiológico.

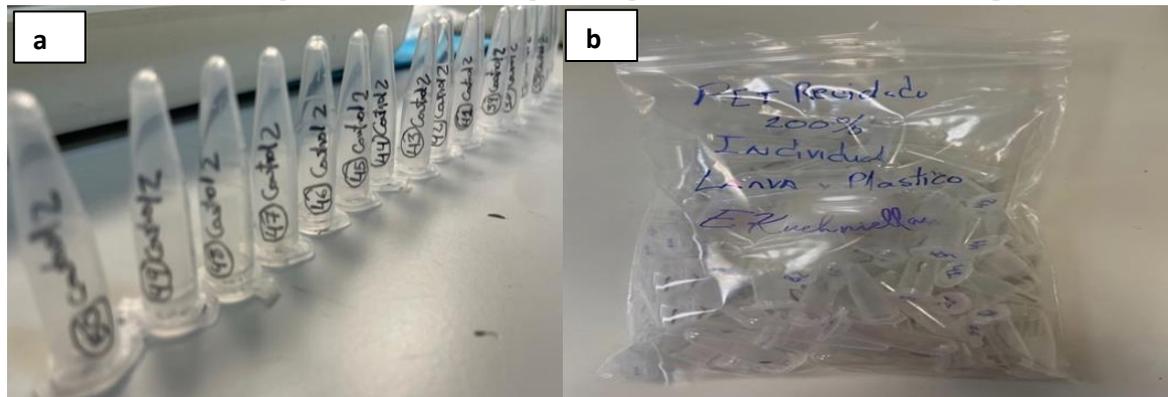


Figura 3. Finalización del experimento: a) Preparación de viales de plástico eppendorf de 2 ml para el almacenamiento de larvas y películas plásticas después de medir el peso final de larva y plástico. b) Almacenamiento de muestras por tratamiento en bolsas de 500 ml debidamente etiquetadas y selladas que contienen en los eppendorf con las muestras de larvas o plásticos obtenidas en los ensayos.

6. Análisis estadístico de los datos registrados

Se realizó un análisis de la varianza sobre los datos registrados a lo largo del período de estudio. Este se llevó a cabo para comparar la supervivencia de las larvas de *E. kuehniella* y la variación del peso final. La evaluación estadística de estos datos se hizo con ayuda del software estadístico IBM SPSS Statistics 26.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se discutirán los resultados de variación del peso de las larvas, así como la supervivencia de estas después de la exposición a una dieta a base de láminas de material plástico con un pequeño aporte de dieta estandarizada durante un periodo de 14 días.

1. Supervivencia

En este estudio se define supervivencia al número resultante de individuos vivos contados al final del experimento con respecto al número de larvas al comienzo del estudio. La Tabla 2 resume los resultados de la supervivencia de las larvas de *E. kuehniella*.

El mayor número de supervivientes se observó en el LLDPE virgen, LLDPE reciclado, Control 1, PET reciclado y LDPE reciclado donde el 100% de larvas estaban vivas al final del estudio. El menor número de sobrevivientes se observó en el Control 4, donde solo 46 larvas eran solo el 92% de las larvas estaban vivas al final del experimento. La prueba con PS virgen, PS reciclado, control 2, PET virgen, control 3 y LDPE virgen mostró una tasa de supervivencia del 98% (Tabla 2).

En los análisis realizados no se identificaron diferencias significativas en relación con la supervivencia de las larvas de *E. kuehniella* tras la ingestión de los polímeros plásticos en este estudio. Casi todas las larvas de *E. kuehniella* en ambos tratamientos (90% de plástico y 100% de dieta estándar) sobrevivieron. Por ello, la mortalidad observada en los ensayos antes indicados puede ser debida bien al natural de la especie, o bien a la manipulación de los ejemplares.

Las tasas de supervivencia fueron relativamente altas, esto se explica por la habilidad de los insectos degradadores de plástico de movilizar reservas energéticas y utilizarlas para la supervivencia (Sánchez-Hernández, 2021). Adamo et al., (2016) concluyeron que las larvas de *Manduca sexta* eran capaces de sobrevivir tras la exposición de una dieta deficiente en nutrientes por incrementar la masa del tracto digestivo, lo que les permitía la maximización de extracción y asimilación de nutrientes. Los insectos capaces de degradar polímeros plásticos tienen tolerancia a dietas plásticas y no exhiben efectos tóxicos al ingerirlas (Sánchez-Hernández, 2021).

Tabla 2: Resumen de la supervivencia de las larvas de *E. kuehniella*, numero de larvas de *E. kuehniella* al inicio y al final de los 14 días del estudio

Tipo de Plástico	Número de Individuos vivos al Inicio del estudio	Número de Individuos vivos al final del estudio
LLDPE Virgen	50	50
LLDPE Reciclado	50	50
Control 1	50	50
PS Virgen	50	49
PS Reciclado	50	49
Control 2	50	49
PET Virgen	50	49
PET Reciclado	50	50
Control 3	50	49
LDPE Virgen	50	49
LDPE Reciclado	50	50
Control 4	50	46

2. Pérdida de peso

La variación de peso es un parámetro que compara la diferencia entre el peso de las larvas al final del estudio con el peso inicial. La Figura 4 representa la pérdida de peso de larvas de tercer estadio de *E. kuehniella* después de la exposición a los diversos plásticos correspondientes.

Hubo diferencias significativas entre el primer tratamiento (90% plástico) y el segundo tratamiento (100% dieta estándar) para todos los tipos de plásticos evaluados. La mayor diferenciación fue en LLDPE virgen 151.575 ($P < 0,0001$) mientras que la menor se registró en LLDPE reciclado 50.069 ($P < 0.0001$) (Tabla 3).

Tabla 3: Resumen de los resultados del análisis ANOVA sobre la pérdida de peso de las larvas de *E. kuehniella* alimentadas con una concentración del 90% de diferentes polímeros plásticos.

Tipo de plástico	F	g.l.	P
LLDPE virgen	151,575	1	P<0,0001
LLDPE reciclado	50,069	1	P<0,0001
PS virgen	109,793	1	P<0,0001
PS reciclado	112,734	1	P<0,0001
PET virgen	87,099	1	P<0,0001
PET reciclado	77,207	1	P<0,0001
LDPE virgen	77,563	1	P<0,0001
LDPE reciclado	77,207	1	P<0,0001

La dieta suministrada a las larvas de insecto tiene influye el peso de las larvas directamente (Gianoli et al., 2007; Altermatt, 2010). En el primer tratamiento (90% plástico), las larvas de *E. kuehniella* tuvieron un suministro limitado de nutrientes ya que los materiales plásticos carecen de nutrientes esenciales necesarios para el crecimiento celular y la producción enzimática (Lou et al., 2020). Esto conduce a una capacidad reducida de adquisición de nutrientes en insectos lepidópteros (Terra y Ferreira, 2012; Terra et al., 2019). En consecuencia, el crecimiento normal de los insectos se ve comprometido (Huang et al., 2015) explicando la pérdida de peso de las larvas del primer tratamiento (90% plástico). Observaciones similares se describen en el artículo de Cassone et al., (2022) donde las larvas de *Galleria mellonella* perdieron la mitad de su peso como consecuencia de exposición a dietas de polímeros plásticos.

En el segundo tratamiento, (100% dieta estándar) las larvas fueron provistas de nutrientes suficientes que permitieron un crecimiento normal, por lo tanto, se observó un mayor peso en las larvas.

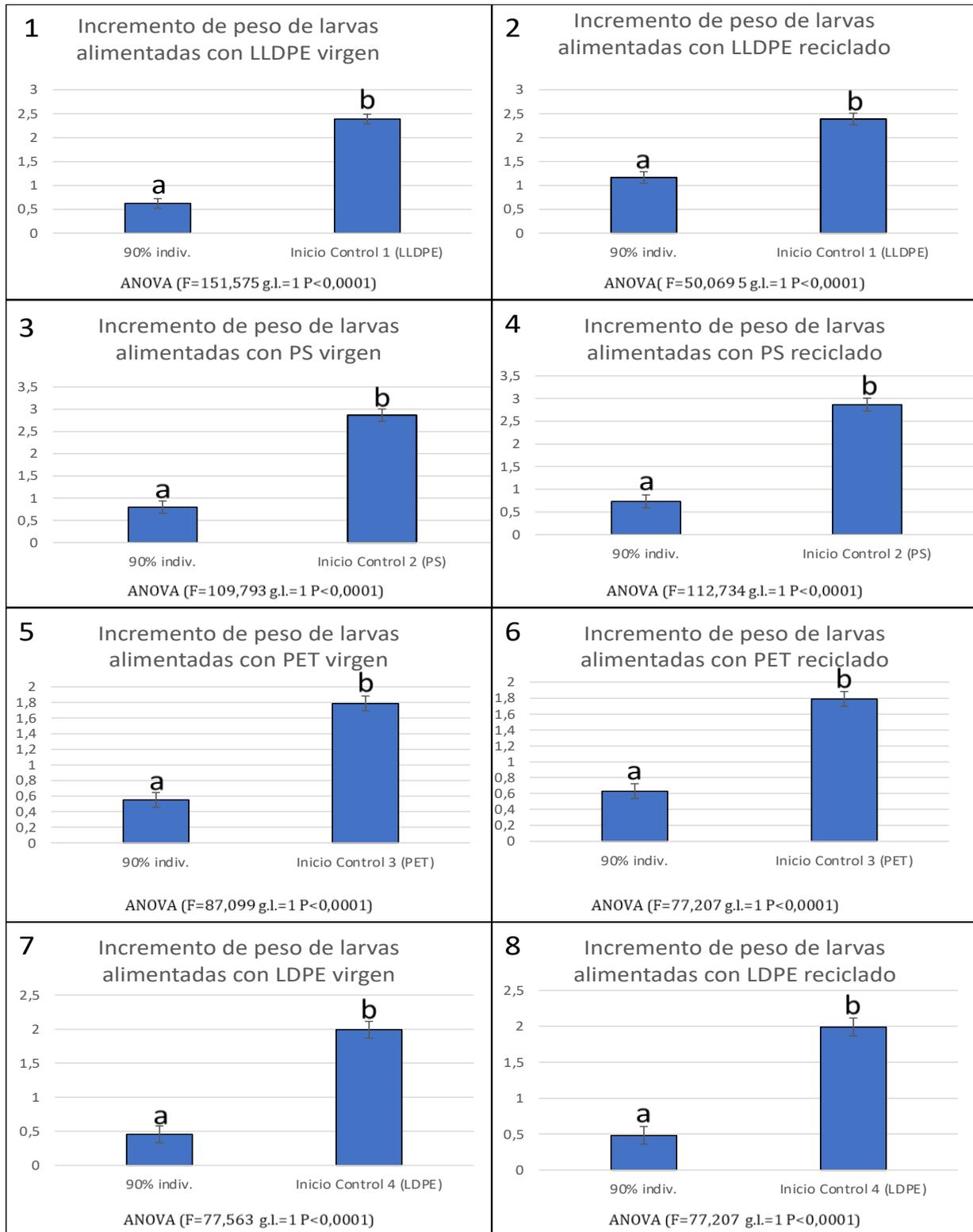


Figura 4: Pérdida de peso de larvas de *E. kuehniella* alimentada con Film de 1. LLDPE virgen 2. LLDPE reciclado 3. PS virgen 4. PS reciclado 5. PET virgen 6. PET reciclado 7. LDPE virgen 8. LDPE reciclado; **a)** Tratamiento 90% plástico y 10% dieta estándar **b)** Tratamiento 100% dieta estándar.

3. Ingestión de plástico

La ingesta de plástico se describe como la cantidad de plástico consumida por las larvas. Se trata de la diferencia entre el peso del plástico al final del estudio y al principio de este.

El pesado de la película de plástico al final del estudio no nos ha permitido determinar de forma concluyente el consumo realizado. Se estima que la larva de *E. kuehniella* necesita un mínimo de cuatro semanas y media para ingerir una cantidad considerable y cuantificable de plástico (Gerhardt & Lindgren, 1954). Dado que este estudio sólo duró 14 días, las larvas no tuvieron tiempo suficiente para masticar una cantidad cuantificable. La detección ha sido cualitativa para poder observar las mordeduras en los bordes de la lámina (Figura 5). En su investigación, Gerhardt & Lindgren, (1954) aplicaron un criterio similar para confirmar la ingestión de plástico por parte de la larva de *E. kuehniella* basándose en la presencia de marcas de roeduras en el plástico. En general, todas las porciones de las láminas presentaban este tipo de marcas en mayor o menor grado. Si bien se apreciaron estas marcas en todas las muestras, tanto virgen como reciclado. Si parece influir la dureza de la película de plástico, ya que no todas las formulaciones plásticas testadas tienen la misma consistencia.

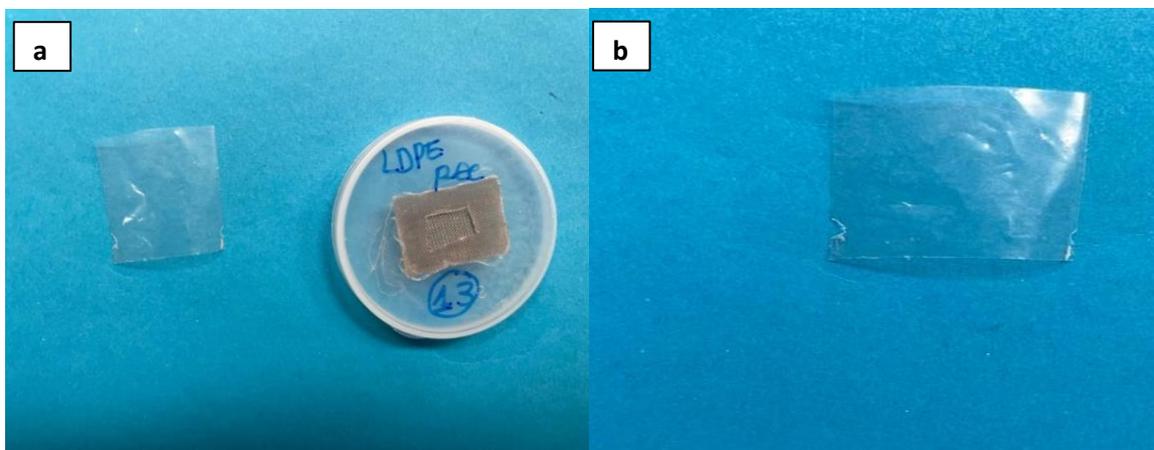


Figura 5: Observación de roeduras de larva de *E. kuehniella* en plástico LLDPE reciclado repetición 13. **a)** 2cm por 2cm de plástico LLDPE reciclado repetición 13 con roeduras de *E. kuehniella* larva. **b)** Una imagen de primer plano de la película de plástico de LLDPE reciclado con dos marcas de mordida a cada lado de la parte inferior de la pieza.

CONCLUSIONES

La ingestión de plástico por larvas de *E. kuehniella* se evidencia por la presencia de roeduras en las láminas de los ocho plásticos utilizados en este estudio, sin que se observen preferencias entre formulados virgen o reciclado, aunque sí en la formulación de plástico

Se detectó un efecto del plástico en la variación del peso final de las larvas individuales de *E. kuehniella* tras el período de estudio en los ocho tipos de plásticos ensayados. Siendo el plástico LLDPE reciclado el que ha posibilitado un incremento de peso un poco mayor.

Ninguno de los polímeros utilizados en este estudio mostró influencia alguna sobre la supervivencia de los individuos. Este parámetro fue similar a los testigos y no arrojó diferencias significativas en los análisis estadísticos realizados. No obstante, si se hubiese prolongado el ensayo, hubiera provocado una alta mortalidad.

Bibliografía

- Altermatt F., (2010). Tell me what you eat, and I'll tell you when you fly: diet can predict phenological changes in response to climate change. *Ecology Letters*, 13 (2010), pp. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01534.x>
- Bilal H., Raza H., Bibi H., & Bibi T., (2021). Plastic Biodegradation through Insects and their Symbionts Microbes: A Review. *Journal of Bioresource Management*, Volume 8 Issue 4, 95–103. <https://doi.org/10.35691/IBM.1202.0206>
- CABI, (2022). Compendio de Especies Invasoras; *Ephestia Kuehniella*, polilla mediterránea de la harina <https://www.cabi.org/isc/datasheet/21412#1C3800DF-F953-4DFB-AF37-77665625F721> (23/05/2022)
- Cassone, B. J., Grove, H.C., Kurchaba, N., Geronimo, P., & LeMoine, C.M. R. (2022). Grasa sobre plástico: Consecuencias metabólicas de una dieta LDPE en el cuerpo graso de las larvas de polilla de cera mayor (*Galleria mellonella*). *Revista de Materiales Peligrosos*, 425, 127862 <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2021.127862>
- Essig E. O., Hoskins W. M., Linsley E. G., Michelbacher A. E. & Smith R. F., (1943). A report on the penetration of packaging materials by insects. *Journal of Economic Entomology* 36(6): 822-9
- FAO (2021). Evaluación de los plásticos agrícolas y su sostenibilidad, un llamamiento a la acción. La organización de las naciones unidas para la Alimentación y la Agricultura Roma, Italia <https://doi.org/10.4060/cb7856en>
- Faraca G., Martinez-Sanchez V., Astrup T.F. (2019). Residuos plásticos de centros de reciclaje: Caracterización y evaluación de la reciclabilidad del plástico. *Resources, Conservation and Recycling*, Volume 143, 2019, Pages 299-309, ISSN 0921-3449 <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.01.014>
- Gerhardt P. D., & Lindgren D. L., (1954). Penetración de varias películas de embalaje por insectos comunes de productos almacenados. *Revista de Entomología Económica*, 47(2), 282–287 <https://doi.org/10.1093/JEE/47.2.282>
- Gianoli E., Suarez L.H., Gonzales W.L, Gonzalez-Teuber M., & Acuna- Rodriguez I.S., (2007). Host-associated variation in sexual size dimorphism and fitness effects of adult feeding in a bruchid beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 122 (3) p. 233-237 <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00506.x>
- Huang J.H., Jing A., & Douglas A.E., (2015). The multi-tasking gut epithelium of insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Volume 67, Pages 15-20, ISSN 0965-1748, <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2015.05.004>
- Instituto Nacional de Estadística (INE). Resultados Nacionales. Series 2015-2019. Generación y tratamiento final de Residuos <https://www.ine.es/jaxi/Datos.htm?tpx=33012> (24/05/2022)
- Kurtuluş, A., Pehlivan, S., Achiri, T. D. y Atakan, E. (2020). Influencia de diferentes dietas en algunos parámetros biológicos de la polilla mediterránea de la harina, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Revista de Investigación de Productos Almacenados*, 85 <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.101554>

- Lee, H.M., Kim, H. R., Jeon, E., Yu, H.C., Lee, S., Li, J. y Kim, D. H. (2020). Evaluación de la eficiencia de biodegradación de cuatro tipos diferentes de plásticos por pseudomonas aeruginosa aisladas del extracto intestinal de supergusanos. *Microorganismos*, 8(9), 1–12. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8091341>
- Lima Filho, M., Favero, S., & de Lima, J. O. G. (2001). Producción de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) con el uso de harina de maíz en la dieta artificial. *Entomología Neotropical*, 30(1), 37–42. <https://doi.org/10.1590/S1519566X2001000100007>
- Lou, Y., Ekaterina, P., Yang, S., Lu, B., Liu, B.-F., Ren, N., Corvini, P.F.-X., Xing, D., 2020. Biodegradation of polyethylene and polystyrene by Greater Wax Moth larvae (*Galleria mellonella* L.) and the Effect of co-diet supplementation on the core gut microbiome. *Environmental Science and Technology* 54, 5, 2821–2831 <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07044>
- Perspectivas Mundiales de los Plásticos: Impulsores económicos, impactos ambientales y opciones de políticas (2022). Investigación y Edición, The Organization for Economic Cooperation and Development www.analistaseconomicos.com <https://doi.org/10.1787/de747aef-en> (10/05/2022)
- Plásticos: The facts Europe (2022). An analysis of European plastics production, demand and waste data <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2021/> (09/05/2022)
- Priya B.S., (2016). Effect of nutrient limitation on the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Journal of Stored Product Research*, Volume 71, Pages 64-71. Massey University, New Zealand <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.01.004>
- Sanchez-Hernandez J.C., (2021). A toxicological perspective of plastic biodegradation by insect larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 248 (June), 109117. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109117>
- Sayadi-Gmada S., Rodríguez-Pleguezuelo C. R., Rojas-Serrano F., Parra-López C., Parra-Gómez S., García-García M. del C., García-Collado R., Lorbach-Kelle M.B., & Manrique-Gordillo T., (2019). Gestión de residuos inorgánicos en la agricultura de invernadero en Almería (SE España): Hacia un sistema circular en la producción hortícola intensiva. *Revista electrónica de Medioambiente Sostenibilidad* (Suiza),11(14). <https://doi.org/10.3390/SU11143782>
- Terra W.R., Ferreira C., (2012). Biochemistry and Molecular Biology of Digestion. Insect Molecular Biology and Biochemistry, Academic Press. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 365–418. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384747-8.10011-X>
- Terra, W.R., Barroso, I.G., Díaz, R.O., Ferreira, C., (2019). Molecular Physiology of Insect Midgut. *Advances in Insect Physiology*, Academic Press. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 117–163 <https://doi.org/10.1016/bs.aiip.2019.01.004>
- Xu, J., Wang, Q., & He, X. Z. (2007). Arable Crops Influence of Larval Density on Biological Fitness of *Ephestia Kuehniella* Zeller (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE). *New Zealand Plant Protection*, 60, 199–202 www.nzpps.org