

**BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICO CON LARVAS DEL COLEÓPTERO *Tenebrio molitor*
COMO UN APORTE INTERDISCIPLINAR A LA BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL.**

**DOLLY NATALIA ÁLVAREZ ESTEPA
LINA MARCELA BOTACHE LAGUNA**

**UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
BOGOTÁ D.C
2020**

Biodegradación de Plástico con Larvas del Coleóptero *Tenebrio molitor* como un aporte Interdisciplinar a la Biotecnología Ambiental.

**Dolly Natalia Álvarez Estepa
Lina Marcela Botache Laguna**

Trabajo de Grado para optar por el título de Licenciada en Biología

**Director
Hugo Mauricio Jiménez Melo
Microbiólogo (B. Sc)
Universidad de los Andes
Magister en Ciencias Biológicas (M. Sc).
Universidad de los Andes**

Grupo de Investigación de Estudios en la Enseñanza de la Biología

EEB

**Línea de Investigación:
Biotecnología, Biodiversidad y Conservación**

BBC

**Universidad Pedagógica Nacional
Facultad de Ciencia y Tecnología
Licenciatura en Biología
Bogotá D.C 2020.**

El enlace de la Guía Práctica – Virtual de Laboratorio titulada: Guía Práctica Sobre Biodegradación de Bioensayo se observa en la página (54).

NOTAS DE ACEPTACIÓN

FIRMA DE JURADO

FIRMA DE ASESOR

DEDICATORIA

Primeramente, a Dios por estar presente en mi vida e impulsarme en cada uno de mis pasos.

A mis padres Reinaldo Álvarez y María Estepa, mi hermana Paula Álvarez y mi sobrina Valentina Álvarez, por enseñarme el verdadero ejemplo de amor y fortaleza. Por ser mi fuerza y motivo a diario para abrir caminos en busca de esos sueños que estremecen mi existencia con ansias de un futuro mejor para ustedes.

A Santiago Rodríguez mi compañero de vida, quien ha sido mi motivación, soporte e inspiración.

A ellos dedico este triunfo y les agradezco por creer en mí y escucharme cuando sentía desfallecer.

Los amo con mi vida.

Natalia Álvarez-

A Dios porque gracias a su presencia y amor infinito he culminado esta etapa tan importante en mi formación profesional.

A mi padres Hernando Enrique Botache y Carmen Julia Laguna Sánchez, especialmente a mi madre por ser mi bastón y pilar más importante de vida, porque con su amor y cariño es mi fuente de inspiración y certeza de amor puro.

A mi hermano Camilo Andrés Botache Laguna que con su particular personalidad me enseña disciplina y dedicación y claro por el amor infinito que le tengo.

A mi compañero de vida Harryson R. Muñoz por sus palabras de ánimo y motivación, por su apoyo, comprensión y paciencia; por enseñarme que cuando haces las cosas con amor logras todo lo que deseas y por enseñarme amar sin limitación alguna.

Los amo infinitamente

Lina M. Botache L.

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia, damos gracias a Dios por llenarnos de amor y fortaleza, por acompañarnos en cada paso de esta etapa y por permitirnos culminar con nuestra formación profesional.

A nuestras familias por el cariño y amor con el que nos enseñaron, por las palabras de ánimo, acompañamiento, paciencia y consejos que nos brindaron para continuar con nuestra formación como maestras y para culminar con esta propuesta de Trabajo de Grado. Por ser nuestra fortaleza y motivación para alcanzar cada uno de nuestros sueños.

A nuestros compañeros de vida, porque con su amor lograban aliviar los momentos de angustia, estrés y desaliento convirtiéndolos en instantes de armonía y felicidad.

Agradecemos a nuestro Director de Trabajo de Grado, Hugo Mauricio Jiménez Melo por el profesionalismo, el tiempo dedicado, por el apoyo, ánimo y paciencia brindada durante el transcurso y desarrollo de esta propuesta, resaltando que, a partir de estas cualidades nos inculcó disciplina y motivación.

A los jurados por estar presentes, por el tiempo y la disposición para evaluar esta propuesta, por sus observaciones y comentarios constructivos.

A la Universidad Pedagógica Nacional por abrirnos sus puertas para aprender y sobre todo para formarnos como educadoras y al Departamento de Biología y su cuerpo docente por los diferentes conocimientos y experiencias que nos brindaron en nuestro proceso de formación.

Agradecemos a las personas con las que compartimos experiencias inolvidables a lo largo de la carrera. De igual manera, agradecemos particularmente a John Vanegas por ser una de las primeras personas que creyó en nosotras y aportó opiniones significativas para la consolidación de esta propuesta.

Finalmente, agradecemos el amor inocente de nuestras mascotas los Michis y el querido Thomas por acompañarnos en esas largas madrugadas de trabajo.

Tabla de contenido

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	JUSTIFICACIÓN	4
3.	ANTECEDENTES	5
3.1	Internacionales	6
3.2	Nacionales	10
3.3	Locales	12
4.	MARCO TEÓRICO	13
4.1	Biotecnología Ambiental	13
4.2	Plástico	14
4.2.1	Tipos de plástico	16
4.3	Problemática ambiental por plástico	19
4.4	Biodegradación de plástico	20
4.5	Marco Biológico - <i>Tenebrio molitor</i>	21
4.6	Bioensayos	23
4.7	Bioprocesos	25
4.8	Guía Práctica Virtual de Laboratorio	26
4.9	Marco Legal	27
4.9.1	Posibles riesgos al interactuar con material biológico vivo	27
4.9.2	Experimentación con organismos	27
5.	PLANTEAMIENTO PROBLEMA	28
6.	OBJETIVOS	30
6.1	General	30
6.2	Específicos	30
7.	METODOLOGÍA	31
7.1	Caracterización biológica de <i>Tenebrio molitor</i>	31
7.1.1	Cría de larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	32
7.2	Bioensayo de Biodegradación de Plástico con Larvas del Coleóptero <i>Tenebrio molitor</i>	32
7.3	Guía Práctica- Virtual de Laboratorio	32
7.3.1	Para la Guía de Laboratorio No. 2:	33
7.3.2	La Guía de Laboratorio No. 3:	34
7.4	Validación de la Guía Práctica Virtual de Laboratorio con estudiantes de Sistemas Microbianos de la UPN.	35
8.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	36

8.1	Caracterización Biológica sobre el crecimiento y desarrollo del coleóptero <i>Tenebrio molitor</i>	36
8.2	Bioensayo de biodegradación de plástico con larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	46
8.3	Guía Práctica-Virtual de Laboratorio	53
8.4	Validación Guía Práctica Virtual de Laboratorio y Guías de Laboratorio	58
9.	CONCLUSIONES	65
10.	RECOMENDACIONES	67
11.	BIBLIOGRAFÍA	68
	ANEXOS	74

Tabla 1	Siete tipos de plásticos catalogados a nivel mundial.	16
Tabla 2	Comparación de biodegradación de cuatro tipos de plástico.	24
Tabla 3	División de muestra para bioensayo.	32
Tabla 4.	Caracterización biológica sobre el crecimiento y desarrollo del coleóptero <i>Tenebrio molitor</i>	36
Tabla 5.	Temperatura máxima y mínima del proceso de cría de <i>Tenebrio molitor</i>	42
Tabla 6.	Humedad máxima y mínima del proceso de cría de <i>Tenebrio molitor</i>	42
Tabla 7	Bioensayo de biodegradación de plástico con larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	46
Tabla 8.	Productividad Específica sobre biodegradación de Icopor y plástico con larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	48
Tabla 9.	Productividad Biomasa Larvas del coleóptero <i>Tenebrio molitor</i>	50
Tabla 10.	Productividad heces fecales coleóptero <i>Tenebrio molitor</i>	51
Tabla 11.	Mortalidad de larvas del coleóptero <i>Tenebrio molitor</i>	52
Tabla 12.	Observaciones sobre la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio.....	58
Tabla 13.	Observaciones de la guía de Bioensayo de biodegradación de plástico con larvas del coleóptero <i>Tenebrio molitor</i>	59
Tabla 14.	Observaciones de la guía de Aislamiento y cultivo de bacterias y/o microhongos	60
Tabla 15.	Observaciones de la guía de Bioproceso para la degradación de plástico a partir de las bacterias y/o microhongos aislados de las heces fecales de <i>Tenebrio molitor</i>	60
Gráfico 1	Temperatura máxima y mínima. °C.....	43
Gráfico 2	Comparación humedad máxima y mínima.	43
Gráfico 3.	Consumo de plástico de larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	49
Gráfico 4.	Mortalidad de larvas muestras de Icopor	52
Gráfico 5.	Mortalidad de larvas muestra de bolsa plástica	53
Gráfico 6.	Promedio de validaciones Guía Práctica Virtual de Laboratorio.....	62
Gráfico 7.	Promedio de validaciones Guía de Laboratorio N°1.	63
Gráfico 8.	Promedio de validaciones de Guía de Laboratorio: Aislamiento y cultivo de bacterias y/o microhongos.....	64
Gráfico 9.	Promedio de validaciones de Guía N°3	65

Figura 1	Organismos de la especie <i>Tenebrio molitor</i> .	22
Figura 2	Diferenciación de Sexo en estadio de pupa	45
Figura 3	Colecta de heces del coleóptero <i>T. molitor</i> dieta Icopor	51
Figura 4	Colecta de heces del coleóptero <i>T. molitor</i> dieta bolsa plástica	51
Figura 5	Página principal de la Guía Práctica Sobre Biodegradación de Plástico	54
Figura 6	Página principal, pestañas superiores.	55
Figura 7	Página principal, ítems inferiores y pie de página	55
Figura 8	Pestaña superior sobre Guías Prácticas de Laboratorio	56
Figura 9	Apartado galería Guía Práctica - Virtual de Laboratorio.	56

1. INTRODUCCIÓN

El hombre forma parte del medio en el que vive, por su naturaleza se encuentra ligado a él, establece pautas para su valoración y cuidado. Entre hombre y ambiente existe una relación de dependencia en la cual es el medio el que determina en gran medida las formas de vida de cada persona. En este sentido, “el ambiente está constituido por elementos naturales y artificiales, físicos, químicos, biológicos, actividades sociales culturales y sus correspondientes interrelaciones” (Gómez, 2016) es decir, que el hombre se ve íntimamente relacionado con las afectaciones que le ocurren al ambiente y por ende es él mismo, quien debe encargarse de buscar soluciones acordes a los problemas ambientales, de manera que estos contribuyan a minimizar ese fuerte impacto ambiental que se ha causado a lo largo de los años.

De esta manera, al hacer referencia a la inminente relación entre el hombre y el ambiente es importante hacer alusión a la problemática de la contaminación ambiental, la cual ha generado en el ambiente y en sus organismos efectos bruscos que han ido desencadenando grandes problemas ambientales, por tal razón, es pertinente comprender que la contaminación ambiental se concibe como aquella introducción de sustancias, formas de energía u organismos no pertenecientes al ambiente en cantidades superiores a las que éste puede soportar, dado que son elementos que interfieren en la salud de los otros organismos, inciden en el daño de los bienes naturales y alteran el equilibrio de la zona en la que se encuentran estos elementos (Albert, 2011).

Posteriormente, es importante mencionar que la contaminación ambiental ha sido un factor ocasionado por el hombre, en las numerosas y variadas formas de contaminación como lo menciona Domínguez (2015) quien expone que ciertos contaminantes que se encuentran en el ambiente han sido producto del desarrollo antropogénico, a base de procesos industriales, agrícolas, clínicos, etc. Estos productos que han sido construidos en pro del humano y que sin duda en su momento han sido beneficiosos para la sociedad, a largo plazo han generado ciertas consecuencias para el ambiente, debido al alto consumo que el mismo ser humano ha ejercido sobre ellos (p,15).

Por tal razón, es fundamental reconocer que en la actualidad, uno de los productos de mayor uso y que ha tenido una incidencia negativa en el ambiente ha sido el plástico, ya que “desde su fabricación hace más de 100 años, su uso ha aumentado en forma gradual, hasta convertirse en un material insustituible en la sociedad” (Vázquez, *et al.* s.f p.1), el cual al ser desechado de forma incontable ha generado un problema ambiental que ha ocasionado consecuencias negativas para el ambiente y los organismos que allí habitan. Sin duda, es importante resaltar que el plástico ha traído consigo innegables beneficios debido a que es un material liviano, fácil y barato de fabricar, además porque dura mucho tiempo. Lamentablemente, estas mismas ventajas hacen que se convierta en el número uno de contaminación. Su bajo precio hace que el ser humano se deshaga rápidamente de él, además de producirlo en grandes cantidades; su larga existencia hace que perdure en el ambiente durante largos periodos de tiempo, en los que puede causar graves daños.

Con relación a lo anterior, es importante mencionar que la cantidad de plástico que se arroja a los océanos está aumentando y causando grandes daños; se estima que alrededor de 10 millones de toneladas de plástico acaban en los océanos cada año. Dichos desechos están formados por pequeños fragmentos de plástico, que aparecen suspendidos debajo de la superficie del mar y que terminan afectando a los organismos que en este habitan, ya que en su mayoría son ingeridos por los animales, incluso por seres microscópicos como el plancton, pues los organismos acuáticos, confunden las partículas de plástico con alimento. Así, por ejemplo, las tortugas no pueden distinguir entre bolsas de plástico y medusas, que son parte de su dieta. Las bolsas de plástico, una vez que se consumen, causan bloqueos internos y generalmente causan la muerte. A su vez, fragmentos de plástico más grandes también pueden dañar los sistemas digestivos de las aves marinas y las ballenas, y ser potencialmente fatales. De esta manera, la basura que llega al mar, en especial las de tipo plástico, están matando a más de un millón de aves marinas y unos 100.000 mamíferos y tortugas marinas cada año. El material plástico afecta a la fauna de dos maneras importantes: cuando las criaturas se enredan en él y cuando lo ingieren. Cabe resaltar, que el ser humano al estar en la cúspide de la pirámide trófica no está exento de los peligros que comporta esta grave contaminación (Nieto y Montoto, 2017).

De esta manera, se reconoce que el uso intensivo del plástico ha generado residuos difíciles de manejar, dado que la mayoría de los plásticos no se biodegradan, se fragmentan lentamente en trozos más pequeños hasta convertirse en micro plásticos y en esta etapa, son más difíciles de retirar del ambiente. Los micro plásticos han ingresado a la vida alimentaria, pues el 90 % de agua embotellada y el 83% del agua de grifo contienen partículas de plástico que terminan de algún modo afectando la salud pública (ONU, 2018). Así mismo, es válido conocer que existen plásticos de un solo uso, como son, colillas de cigarrillo, botellas, envolturas de alimento, bolsas de plástico, envases de espuma de poliestireno, entre otros.

Consecutivamente, es importante mencionar que a nivel nacional en Colombia se consumen 24 kilos de plástico por persona al año siendo el 56% de uso único, pues se ha establecido que el país genera unos 12 millones de toneladas de residuos sólidos al año y solo recicla el 17% (Téllez, 2012). Siendo estos datos poco conocidos dentro de la población colombiana, ya que, los temas alrededor de esta problemática se discuten desde la apuesta de la industria, la cual está encaminada a llevar a cabo un consumo responsable, mediante una racionalización del consumo, reutilización y reciclaje (Tecnología del plástico; Acoplásticos, 2011 citado en Téllez, 2012). Pero esta posición es contradictoria, dado que, como lo menciona el mismo autor, el papel de la industria debe ir más allá de apoyar campañas de reciclaje, puesto que si se hace referencia a un consumo responsable se debe tener en cuenta que se requiere de un compromiso colectivo, donde emerjan alternativas preventivas que asimilen los aspectos ambientales de acuerdo con el ciclo de vida completo de los productos.

En este sentido, aunque se han planteado ciertas alternativas, con el propósito de mitigar el fuerte impacto que ha causado este tipo de residuos en el ambiente, sin duda han sido propuestas que se han trabajado alrededor del reciclaje de estos productos que, aunque es una posibilidad viable, en los últimos años ha perdido importancia a nivel social (Gómez, 2016). Por esta razón, se han ido formulando alternativas a partir de organismos propios de la naturaleza que han logrado degradar plástico, estas con el fin de compartirlas en contextos formales o informales para generar interés y de esta manera fomentar iniciativas que permitan

manejar estos residuos plásticos desde formas más interactivas y aprovechando los mecanismos que han desarrollado los organismos de la naturaleza para biorremediar estos tipos de contaminación.

Así mismo, al generar alternativas en pro de la biodegradación de plástico se reconoce la importancia de la enseñanza de la Biotecnología Ambiental, donde los sujetos contemplen estrategias que permitan establecer alternativas y aportar en la búsqueda de soluciones a dichas problemáticas ambientales como es la contaminación por plástico. De igual manera, es fundamental ya que la enseñanza de la Biotecnología se ha ido consolidando como un avance importante para las Ciencias Biológicas, dado que esta posibilita hacer el estudio de los organismos vivos a nivel celular y molecular, además favorece el desarrollo de nuevas tecnologías y viabiliza la búsqueda de caminos alternativos que posibiliten la construcción de una sociedad diferente, participativa y diversa (Instituto de Biotecnología, s.f).

Posteriormente, el proceso investigativo que se propone al interior de este documento se encuentra encaminado a analizar el proceso de biodegradación de plástico, a partir de las larvas del coleóptero *Tenebrio molitor* como aporte a la enseñanza Biotecnología Ambiental mediante una Guía Práctica - Virtual de Laboratorio. Esta es una apuesta en la que se busca aprovechar el mecanismo que se le ha descubierto a este coleóptero para degradar plástico y de esta manera generar una alternativa innovadora para la enseñanza de la Biología, cabe resaltar que esta propuesta se validó en un contexto educativo universitario en la asignatura de Sistemas Microbianos de la Universidad Pedagógica Nacional (en adelante UPN).

En consecuencia, es pertinente exponer que esta propuesta surge desde el reconocimiento de la contaminación por plástico que esta sufriendo el planeta y en este caso el contexto más cercano que es Bogotá por lo cual, se genera el interés de plantear un proceso investigativo que en cierta medida logre aportar a este aspecto razón por la cual, se buscaron alternativas que pudieran contribuir a esta gran problemática y, es en este punto donde se identifica el mecanismo de biodegradación que ha desarrollado el coleóptero *Tenebrio molitor*. y como este puede aportar a la enseñanza de la Biotecnología Ambiental. Posterior a esto, se indaga la metodología pertinente para llevar a cabo la caracterización del organismos y el seguimiento a su proceso Biodegradación. Este proceso se llevó a cabo por un periodo de dos meses en el que se realizó seguimiento a los cambios en los dos tipos de polímero y se realizó la toma de datos en cuanto al peso inicial tanto de los organismos como de la dieta, en este caso de los dos tipos de plástico.

Finalmente, desde el desarrollo de la propuesta, se genera un aporte interdisciplinar a la enseñanza de la biotecnología ambiental, puesto que a partir de este campo es posible fortalecer el conocimiento Biológico de los sujetos y es posible fomentar una visión integradora del mundo para comprender y plantear alternativas frente a las problemáticas ambientales que atañen a la actualidad de forma tal que se favorezca no solo el aprendizaje y comprensión de los estudiantes, sino que también se fortalezca una valoración crítica de los problemas ambientales como la contaminación por plástico.

2. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, el problema ambiental ha cobrado gran importancia a nivel mundial, siendo un aspecto completamente amplio y complejo establecido por diferentes causas y consecuencias. Cabe resaltar que, como lo menciona Solanet (2016) “la cuestión ambiental ha cobrado gran interés, como no se imaginaba en décadas atrás” (p.9) debido a las acciones o fenómenos antropogénicos, lo cual hace que sea implícitamente necesario fomentar y asumir compromisos para controlar el crecimiento y evolución del problema ambiental que estamos viviendo.

Teniendo en cuenta lo anterior, es importante mencionar que en la actualidad hay graves problemáticas ambientales que competen a los sujetos en su totalidad, dado que desde el consumismo se participa en la producción de contaminantes como los plásticos que van en su mayoría a parar a lugares poco indicados (Albert, 2004). Por esta razón, se hace pertinente plantear objetos de acción que no se enfoquen únicamente en criterios meramente técnicos o de rentabilidad inmediata, si no que sean alternativas que contribuyan en gran medida a las problemáticas ambientales, sin dejar de lado, la intervención social, los estilos de vida y el comportamiento humano (Corraliza *et. al.*, 2006).

En consecuencia, resulta importante buscar alternativas que permitan mitigar en cierto grado las problemáticas más evidentes en la actualidad, como es en este caso, la contaminación por plástico, la cual ha tenido una fuerte incidencia en el contexto colombiano. Por tal razón, la propuesta que se plantea en esta investigación es pertinente, ya que con esta se busca analizar cómo el coleóptero *Tenebrio molitor* biodegrada plástico y su relación con la Biotecnología Ambiental, fomentando así una alternativa para la enseñanza de este campo a partir de una Guía Práctica - Virtual de Laboratorio.

Siendo así, es necesario reconocer que la Biotecnología Ambiental viabiliza un punto de vista tecnológico en el cual se pueden enseñar diferentes aplicaciones de la Biotecnología en el área de la ciencia, siendo pertinente en un país en vías de desarrollo como Colombia, en el cual las nuevas alternativas y propuestas como la que se plantea en esta investigación tendrían un gran impacto y serían un gran componente para el potencial educativo de sus ciudadanos. De igual manera, es importante tener en cuenta que, al desarrollar esta propuesta en contextos educativos, es posible que se puedan potencializar habilidades científicas propicias para la solución de problemas de la vida, como es en este caso particular la contaminación por residuos plásticos.

Consecutivamente, esta propuesta es relevante, pues busca aportar a la Biotecnología Ambiental desde el proceso de biodegradación de contaminantes como el plástico, dado que este contribuye en la mejora de problemas del ambiente y permite el trabajo con los microorganismos para explotar la biodiversidad microbiana y de esta manera generar nuevos productos en los cuales se haga aprovechable los mecanismos de los microorganismos disponibles, siendo esto posible desde el trabajo y el mejoramiento en el campo de la Biotecnología Ambiental (Blasco y Castillo Rodríguez, F. 2014).

Con relación a lo anterior, es que se propone aprovechar el mecanismo que se ha reportado del coleóptero *Tenebrio molitor* para degradar plástico y a partir de este poder realizar un trabajo científico que esté encaminado a analizar dicho proceso de biodegradación, donde se determine la cantidad de sustrato consumido por un tiempo estimado, además de diseñar una Guía Práctica - Virtual de Laboratorio que comprenda aspectos relevantes de la Biotecnología, su enseñanza, la incidencia de problemas ambientales como la contaminación por plásticos y alternativas de solución como la biodegradación.

En este sentido, es importante comprender que esta investigación, aunque se plantea a pequeña escala es pertinente, porque logra incidir en la relación que tienen los sujetos con el ambiente y es posible que se replique como una iniciativa desde el contexto educativo. En esta medida, cabe resaltar que no es una propuesta que busque solucionar el tema de la contaminación por residuos plásticos en su totalidad, sino que se plantea como una alternativa que a pequeña escala pueda aportar en la búsqueda de esa solución, ya que el organismo con el que se pretende trabajar solo logra degradar una mínima parte de la cantidad de plástico que se produce. Así pues, no solo se busca mostrar que el gusano de harina *Tenebrio molitor* degrada plástico, sino mostrar como desde organismos que encontramos en la naturaleza se puede contribuir a un problema tan amplio como es la contaminación por plástico. Además, es válido resaltar que se pueden consolidar elementos y prácticas aprovechables como el manejo de los organismos para la investigación científica, el ciclo del plástico, los métodos del bioproceso y otras formas que posibilitan la enseñanza de la Biología desde la Biotecnología Ambiental que pueden tener alguna incidencia positiva en el contexto.

Por otra parte, es necesario argumentar que el diseño y desarrollo de una Guía Práctica-Virtual de Laboratorio es de gran relevancia, pues esta se consolidará como un material didáctico, es decir que, fortalece el proceso del pensamiento y apoya la enseñanza aprendizaje de los sujetos. Así mismo, al configurarse como una Guía Virtual permite crear relaciones entre los sujetos y los sistemas informáticos para así llevar un proceso de laboratorio actualizado y compartir información de manera más real, además que permite conocer con antelación los laboratorios a desarrollar en su etapa práctica, cabe resaltar que la etapa práctica es fundamental, ya que las prácticas de laboratorio según (Hofstein y Lunetta, 2004 en Tarcilo, 2017 p.30-34) cumplen un papel importante dentro del aprendizaje del sujeto. Igualmente, para Katchevich, Hofstein y Mamlok-Naaman (2013) citados en Tarcilo (2017) las prácticas de laboratorio son fundamentales para el desarrollo de habilidades de aprendizaje como la formulación de preguntas, el desarrollo de pensamiento crítico, las destrezas metacognitivas, entre otras (p.3034); lo cual permitirá fortalecer la enseñanza de la Biotecnología Ambiental siendo esto, implícitamente necesario.

3. ANTECEDENTES

A lo largo de la historia, los efectos ambientales han influido a nivel biológico, ecosistémico y social, generando fuertes impactos alrededor del mundo; evidenciados a partir de consecuencias como la contaminación, la pérdida de biodiversidad, el aumento de los residuos, la falta de sensibilización y concientización; siendo estas algunas de las huellas ecológicas que ha dejado el hombre en su paso por el planeta Tierra. Razón por la cual, recae sobre el ser humano la responsabilidad de buscar posibles soluciones y estrategias que ayuden

a mitigar esa degradación del medio ambiente. En este sentido, para el presente documento fue fundamental realizar una revisión bibliográfica, con el fin de obtener un panorama más amplio sobre la temática y problemática propuesta, mediante trabajos que anteceden a este, ya que estos serán una base para dar desarrollo a los propósitos planteados en el presente documento. Cabe aclarar, que los antecedentes se fundamentan en artículos, informes, publicaciones en revistas, trabajos y tesis de grado; así mismo es importante establecer que estos serán presentados a partir de categorías ubicadas desde lo internacional, nacional y local.

3.1 Internacionales

De esta manera, el primer artículo titulado, “Degradación de poliestireno y polipropileno con microorganismos de vermicompost” de San Salvador diseñado por Alonso *et al.*, (2002); expresa que el poliestireno (PS) y el polipropileno (PP) son dos de los materiales plásticos que representan un porcentaje considerable de peso y volumen en los residuos sólidos domiciliarios, ya que son empleados en la fabricación de diferentes elementos de la vida cotidiana del humano. Frente a esto, el autor plantea a partir de (Carrasco, 1991; Comisión técnica Plastivida, 1998; Morton y Surman, 1996) que una de las posibles vías de minimización de los plásticos, consistiría en recurrir a la biodegradación de dichos residuos (p. 2) teniendo en cuenta el ciclo de utilidad del plástico. Esta investigación se llevó a cabo con el objetivo de determinar si los microorganismos contenidos en un vermicompost, es decir, en el humus de la cría de lombrices de suelo servirían para la degradación de poliestireno y polipropileno, con la finalidad misma de emplear los microorganismos aislados en un tratamiento a gran escala. Para ello, se retomó un enfoque metodológico cuantitativo a partir del siguiente procedimiento: se colocaron rectángulos de 3,3 cm x 7,0 cm de lado debidamente pesados, obtenidos de diferentes desechos de poliestireno normal y de poliestireno expandido, además de polipropileno en contacto con vermicompost, ubicando las muestras a diferentes escalas de enterramiento y profundidad en un tiempo estimado de dos meses. Es necesario aclarar que este montaje se mantuvo a una temperatura promedio de 25° C y como último procedimiento, para cuantificar la biodegradación obtenida, se evaluó la pérdida de peso de cada muestra, siendo estas sometidas a un cepillado suave y lavado con una solución acuosa, para eliminar los restos de compost y microorganismo adheridos. Seguidamente, se realizó la eliminación de sustancias grasas con etanol y pasó a ser secado hasta obtener un peso constante. Finalmente, como resultado de esta investigación, se destaca que se presentaron pérdidas de peso desde los 0,11 mg hasta 1,83 mg, ello teniendo en cuenta los niveles de enterramiento de todas las muestras. Además, se evidencia que la velocidad más inferior de degradación en términos de mg por mes se mantuvo en 0,06, mientras que la mayor se presentó en un rango de 0,98, siendo esto un promedio para el periodo de tiempo estimado en este artículo.

En este sentido, este antecedente aporta al proyecto que se pretende desarrollar dado que, se identifican aspectos tales como la necesidad de que se fomenten nuevas alternativas con relación a la degradación del plástico. De igual manera, permite reconocer un tipo de metodología y procedimiento a seguir, para estimar la cantidad y porcentaje de degradación que se está llevando a cabo, además de apreciar un lapso de tiempo para la degradación de ciertos tipos de plástico ya que, en este aspecto se deben tomar en cuenta las principales características de los polímeros, tales como la duración, el promedio de uso, la densidad,

entre otras; pues esto permite reconocer que los organismos no degradan todo el plástico en su totalidad sino una cierta proporción.

Continuamente, se presenta el Trabajo de Grado de Velasco (2017), titulado “Biodegradación del polietileno de baja densidad, mediante el uso del lepidóptero *Galleria mellonella* bajo condiciones térmicas controladas” realizado en Perú. En este trabajo se determinan ciertas condiciones y variables bajo un diseño experimental, estas variables se hacen pertinentes para lograr que el gusano de seda biodegrade polietileno de baja densidad, esta investigación se realiza bajo una metodología cuantitativa de tipo aplicada, donde se utilizan conocimientos básicos en residuos sólidos y estadística aplicada en pro de un manejo adecuado con el trabajo experimental. Cabe resaltar, que en este texto se especifican características propias del organismo, tales como: tamaño, alimentación, color y muda. Haciendo alusión a datos del tamaño ideal en el que este organismo puede degradar plástico, siendo este de 22 mm a 27 mm, dado que es una medida en la que los lepidópteros tienen una mandíbula resistente y producen seda rápidamente.

Así mismo, se expone que el diseño experimental, se llevó a cabo con 10 individuos de *Galleria mellonella* que fueron elegidos al azar y puestos en una simulación de invernadero bajo dos condiciones de temperatura diferentes lo cual luego de un análisis permitió identificar una diferencia significativa entre la medida del promedio de biodegradación. Igualmente, se identificó que el organismo llegó a biodegradar aproximadamente 10.2 gr en un periodo de tiempo de 12 horas a diferencia de la segunda muestra donde la biodegradación fue mínima. Finalmente, se concluye que si es posible que este organismo biodegrade plástico de baja densidad desde un diseño experimental bajo condiciones establecida para obtener un desarrollo óptimo del organismo.

El antecedente, aporta a la presente propuesta ya que permite comprender la importancia del trabajo experimental con organismos de la naturaleza para la biodegradación de polietileno, además aporta aspectos relevantes en cuanto a las condiciones en las cuales se debe realizar el seguimiento para identificar la cantidad de plástico que se biodegrada. Así mismo, la parte metodológica brinda aspectos cuantitativos para tener en cuenta en el trabajo científico para promediar las cantidades y el número de organismos representativos con el cual se puede llevar a cabo dicho proceso experimental.

Particularmente, en el Trabajo de Grado titulado “Biodegradación de la Espuma de Poliestireno por la larva de *Tenebrio molitor* para la producción de Abono” realizada por Daviran (2017) en Perú se propone evaluar en qué medida la biodegradación de espuma de poliestireno se obtiene por la larva de *T. molitor* y de qué manera favorece a la producción de abono, para este proceso se determinó la eficiencia y el mejor tratamiento de biodegradación de la espuma de poliestireno por la larva de *T. molitor*. En el desarrollo de esta investigación, se utilizó una metodología experimental, en la cual se sometieron dos tipos de poliestireno expandido (EPS) de distintas densidades (10 Kg. /m³ y 40 Kg. / m³) a biodegradación por las larvas de *T. molitor* para cuantificar el consumo de EPS, la excreta producida y la variación de biomasa del gusano. Cabe mencionar que, durante los experimentos de esta investigación se observaron muchos factores que afectaron los resultados como el canibalismo, restos de exoesqueleto (mudas de piel) y la conversión de

fase a pupa de la especie y las condiciones ambientales en las cuales se desarrolló la investigación.

En este sentido, es importante mencionar que este trabajo aporta a la investigación en curso, ya que propone una metodología experimental desde la evaluación de los gusanos de harina, además brinda datos importantes sobre la cantidad de poliestireno que se consume, en qué se transforma, la cantidad de biomasa ganada, supervivencia de los organismos, dando así, un análisis explicativo que demuestra la importancia de seguir un estudio científico con este tipo de organismos, además brinda recomendaciones importantes como la utilización de larvas jóvenes debido a que los resultados pueden ser afectados porque las larvas cambian a pupa, lo cual influye en el tratamiento de EPS y la producción de abono, ya que se mantienen en esta fase por un periodo de tiempo aproximado de diez días, en el cual no se alimentan ni excretan.

Seguidamente, Molina *et al.*, (2016) en su artículo “Degradación de polímeros con *Tenebrio molitor*” de México, plantea la fuerte crisis que se ha ido afrontando debido al desmedido uso de polímeros y el fuerte impacto que estos han tenido en el ambiente. De esta manera, los autores buscaron una alternativa que posibilitará convertir lo que llamamos basura de polímeros en algo útil para algún ciclo de vida. En esa búsqueda de alternativas se encontró los mecanismos que han desarrollado las larvas de *Tenebrio molitor* en su etapa larvaria para degradar los polímeros, por ende, se realiza un experimento donde se selecciona un número definido de larvas las cuales se ubican en cuatro muestras con diferentes tipos de polímeros como: Unicel (poliestireno expandido), pañales, bolsas de basura y poliestireno. En el desarrollo de esta investigación se evidencia que las larvas de este coleóptero biodegradan cierta proporción de los polímeros que se les ha agregado en cada uno de los recipientes donde se disponen. Así mismo, se evidencia que todos los residuos fueron consumidos pero el poliestireno fue consumido en mayor proporción, además el tamaño de estos organismos cambió en proporción al consumo de su alimento, el excremento fue diferente dependiendo de su alimento y sirve como fertilizante para las plantas. De igual manera, se observó que el cambio de alimentación no afecta la salud y reproducción de estos organismos.

Este antecedente, es importante para la presente propuesta, ya que aporta información sobre el desarrollo del coleóptero además expone valores fundamentales en cuanto a la biodegradación que puede producir este organismo al consumir ciertos tipos de polímeros durante 45 días. Así mismo, se evidencia que ocurren ciertos cambios en cuanto al tamaño o la coloración de estos al consumir polímeros. De igual manera, brinda información oportuna, ya que desde el proceso de investigación que se realizó se evidencia que un cambio de alimentación no afecta al organismo, además es una evidencia para determinar cuánta cantidad de plástico puede ser biodegradado por este tipo de coleóptero y la importancia de continuar con el estudio del mismo para buscar alternativas en pro de lo ambiental y aprovechar los inigualables mecanismos que han desarrollado los organismos de la naturaleza para hacer frente a esa inminente problemática del plástico.

Consecutivamente, se retoma el artículo “Degradación de poliestireno a través del microbiota de *Tenebrio molitor* y *Artemia franciscana*” por Díaz de Sandy *et al.*, (2018) realizado en México. En este artículo, se plantea como eje principal la necesidad de generar soluciones a la crisis de contaminación que se está viviendo a nivel mundial, debido a la

ineficiente reutilización y la dificultad que los productos tienen para ser degradados. En este sentido, en el presente artículo se desarrollan pruebas con el microbiota de las larvas *Tenebrio molitor* y *Artemia franciscana*, para determinar el mecanismo que estos organismos tienen en la degradación de polímero. Cabe mencionar que, para la realización de esta investigación se establecieron tres tratamientos, cada uno con tres muestras, en ellos se colocaron aleatoriamente quince larvas de *Tenebrio molitor*. Al primer grupo de larvas, es decir, al grupo control se le proporcionaron 3 g de alimento para *tenebrio*; al segundo 2 g del alimento y 1 g de poliestireno; al tercero solamente 1 g de poliestireno; se mantuvo esta dieta durante una semana, a fin de adaptar las bacterias de *Tenebrio molitor* al polietileno. De igual manera, en este tiempo se realizó medición de la masa de los organismos y de polietileno para comprobar su consumo; a su vez se tomaron aleatoriamente por triplicado, veinte crustáceos de *Artemia franciscana* a las cuales se les suministró únicamente alimento para peces debido a que no se presentó consumo de poliestireno. Posteriormente, las dos especies fueron diseccionadas para obtener microbiota de cada una, se le realizó un aislamiento sobre placas con medio Luria Bertaini a 24 h y 30 ± 2 °C. Las colonias aisladas fueron incubadas en caldo nutritivo permitiendo el desarrollo bacteriano el cual se cuantificó por el método McFarland. Por último, los resultados obtenidos en esta investigación permiten establecer y concluir que la larva de *Tenebrio molitor* consume poliestireno, no obstante, el poliestireno no logra aportar todos los nutrientes a los gusanos. Igualmente, se reconoció que las bacterias aisladas de su tracto digestivo pueden utilizar el poliestireno como fuente de carbono.

Por lo anterior, es necesario mencionar que este trabajo aporta de forma significativa a la propuesta, pues permite identificar que las larvas de *Tenebrio molitor* biodegradan la espuma de poliestireno. De igual manera, la metodología manejada en este trabajo investigativo da un panorama del cómo se puede manejar y plantear el muestreo a llevar a cabo con *Tenebrio molitor* en condiciones de laboratorio, para así lograr identificar el grado de biodegradación que tiene este coleóptero y cómo mediante ello se pueden plantear alternativas que aporten a la degradación de plástico.

Finalizando con la categoría de antecedentes internacionales se presenta la investigación realizada por Bo-Yu Peng, Yiming Su, Zhibin Chen, *et al.*, (2019) denominado “Biodegradation of Polystyrene by Dark (*Tenebrio obscurus*) and Yellow (*Tenebrio molitor*) Mealworms (Coleoptera: Tenebrionidae)” realizado en California. En este estudio, se logró evidenciar que los gusanos de harina amarillos (*Tenebrio molitor*) biodegradan productos de poliestireno (PS). De igual manera, los investigadores determinaron que el gusano de harina oscuro (*Tenebrio obscurus*) puede comer PS. Así mismo, a partir de esta investigación se demostró que *T. obscurus* realiza mayor degradación de PS dentro del intestino que *Tenebrio. molitor*. Cabe mencionar que, durante el desarrollo de esta indagación, la espuma de PS expandida fue utilizada como única dieta, siendo la tasa de consumo específico de PS para *T. obscurus* y *T. molitor* de tamaños similares ya que en un área de 2,0 cm hubo una tasa de biodegradación de 62-64 mg por larva, siendo de 32.44 ± 0.51 mg 100 larvas para *T. obscurus* y, 24.30 ± 1.34 mg 100 larvas de *T. molitor*. Posteriormente, se llevó a cabo el análisis del peso molecular de PS residual en el excremento de estos organismos, destacando que, en el gusano de harina oscuro, este peso molecular disminuyó en un 26,03%, mientras que en el gusano de harina amarillo disminuyó un 11,67%. Además de esto, a partir del análisis termogravimétrico (TGA), se evidencio que las larvas de *T. obscurus* degradaron el PS efectivamente en función de la proporción de residuos de PS. Es importante mencionar que,

según estos autores, la harina de maíz alimentada juntamente con *T. obscurus* y el salvado de trigo con *T. molitor* aumentaron el consumo total de PS en un 11,6% y 15,2% para cada caso. En este sentido, los autores expresan que este procedimiento reveló cambios significativos en la comunidad microbiana intestinal de ambas especies de *Tenebrio* que se asociaron con la nutrición y biodegradación de PS, denotando cambios particulares en tres familias predominantes, *Enterobacteriaceae*, *Spiroplasmataceae* y *Enterococcaceae*.

El antecedente presentado, brinda aportes a este trabajo investigativo pues, en primera medida permite reconocer que la especie *T. molitor*, mediante la acción de diferentes organismos de su flora microbiana intestinal, lleva cabo un proceso de biodegradación de Poliestireno (PS) de forma favorable. Finalmente, los resultados de esta investigación indican que la biodegradabilidad de PS, puede que sea un factor particular de este género *Tenebrio*, lo cual, a nivel del problema ambiental por plásticos, puede ser un aporte, pues se proporciona una fuente biológica, natural y amigable con el ambiente, como lo es la biodegradación de residuos plásticos.

3.2 Nacionales

En el documento titulado “Informe de evaluación Relleno Sanitario Doña Juana (RSDJ)” realizado por Bacon y Reston (2007) en Bogotá-Colombia se expone datos importantes relacionados con el Relleno Sanitario de Bogotá donde se menciona que este lugar inició operaciones en 1989. Desde entonces, se tenía proyectada la clausura de este para el año 2016 con una disposición final total de 47, 000,000 toneladas, sin embargo, lo que se menciona en esta evaluación es que para el año 2007 se registran aproximadamente 27, 000,000 millones de toneladas, además se evidencia que, en la toma de muestras de la calidad de biogás, confirman que el biogás generado por el relleno sanitario contiene niveles de metano arriba del 50% (Bacon y Reston, 2007).

Por otra parte, se menciona que en el RSDJ no se tiene una práctica rutinaria de cobertura diaria, debido a que se trata de un relleno que funciona las 24 horas, 7 días a la semana; por lo cual, para llevar a cabo un seguimiento, se maneja una cobertura temporal de plástico que cubre los residuos que no se encuentran en área de descargue actual o en proceso de cierre final. El tipo de material utilizado es una lona plástica entretejida de color verde recubierta en una de sus caras por una película de polietileno que incrementa sus propiedades impermeables. Así mismo, dentro de esta investigación se expone que para realizar un censo de lo que llega a este lugar, un operador del relleno realiza un monitoreo de residuos mensualmente, en el frente de disposición de Zona VIII, usando el método de cuarteo, donde se escogen al azar cuatro vehículos recolectores, se mezclan sus basuras y de ahí se extraen cinco bolsas para realizar análisis fisicoquímico de estos residuos.

Finalmente, este antecedente nos permite conocer, en cierta medida el proceso que se lleva a cabo con los residuos sólidos en el relleno sanitario de la ciudad de Bogotá, así mismo se evidencia que el proceso de separación que se hace al llegar allí es por parte de los recicladores que separan lo que se puede recuperar y si no es posible que lo hagan, lo realizan los operadores seleccionando cuatro carros al azar para determinar en porcentaje que cantidad de residuos es la que llega a este relleno. Para este caso, fue importante conocer que se estima que llega un 19,8% de plástico el cual en su mayoría no puede ser recuperado; además de

sumarse al consumo de plástico las sábanas de este material que cubren las montañas de basura.

A continuamente, se presenta el Trabajo de Grado “Bioprospección de la degradación del polietileno” diseñado por Martín (2012) en Bogotá, en el cual se expone la problemática de plástico a nivel mundial y se realiza una recopilación de publicaciones de los últimos años que pretende aportar ideas para iniciar mejoras en los procesos implicados en la biodegradación de polietileno.

Como resultado de la investigación, la autora presenta que los actinomicetos y los hongos filamentosos son los microorganismos con mejores rendimientos en la biodegradación del polietileno y que cultivados en medios sólidos como el compost o en medios líquidos minerales realizan este proceso de biodegradación. Cabe mencionar que, según la autora, esta acción de biodegradación es posible por acción de enzimas microbianas como las hidrolasas, peroxidasas, oxidasas y oxidorreductasas de microorganismos como *Pseudomonas sp.*, *Arthrobacter sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Bacillus circulans*, cuyas enzimas se destacan en la degradación del polietileno.

De igual manera, en este documento, se expone la situación real de los polímeros en Colombia, resaltando que el volumen de estos va en aumento y por su difícil degradación es cada vez más común la acumulación de grandes volúmenes de plástico en los rellenos sanitarios, acortando así, la vida útil de estos (DANE, 2009 en Martín, 2012). Por lo cual, se hace absolutamente necesario plantear metodologías y alternativas que permitan mitigar esta problemática ambiental que se vive en Colombia. Ante esto, la autora expone y plantea una metodología para la biodegradación del polietileno, teniendo como primer paso pulverizar el plástico, agujerearlo y exponerlo a la luz solar para disminuir el tiempo de degradación y mejorar la acción enzimática de microorganismos como *Rhodococcus ruber*, *Pseudomonas* y *Aspergillus sp.*, siendo esto una alternativa viable para la problemática ambiental existente en Colombia.

Del antecedente presentado, es posible recoger elementos de importancia, pues por un lado se comprende que la biodegradación es regida por diferentes factores, entre las que se incluyen características del polímero, el tipo de organismos y de acuerdo esto, el pretratamiento que se le puede efectuar a los diferentes tipos de plástico, como es el caso de la pulverización. Así mismo, a partir de esta investigación, se resalta la importancia de identificar los microorganismos y demás especies que actúan en el proceso de biodegradación de plástico como es en este caso las larvas de *Tenebrio molitor*, pues como se señala en este antecedente, aunque diferentes microorganismos degradadores de polietileno han sido descubiertos, muchas especies de las que realizan este proceso no han sido identificadas por los investigadores, lo cual puede presentar un sesgo en la información de microorganismos degradadores de polietileno y las enzimas que producen para el desarrollo de esta biodegradación.

Por otra parte, en el artículo titulado “Importancia de la contaminación de los plásticos desde un enfoque CTSA” realizado por Castillo *et al.*, (2017) de Bogotá- Colombia, se expone la importancia de generar diversos procesos de enseñanza con respecto a los polímeros y el impacto social, ecológico y cultural que tienen los plásticos en el ambiente. Así mismo, en el

desarrollo de este antecedente se menciona lo importante que es adquirir conocimientos sobre la estructura orgánica de los polímeros, su degradación y su impacto social, cultural y ambiental en la vida cotidiana para así construir propuestas y soluciones que aporten a la amplia problemática de la contaminación por plástico.

Finalmente, este antecedente permite conocer cómo se está trabajando la problemática de contaminación por plástico desde la enseñanza en los centros educativos, además brinda elementos que son fundamentales para generar pensamiento crítico, este relacionado siempre con el sujeto y desde la cercanía que éste tenga con la problemática. Además, frente a esas situaciones particulares busca generar nuevas formas de pensamiento que posibiliten disminuir o cooperar al amplio problema de contaminación por plásticos de la actualidad.

3.3 Locales

Se realizó una revisión bibliográfica de artículos locales, entre los cuales, se observó el trabajo realizado por Quintero (2014), titulado “Construcción de un biodigestor y sus implicaciones en la enseñanza de la química: una experiencia de aula basada en una cuestión socio científica (CSC)” de Bogotá Universidad Pedagógica Nacional, en el cual se propone contribuir al desarrollo del pensamiento crítico de los estudiantes y a la mejora de las actitudes hacia el aprendizaje de la química, mediante una estrategia didáctica relacionada con cuestiones socio científicas, asociadas a energías renovables y en el diseño y construcción de un biodigestor. De esta manera, en este trabajo se expone que es importante generar nuevas estrategias que permitan enseñar química y las interacciones que se pueden explicar a partir de esta y que están presentes en esas cuestiones socio científicas. Para llevar a cabo esta relación, se planteó la construcción de un bioproceso el cual se utilizó para relacionar conocimientos particulares que incentivarán el aprendizaje de la química, además que permitieran que los estudiantes desarrollarán un pensamiento crítico para que de esa manera construyeran una postura clara y argumentada sobre la explotación de los recursos naturales y el daño que esto ocasiona a las comunidades. Sin duda, en este trabajo se expone que los sujetos luego de esta experiencia pueden proponer en el contexto educativo otro tipo de alternativas que puedan contribuir al ambiente desde la enseñanza de la química.

Particularmente, este antecedente aporta elementos importantes a esta propuesta, ya que se encuentra en un contexto educativo y esto permite percibir la incidencia que tuvo la construcción de un bioproceso para la enseñanza de la química, en este caso, se podría tener en cuenta para relacionarlo en el contexto de la enseñanza de la biología. Además, brinda elementos que aportan a esta investigación ya que la propuesta se centra en cuanto a la viabilidad para diseñar e implementar un bioproceso en el contexto educativo.

Seguidamente, se presente el artículo “Referentes de la Biotecnología para la Enseñanza de las Ciencias Naturales” realizado por Roa (2010) en Bogotá como avance de tesis doctoral, correspondiente al grupo de investigación Conocimiento Profesional del Profesor de Ciencias de la Universidad Pedagógica Nacional de Colombia; en este texto el autor busca evidenciar una serie de características que subyacen a la Biotecnología como campo de conocimiento científico. De igual manera, expone las implicaciones que tiene la Biotecnología para la enseñanza de las ciencias, así como la necesidad de que los docentes estén constantemente actualizados para llevar el conocimiento al aula de clase de manera didáctica, conociendo su

naturaleza e interconexiones económicas, políticas y ambientales desde un enfoque sistémico, complejo y crítico. No obstante, el autor indica que “es una constante que el ritmo de desarrollo de la investigación en educación, por parte de los profesores, y su respectiva implementación en las aulas de clase, se encuentre de manera muy distante del desarrollo del conocimiento científico, motivo por el cual la enseñanza y aprendizaje en este caso de las ciencias, tiende a rezagarse, ocasionando que los estudiantes no obtengan los conocimientos de la forma más apropiada” (Roa 2010 p. 170 - 171).

En relación con lo dicho, el autor expresa que existen investigaciones y propuestas para llevar la enseñanza de la biotecnología al aula de clase en todos los niveles de formación, particularmente en la formación de profesores de biología, sin embargo, estas no son ejecutadas o desarrolladas; destacando así la necesidad de identificar los aspectos que desde la didáctica de las ciencias se han desarrollado para así proponer elementos que conduzcan a la concreción del conocimiento didáctico del contenido biotecnológico.

De esta manera, Roa (2010) enfatiza que la educación en ciencias, principalmente las biológicas cumplen un papel fundamental en la enseñanza, por lo cual se considera que el conocimiento escolar biológico se constituye como un elemento fundamental para transformar el pensamiento y conocimiento lineal de las personas frente a la realidad de lo vivo y la interacciones que emergen de la naturaleza, resaltando que, esto según este mismo autor debe ir unísono con el desarrollo del conocimiento biológico y biotecnológicos, siendo necesario que el profesor de biología cuente con una mejor formación, preparación y profesionalización en el conocimiento disciplinar, el contenido biológico y biotecnológico así como el conocimiento didácticos, de forma tal que estos conocimientos se integren para favorecer no solo el aprendizaje y comprensión, sino también una valoración y actitud crítica propositiva ante los adelantos científicos (p. 176 - 177).

4. MARCO TEÓRICO

4.1 Biotecnología Ambiental

La biotecnología abarca una amplia área del conocimiento, que contempla ciencias como la biología molecular, microbiología, biología celular, genética, entre otras; así como de la ciencia aplicada, es decir, técnicas inmunológicas, bioquímicas y técnicas basadas en la física y la electrónica, además de otras tecnologías (Muñoz de Malajovich, 2012 p. 28). Por tanto es importante reconocer que debido a los diferentes avances en la ciencia y la tecnología, actualmente se distingue una Biotecnología clásica y una Biotecnología Moderna, lo que ha conllevado a comprender numerosos intentos por redefinir el campo de la Biotecnología.

En este sentido, en el texto Centro de Actividad Regional para la Producción Limpia CAR/PL (2003) se argumenta que “La Biotecnología es un conjunto de poderosas herramientas que utiliza organismos vivos (o parte de estos organismos) para obtener o modificar productos, mejorar especies de plantas y animales o desarrollar microorganismos para la producción de bienes y servicios” (p.11) igualmente, de acuerdo con la Oficina de Asesoría en Tecnología del Gabinete de Prensa del Gobierno de Estados Unidos se señala que hay dos definiciones de Biotecnología, una que engloba la antigua Biotecnología pues se menciona que la

“Biotecnología es toda técnica que usa organismos vivos (o parte de ellos) para crear o desarrollar microorganismos para usos específicos” y otra que se aplica especialmente a la Biotecnología Moderna, ya que hace referencia a que “La Biotecnología es la industria que utiliza ADN recombinante, fusión celular y nuevas técnicas de bioprocesos” (CAR/PL 2003 p. 12).

Con relación a lo dicho, el presente trabajo investigativo a partir de Convenio sobre la Biodiversidad (1992) asume que la Biotecnología es “toda aplicación tecnológica que utiliza sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos”. Así mismo, en este proyecto se reconoce que este campo al ser multidisciplinario permite ser abordado desde lo educativo y con ello aportar a la enseñanza de las ciencias, por lo cual se considera esencial la inclusión de enseñanza de la Biotecnología, ya que según Klop y Severiens (2007) en Ocelli (2013) la enseñanza de este campo permite que los ciudadanos elaboren y postulen opiniones argumentadas frente al conocimiento biotecnológico y su aplicación (p. 56).

Por otra parte, al asumir una postura clara de Biotecnología, es pertinente visibilizar está en términos ambientales, es decir, abordar la Biotecnología Ambiental señalando que esta “suele entenderse como la aplicación de las herramientas y métodos biotecnológicos a la resolución de los problemas ambientales” (Bécares, E. 2014 p. 81). De igual manera, es válido comentar que, según la ISEB (Sociedad Internacional de la Biotecnología Ambiental) citada en Bécares, E. (2014) la Biotecnología Ambiental es definida como “la unión de dos grandes disciplinas, es decir, la integración de la ciencia para el desarrollo, uso y regulación de los sistemas biológicos obteniendo a su vez la descontaminación del ambiente como el desarrollo de procesos amigables con el ambiente” (p. 81). Adicionalmente, la Biotecnología Ambiental puede ser asumida como la “gestión de las comunidades microbianas para proporcionar servicios a la sociedad y el medio ambiente” (Rittmann, 2006) en (Bécares, E. 2014 p. 86).

En consecuencia, la presente investigación considera que la Biotecnología Ambiental es un campo que busca a partir de la aplicación de diferentes herramientas y métodos aportar a la mitigación de los problemas ambientales que alteran los ecosistemas naturales, como lo es en este caso la contaminación por plástico, donde se aplican procesos como la biodegradación de contaminantes, siendo estos, procesos que consisten en la utilización de microorganismos para transformar los compuestos químicos en biomasa microbiana u otros compuestos.

4.2 Plástico

Particularmente, el plástico ha sido uno de los elementos más utilizados a lo largo de la historia debido a los innumerables beneficios que ha traído consigo para la sociedad, este producto ha tenido un alto interés comercial, debido a las propiedades que lo caracterizan, ya que son estas la que le permiten ser moldeado en infinidad de formas, generando miles de productos. De igual manera, el plástico ha reemplazado otros materiales, por su bajo costo, su poco peso, permeabilidad, durabilidad e higiene. En su mayoría, el plástico proviene del petróleo y se estima que entre un 5% y un 7% de la producción mundial de este recurso, es destinado a la producción de este material. (ACRR *et al.*, 2004 citado en Téllez, 2012 p. 14).

De igual manera, es importante mencionar que el plástico es un material inorgánico que puede durar un largo periodo de tiempo, se estima que puede tardar en degradarse entre 100 y 1000 años dependiendo del tipo de plástico (González y Manhini, 2003 en Téllez, 2012 p. 14) Así mismo, lo que ocasiona que este elemento dure tanto tiempo sin degradarse es su relación entre resistencia/densidad, ya que estas son las características que hacen que el plástico sea excelente para el aislamiento térmico y eléctrico y tenga una buena resistencia a los ácidos, álcalis y disolventes. (Díaz, 2012 p. 2).

Por otra parte, Garavito (2007) expone que el proceso de producción de plástico se lleva a cabo mediante un proceso conocido como polimerización, ya sea por adición, por condensación, o por etapas, donde se crean grandes estructuras moleculares a partir de moléculas orgánicas. Estas moléculas pueden ser lineales, ramificadas o entrecruzadas, dependiendo del tipo de plástico (p. 8). Además, estas le permiten deformarse hasta conseguir una forma deseada por medio de extrusión, moldeo, hilado, etc., es decir, que es un material resistente y duradero pero que en un aumento desmedido y en la cultura del uso y desuso se ha convertido en uno de los mayores residuos depositados en el ambiente y ha llegado a ser un producto difícil casi imposible de degradar debido a sus características.

Dentro de la problemática ambiental por plástico es pertinente hacer referencia a los denominados **microplásticos** los cuales han tomado relevancia en la actualidad, aunque son poco conocidos, dentro de esta investigación es importante darlos a conocer, dado que son pequeñas partículas y fibras de plástico que no presentan hasta el momento estándares establecidos para determinar el tamaño máximo de una partícula, pero según FAO (2017) se caracterizan generalmente por que el diámetro de estas partícula es inferior a 5 milímetros, esta clasificación abarca las nanopartículas que constituyen fragmentos de menos de 100 nanómetros (p.2). Esas partículas se clasifican en gran medida con base a las características morfológicas: tamaño, forma y color. El tamaño en este caso es un factor importante para estudiar los micro plásticos porque sería un indicador para conocer la medida en que los organismos pueden verse afectados por este tipo de elementos.

Posteriormente, la producción y uso de micro plásticos en el mundo ha aumentado exponencialmente desde la década de 1950 hasta alcanzar más de 320 millones de toneladas en 2015 (FAO, 2017. P.3). Debido a esto los micro plásticos se han clasificado en dos categorías generales:

Los micro plásticos primarios, que se fabrican intencionalmente de un cierto tamaño, tales como los granulados, polvos y abrasivos domésticos e industriales. Los micro plásticos secundarios, provenientes de la degradación de materiales más grandes, sea por su fragmentación en micro plásticos (como bolsas de plástico, materiales de embalaje de alimentos y cuerdas, por ejemplo) o las emisiones de micro plásticos durante el transporte terrestre (la fuente más importante es la abrasión de los neumáticos de automóviles en uso). Inicialmente, los micro plásticos provenían de la abrasión, degradación y la fragmentación física de fuentes de origen terrestre. Más recientemente, la fabricación de micro plásticos y nano plásticos ha exacerbado aún más su presencia en el medio ambiente y sus riesgos potenciales (FAO,2017).

Finalmente, cabe resaltar que los primeros informes sobre la contaminación por micro plásticos se presentaron a causa de residuos plásticos de varios tamaños, estos se publicaron en la década de 1960, y se basaron en estudios del contenido estomacal de aves marinas varadas. Se realizaron estudios en el sector de la pesca y acuicultura teniendo en cuenta que allí se usa el plástico para fabricar aparejos de pesca, jaulas y para construir y mantener embarcaciones, también se utilizan cajas y materiales de embalaje de plástico para transportar y distribuir el pescado y los productos pesqueros. Todos estos usos del plástico en el sector de la pesca y la acuicultura constituyeron una fuente potencial de producción de micro plásticos. Sin embargo, no se registran datos cuantitativos del aporte total de micro plásticos en el medio marino debido al difícil conteo de este material en partículas.

4.2.1 Tipos de plástico

En la actualidad, los residuos plásticos han llegado a invadir diversos lugares en los que han causado múltiples afectaciones, por ende, se hace importante comprender en términos generales los plásticos. Por tanto, en la (Tabla N°1) se pretende explicar brevemente los códigos y características de los plásticos, donde se evidencian los siete tipos de plásticos que se han catalogado a nivel mundial, con el propósito de facilitar la actividad del reciclaje.

Tabla 1. Siete tipos de plásticos catalogados a nivel mundial modificada de Ortiz (2017).

Código de reciclado	Propiedades	Aplicaciones	Posibles organismos que biodegradan
1. PETE	Polietileno tereftalato: (PET, PETE), también conocido como poliéster. Es un tipo de plástico transparente, tiene buenas propiedades como barrera al gas y la humedad, dureza y resistencia al color.	Es frecuente encontrarlo en botellas de refresco especialmente agua, envase de productos perecederos como mantequilla, salsas y comida precocinada para horno.	Bacteria <i>Ideonella sakaiensis</i> Hongo <i>Aspergillus tubingensis</i>
2. HDPE	Polietileno de alta densidad: Tiene resistencia al ataque químico y a la humedad, contempla permeabilidad al gas y presenta facilidad al ser procesado.	Se encuentra en botellas de leche, zumo, cosméticos, detergentes y bolsas de envase.	Hongo <i>Fusarium rodolens</i> , <i>Acremonium kiliense</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> y <i>Verticillium lecanii</i> .
3. V	Cloruro de polivinilo: PVC Presenta una excelente resistencia al ataque químico, exposición solar, calor, buen aislante, y gran resistencia mecánica. También es	El rígido se usa en botellas y todo tipo de envase transparente, tuberías, carpintería y construcción. El flexible se usa en bolsas de sangre y	Hongo <i>Fusarium culmorum</i>

	<p>favorable por su transparencia y facilidad de mezclado con otros componentes, además lo hay flexible y rígido en función de las aplicaciones a la que se destina.</p>	<p>accesorios de oficina, tubos de aplicación en medicina recubrimiento de cables, pavimentos sintéticos, pinturas y recubrimientos. En general, aplicaciones que requieran de buenas propiedades aislantes y resistencia al calor.</p>	
4. LDPE	<p>Polietileno de baja densidad: Es resistente, su transparencia es media, presenta flexibilidad, barrera a la humedad, facilidad de procesado y sellado.</p>	<p>Tapas flexibles para envase, todo tipo de bolsas para comida, y fundas de ropa.</p>	<p>Bacteria <i>Acinetobacter;</i> <i>Acanthopleurobacter;</i> <i>Achromobacter;</i> <i>Bacillus;</i> <i>Escherichia;</i> <i>Enterobacter;</i> <i>Micrococcus;</i> <i>Pseudomonas</i> Hongos <i>Alternaria,</i> <i>Aspergillus;</i> <i>Aureobasidium.</i></p>
5. PP	<p>Polipropileno: Presenta buena resistencia química, alto punto de fusión y por tanto resistencia al calor, alta dureza, y buena barrera a la humedad.</p>	<p>Tiene aplicaciones tanto flexibles como rígidas que se requiera resistencia al calor, como componentes para automoción, y contenedores de líquidos calientes.</p>	<p><i>Pseudomonas</i> <i>Bacillus</i></p>

6. PS	Poliestireno: Este tipo de plástico puede ser rígido o expandido, presenta alta transparencia, además tiene propiedades aislantes y facilidad del procesado. También tiene un punto de fusión relativamente bajo y frágil.	En sus aplicaciones se puede encontrar en expandido: en envase de protección, bandejas, vasos desechables, y aislante en construcción. En rígido: se puede encontrar en tapas y contenedores como cajas de CD, vajilla y cubertería de desechables, en envases de yogur, y huevos.	<i>Pseudomonas fluorescens;</i> <i>Staphylococcus</i> sp; <i>Pseudomonas aeruginosa.</i>
7. OTROS	Utilizados para materiales distintos a los anteriores, suelen ser mezclas complejas de difícil recuperación.	Se puede presentar en todo tipo de aplicaciones.	---

Posteriormente, los tipos de plásticos que predominan en el mercado local son: el **Polietileno tereftalato** el cual, debido a su facilidad para ser tratado y recuperado es muy requerido por la industria. Igualmente, el **Polietileno de alta densidad** por su densidad y características químicas, es el material plástico mejor pago en el mercado, por tanto, es más rentable que otros tipos de plástico. Por su parte, el **Cloruro de polivinilo** utilizado normalmente en el campo de la construcción y el atractivo de este tipo de plástico es mayor si se trata de grandes cantidades de material. Así mismo, el **Polietileno de baja densidad** es un tipo de plástico predominante en el mercado, pues es utilizado y visto regularmente como empaques y bolsas. Por último, el **Polipropileno** es un tipo de plástico que suele estar en conjunto con otros tipos de plástico lo que dificulta su separación por lo cual aumenta los costos de mano de obra, disminuyendo así el margen de utilidad sobre este tipo de material. Es importante resaltar que "los plásticos más abundantes son el polietileno de baja densidad, poliuretano y el poliestireno, estos representan aproximadamente un 70% del total de plásticos producidos" (Vidal, 2008 citado en Velasco. 2017. p.3).

Finalmente, para el desarrollo del bioensayo y diseño de guías prácticas de laboratorio de aislamiento y bioproceso de esta investigación se utilizarán dos tipos de plástico: el Polietileno de baja densidad (LPDE) y el Poliestireno (PS) estos serán los que se le dispongan a las larvas del coleóptero *Tenebrio molitor* para así, identificar el nivel de biodegradación. Es importante mencionar, que se decide trabajar con estos tipos de plásticos, ya que son aquellos que no se recuperan fácilmente y a los cuales los recicladores no le dan gran importancia debido a que no es relevante para el sector económico, además de ser uno de los tipos de plástico que más se produce y que en su mayoría se desecha en los lugares menos adecuados.

4.3 Problemática ambiental por plástico

Para llegar al complejo tema de la problemática ambiental por plástico, es fundamental conocer que el primer plástico se origina como resultado de un concurso realizado en 1860 y a partir de este suceso, se fueron desencadenando nuevas ideas y formas de construir otros elementos que beneficiarán las necesidades del ser humano. Por ende:

En 1909 el químico norteamericano de origen belga Leo Hendrik Baekeland (1863-1944) sintetizó un polímero de interés comercial, a partir de moléculas de fenol y formaldehído; este plástico se denominó con el nombre de baquelita (o bakelita), el primer plástico totalmente sintético de la historia. Los resultados alcanzados por los primeros plásticos incentivaron a los químicos y a la industria a buscar otras moléculas sencillas que pudieran enlazarse para crear polímeros. (Garavito. 2007. p.6).

En este sentido, es importante mencionar que el plástico ha traído consigo innumerables beneficios para el desarrollo humano, ya que a lo largo del tiempo los elementos a base de plástico se han convertido en productos económicos en el mercado y han pasado a ser los elementos más utilizados por el hombre, hasta el punto de llegar a producir tantos residuos plásticos que han ido desencadenando un problema mundial, puesto que el plástico al ser un producto fácil y barato para su fabricación, está ocasionando que las personas solo lo utilicen una vez y enseguida lo desechen y vuelvan a comprar otro sin darse cuenta que es así como se da inicio a la contaminación, está desarrollada debido al largo periodo que demora en degradarse el plástico causando así innumerables daños al ambiente (Téllez, 2012).

Consecuentemente, la problemática ambiental que se ha ido desencadenando por los altos porcentajes de plástico es un tema que ha tomado fuerza en los últimos años debido a la alta producción de este contaminante, pues "el plástico usado representa el 10% del total de los desechos producidos anualmente" (Barnes *et al.*, 2009 citado en Velasco, 2017 p.1) el cual permanece en el ambiente por cientos de años, dependiendo de su composición química (Cózar *et al.*, 2014 citado en Velasco, 2017 p.1).

Por otra parte, es pertinente mencionar que, aunque los residuos plásticos no se han considerado como elementos peligrosos, si tienen fuertes implicaciones ambientales, ya que son acumulativos y de larga duración, lo que incide en que tengan un extenso tiempo de degradación (entre 100 y 1000 años) generando así, que no se reincorporen fácilmente a los ciclos naturales, permaneciendo por largos periodos y afectando de diferentes maneras los lugares donde quedan dispuestos (Téllez, 2012, p. 1).

En consecuencia, se han desarrollado opciones que ayuden a minimizar esta enorme problemática ambiental por plástico, una de esas opciones es el denominado reciclaje. Para el caso de Colombia se utiliza el reciclaje primario y el secundario, ya que como expone Téllez (2012) el reciclaje terciario y el cuaternario no se ha desarrollado por sus altos costos económicos"(p.24). De esta manera, es pertinente mencionar que en los últimos años desde estudios realizados en el Relleno Sanitario Doña Juana (RSDJ) se encontró que la recuperación informal que hay en la ciudad Bogotá logra una cobertura de cerca del 60% en papel y cartón, 50% en vidrio y sólo un 6% en plástico, es decir, que el bajo porcentaje de recuperación de plásticos en la ciudad está asociado al gran esfuerzo requerido, debido a los

altos volúmenes necesarios para generar un peso significativo que justifique la separación y el transporte con el pago. Por lo que hay preferencia de los recicladores a recuperar otros materiales (Téllez, 2012 p. 24).

Finalmente, es necesario exponer una serie de datos relevantes de la ciudad de Bogotá debido a que es en este lugar donde se llevará a cabo esta investigación, por ende se resalta que aunque en esta ciudad las cadenas del reciclaje permiten mitigar el problema de los residuos, no funcionan en su totalidad ya que según Téllez (2012) los ciudadanos “se enfrentan a diferentes variables culturales, sociales y económicas como: la separación, el estado de los residuos, la posibilidad de recolección, acumulación, transporte y el mercado de reciclaje; los cuales influyen en el adecuado aprovechamiento de los residuos” (p.1). Esto haciendo que al final no se obtengan los resultados esperados con la manera de reciclar y que los desechos plásticos resulten en lugares no adecuados, haciendo aún más difícil la problemática ambiental a la cual se le pretende hacer frente.

4.4 Biodegradación de plástico

En cuanto a la degradación de plástico, es importante mencionar que “en el mundo anualmente se colocan en sitios de disposición final de basuras más de 16 millones de toneladas de plástico provenientes del consumo creciente de múltiples productos de uso cotidiano, rural o industrial” (Martín, 2012 p. 10) que con el paso del tiempo van afectando el ambiente. Por lo tanto, es importante postular estrategias y alternativas que permitan abordar esta problemática de forma favorable, siendo dichas estrategias, procesos relacionados con la biodegradación del plástico en todas sus dimensiones.

Siendo así, es necesario posicionarse desde una visión de lo que es la biodegradación, destacando que son diversos los autores que han dado un soporte frente al tema; tal es el caso de Tokiwa, 2009 citado en Meza (s.f) quien postula que:

La biodegradación es un proceso metabólico y enzimático realizado por microorganismos como bacterias y algunos hongos, los cuales secretan enzimas que se encargan de biodegradar o romper la estructura molecular del plástico reduciéndolo en su peso a través del tiempo. (p.5).

De otra manera, el proceso de biodegradación también es concebido según Barajas (2011) en Velasco, (2017) como la acción, donde los microorganismos utilizan algunas sustancias químicas a manera de sustrato, siendo estas a su vez empleadas en la producción de energía, creación de otras sustancias tales como aminoácidos, nuevos tejidos y organismos (p.7). Así mismo, este proceso puede ser comprendido como “(...) una descomposición orgánica por microorganismos, en la que los materiales pueden biotransformarse en sustancias más simples” (Gómez y Sáiz, 2013). De forma concreta, lo que pretenden exponer los autores anteriormente mencionados, se basa en que la biodegradación es un proceso en el que se lleva a cabo un consumo de sustancias por parte de microorganismos. Cabe mencionar que, según Barajas (2011) en Velasco, (2017) y Tokiwa, 2009 citado en Meza (s.f) el grado de biodegradación se da, de acuerdo con las condiciones ambientales, entre las que se destaca la temperatura, la humedad, el pH y la presión parcial de oxígeno.

En concordancia a lo dicho, se presenta que la biodegradación es un proceso metabólico por el cual los organismos transforman o mineralizan contaminantes orgánicos en compuestos menos peligrosos y en menos cantidad, de tal manera que puedan integrarse fácilmente a los ciclos biogeoquímicos naturales (Vidali, 2001, citado en Posada, 2007 p. 36).

En este sentido, asumiendo una posición de biodegradación, se pretende exponer que el problema de los plásticos es un aspecto preocupante ya que la mayoría de estos productos tiene un proceso largo de degradación como es el caso de las bolsas plásticas (polietileno de baja densidad), las cuales para degradarse demoran 150 años en descomponerse” (Velasco, 2017 p. 7). Por lo tanto, implementar procesos de biodegradación de plástico a partir de organismos, es una alternativa amigable con el ambiente, que permite mitigar una cierta parte los problemas de contaminación que está viviendo el planeta Tierra en la actualidad. Siendo así, en el presente trabajo, se considera que “la biodegradación del plástico es el proceso mediante el cual las sustancias se eliminan o biotransforman por acción de organismos vivos (González, T. Atagana, *et al.*, 2004 en Velasco, 2017).

Frente a lo dicho, se identifica que, según Martín, (2012) entre los microorganismos con mejor rendimiento en la biodegradación de polietileno, se encuentran los *Actinomicetos* y los hongos, siendo este proceso posible por la acción de enzimas microbianas como las hidrolasas, peroxidasa, oxidasas y oxidorreductasas de microorganismos como *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp., *Rhodococcus* sp., *Bacillus circulans*, cuyas enzimas se destacan en la degradación del polietileno (p. 10). Por su parte, Zahra *et. al.*, 2010 y Ojeda *et. al.*, 2009 en Martín, (2012) coinciden en que el género *Aspergillus* sp degrada el polietileno, así como también hongos del género *Penicillium* sp.

De esta manera, se destaca que existen diferentes organismos degradadores de plástico que a lo largo del tiempo han sido descubiertos a partir de diversas investigaciones, como es el caso del gusano de harina *Tenebrio molitor*, siendo este un organismo que mastica y degrada películas de plástico y por medio del cual, se pueden y se deben hacer propuestas y alternativas viables para el país, donde no solo se reconozcan a los microorganismos como biodegradadores de plástico, sino que además se incluyen algunos insectos, como lo es en este caso el gusano de harina *Tenebrio molitor*.

4.5 Marco Biológico - *Tenebrio molitor*

En este apartado, se exponen las características biológicas del coleóptero *Tenebrio molitor*, las cuales son pertinentes para el desarrollo de esta propuesta, ya que permiten conocer los procesos biológicos de estos organismos es sus estadios de crecimiento además identificar las condiciones ambientales apropiadas para su desarrollo, cabe resaltar que, se seleccionó este como modelo, puesto que es un buen ejemplo biológico para la realización de bioensayos en la biodegradación de plástico. Para esta propuesta es importante conocer su clasificación taxonómica.

Taxonomía

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Coleoptera

Familia: Tenebrionidae

Género: *Tenebrio*

Especie: *T. molitor*, Linnaeus en 1758.

(Blazco-Zumeta s.f.).



Fig.1 Organismos de la especie *Tenebrio molitor*.
Tomada por: Álvarez, N y Botache, L. 2019.

De acuerdo con la Entomological Society of Canada, *Tenebrio molitor* descrito por Linnaeus en 1758 es una especie originaria de Europa, que actualmente se distribuye en todo el mundo. El gusano de harina, como comúnmente se le conoce, es una larva de escarabajo oscuro de la familia Tenebrionidae que pertenece al orden Coleoptera de la clase Insecta.

Este insecto, contempla una metamorfosis completa, puesto que presenta cuatro etapas durante su ciclo de vida, razón por la cual, como lo expresa Daviran (2017) son organismos llamados holometabólicos. Cabe mencionar que estas cuatro fases según Yang (2015) citado en Daviran (2017) son: huevo, larva, pupa y adulto, contemplando así un ciclo de vida que puede durar de 280 a 630 días. No obstante, la duración del ciclo de vida, y el tiempo que transcurre entre cada fase varía y depende de las condiciones ambientales, tales como la temperatura, humedad e iluminación, pues como lo indica Díaz (2014) el ciclo biológico está entre los 9 a 23 meses, tiempo que se puede acortar a 2.5 meses con condiciones ambientales óptimas.

En este sentido, es necesario comprender que este organismo, por lo general buscan refugios que no contemplen iluminación. De acuerdo con Daviran (2017) y Díaz (2014), los parámetros óptimos de temperatura están entre 25 a 27°C y una humedad del 70 al 80 %. Es importante mencionar que, a mayor temperatura, habrá mayor velocidad de reproducción. Así mismo, estos organismos en ambientes de poca humedad no excretan, evitando así la pérdida de agua, igualmente, pierden carbono para mantener un nivel apropiado de humedad. (Buxton citado por Edney, 1957, p.53 en Daviran 2017, p.25).

De otra manera, en cuanto a la primera fase, es decir, la fase de huevo se evidencia que este, se caracteriza por ser blanco, en forma de riñón, de pequeño tamaño y un tanto pegajoso. Igualmente, según Díaz (2014) a lo largo del ciclo de vida, las hembras llegan a depositar desde 250 a 1000 huevos, los cuales se incuban en un periodo de 4 a 18 días. Al pasar este tiempo, los huevos eclosionan y las larvas emergen, estas son de color blanco al principio y van tomando un color amarillo a medida que se van desarrollando, su tamaño puede variar entre los 20 a los 32 mm de largo con un peso entre 130 y 160 mg y cuando están completamente desarrolladas, como lo indican Díaz (2014) y Derivan (2017) pueden medir entre 2.5 a 3.75 cm de largo, resaltando que a los tres meses, las larvas ya se encuentran en un estado de desarrollo. Así mismo, la larva de esta especie presenta un exoesqueleto duro el cual mudara entre nueve y doce veces (Giudice, 2016). De igual manera, a lo largo de su desarrollo y crecimiento, cuenta con seis (6) propatas en los primeros segmentos. Cabe

mencionar que las larvas no soportan temperaturas inferiores a los 4°C, ni por arriba de los 30°C (Giudice, 2016). No está de más mencionar que, para mantener las larvas vivas, detenidas en su desarrollo durante cierto tiempo, como lo indica Giudice (2016) se deben mantener en temperaturas entre los 4 y 6°C.

Continuamente, durante la última muda del exoesqueleto, el gusano de harina pasará a la etapa de pupa, de forma curva y de color blanco, que irá cambiando progresiva y lentamente a marrón, poco móvil (Giudice, 2016). No presenta boca ni ano, presenta protuberancias que más adelante se convertirán en alas y patas funcionales. Esta fase de pupa se desarrolla a 25°C con una duración aproximada de siete a nueve días, extendiéndose hasta veinte días o más de acuerdo con las condiciones de temperatura.

En la última etapa, este insecto es un escarabajo blanco de exoesqueleto suave, que con el paso del tiempo se va endureciendo y tornando a un color negro – marrón en la parte superior y negro – rojizo en la parte inferior del cuerpo, contempla un protórax punteado y élitros con estrías longitudinales, cuenta con alas duras, sin embargo, no puede volar. Este escarabajo en condiciones óptimas puede vivir hasta tres meses, llegando a medir de 15 a 18 mm de largo y 5 mm de ancho. Son sexualmente maduros en su segunda semana de vida y la ovoposición se inicia después de unos ocho días de comenzar los apareamientos (Giudice, 2016).

Por otra parte, en cuanto a la posibilidad que tiene este organismo de biodegradar poliestireno, a partir de los trabajos que anteceden a este se comprende que este proceso se encuentra establecido por “los cambios de las propiedades físicas y químicas del desecho orgánico de los gusanos de harina, los cuales, al pasar por el sistema digestivo, se convierten en dióxido de carbono y biomasa (Derivan, 2017). Así mismo, a partir del trabajo desarrollado por Derivan (2017) y el análisis que este realizó sobre la investigación propuesta por Yang (2015), se reconoce que el proceso de degradación que lleva a cabo *T. molitor* consiste en que el estireno es masticado en pequeñas fracciones, permitiendo así, aumentar el área de contacto entre las bacterias, el poliestireno y las enzimas celulares. Continuamente, los fragmentos de estireno digeridos se combinan con el microbiota intestinal que expulsa enzimas extracelulares en su excreta para catalizar la polimerización de lo ingerido en productos moleculares, los cuales, posteriormente son degradados o mineralizados en dióxido de carbono, siendo más asimilados en biomasa. Por último, el estireno residual, junto a otros productos intermedios con algunos microorganismos son expulsados como fécula, donde puede continuar de forma más favorable su degradación”. (Derivan, 2017).

4.6 Bioensayos

El bioensayo consiste en el estudio de las respuestas fisiológicas o poblaciones de organismos, los cuales son usados como agentes de prueba para observar el efecto o concentración de un compuesto químico y su incidencia ambiental (Correa, 2006, p. 1). Cabe mencionar que, estas pruebas se realizan a diferentes concentraciones y porcentajes de los compuestos, requiriendo como mínimo cinco concentraciones, más una muestra control. Así mismo, es necesario señalar que el principal objeto del bioensayo es calcular el nivel de estímulo necesario para obtener resultados en una proporción de individuos, pues esto se puede emplear para un mejor monitoreo.

De otra manera, es importante mencionar que los organismos que sean utilizados como agentes de prueba deben ser debidamente seleccionados y preferiblemente obtenidos a partir de cultivos controlados en laboratorio, esto con el fin de garantizar el crecimiento de la especie de estudio, además de un material biológico de calidad. Igualmente, estos bioensayos deben realizarse en espacios que cuenten principalmente con el organismo adecuado, y donde se logre la estabilización de este, para así lograr llevar a cabo un monitoreo en el que se puedan detallar alteraciones en el desarrollo de la especie. Siendo así, los cultivos en este caso de las larvas de *Tenebrio molitor*, deben ser iniciados con hembras y machos sanos, con una alimentación controlada, pues esto permitirá llevar a cabo un seguimiento efectivo frente a los agentes químicos que pueden incidir en el crecimiento de estos organismos como lo es en esta investigación la ingesta y la biodegradación de plástico (Correa, 2006).

En este sentido, se expone como antecedente un ejemplo de bioensayo realizado con *Tenebrio molitor*, donde, primero se obtuvieron sesenta larvas, de las cuales se seleccionaron cuarenta y cuatro según el estado de salud en el que se encontraran. Posteriormente, se dividieron en cuatro grupos de once tenebrios cada uno, con una masa aproximada de 13g. Consecutivamente, a cada grupo se le asignó un polímero como alimento, el cual claramente será el agente químico que puede incidir en el desarrollo de estos organismos, cabe mencionar que esta dieta se sostuvo por un mes y medio en proporciones de 25g en cada grupo a temperatura ambiente. Pasado el tiempo determinado, se procedió a medir la masa de los tenebrios, se contó la cantidad de individuos y se tomó la masa de polímeros y heces fecales, para así calcular el porcentaje de degradación.

Tabla 2. Comparación de biodegradación de cuatro tipos de plástico. Tomada de Molina, Flores y Hermosillo, (2016) *XXVII CONGRESO DE INVESTIGACIÓN CUAM-ACMOR Degradación de Polímeros con Tenebrio Molitor*.

	Muestra1 Poliestireno	Muestra 2 Pañales	Muestra3 Bolsa de basura	Muestra4 unicel
Cantidad inicial de tenebrios	11	11	11	11
Masa inicial de los tenebrios	13g	13g	13g	13g
Cantidad de alimento inicial	25g	25g	25g	25g
Cantidad de alimento final	menos de 1g	8g	9g	4g
Tiempo de alimentación	45 días	45 días	45 días	45 días
Temperatura promedio	21°	21°	21°	21°
% de degradación	96%	68%	64%	84%
% de materia fecal obtenida	8%	3.2%	2.8%	4%
Cantidad final de tenebrios	10	8	8	8
Crecimiento de planta				



De otra manera, en el trabajo realizado por Diaz de Sandy *et al* (2018) también se llevó a cabo un bioensayo con *Tenebrio molitor* en este caso, se contó con tres tratamientos con tres réplicas cada uno; en cada tratamiento se colocaron quince larvas. En el primer tratamiento a las larvas se les agregó un alimento compuesto por 15 g de engorde de pollo, 35 g de salvado, 25 g de harina de maíz y 25 g de avena de hojuela de este compuesto se sustrajo 3 g para la muestra; en el segundo tratamiento se colocaron 2 g del compuesto y 1g de poliestireno; finalmente, en el tercer tratamiento se añadió 1 g de poliestireno. Cabe mencionar, que esta dieta se mantuvo durante una semana, tiempo en el cual se midió cada día la masa de los organismos y del poliestireno, obteniendo así el porcentaje de biodegradación y variación de biomasa de estos insectos.

4.7 Bioprocesos

Los procesos biotecnológicos, conocidos como bioprocesos, se basan en el empleo de datos obtenidos a nivel de laboratorio como punto de partida para finalizar en una escala industrial. Cabe mencionar que según González (2018) los bioprocesos han acompañado el desarrollo humano desde los comienzos de la civilización. En este sentido, es preciso señalar que en la actualidad estos bioprocesos han generado gran interés, debido a su potencial en la obtención de productos, primordialmente para el cuidado de la salud humana y su relación con el ambiente.

Por otra parte, es importante reconocer que estos proyectos biotecnológicos, se pueden considerar procesos sostenibles, teniendo en cuenta que en los mismos según Olivares (s.f.) hay manipulación ya sea de los organismos vivos o de sus componentes celulares, esto con el fin de promover bienes o servicios a la sociedad. Cabe mencionar que, en concordancia con la misma autora, se asume como bienes los antibióticos, hormonas, fermentos, vacunas, ácidos orgánicos, etc., mientras que los servicios indican los procesos de biorremediación, biolixiviación, tratamiento de efluentes, entre otros productos.

De igual manera, es pertinente precisar como lo indica Olivares (s.f.) los bioprocesos buscan llevar a cabo el crecimiento de células vivas y para ello es necesario establecer un entorno donde las condiciones de crecimiento puedan ser controladas. Así mismo, para que el bioproceso sea exitoso, se debe realizar un buen diseño de biorreactor, donde se tenga en cuenta las características de la célula, el modo de operación y las condiciones de esterilidad de esta (Olivares s.f.). Igualmente, como lo expone Collado y Oulego (2016) a la hora de llevar a cabo el diseño es necesario comprender y visualizar el diseño de operaciones de flujo de fluidos, el diseño de operaciones de transmisión de calor, es decir, la esterilización y el control de la variable de temperatura y finalmente, el diseño de operaciones de transmisión de materia; la aireación y humidificación.

Por último, es necesario exponer que los bioprocesos parten de la materia prima, la cual se considera en tres etapas. Las cuales según González (2018) son: La Etapa de Tratamiento Previo, en esta etapa se realiza la selección de tamizado, la reducción de tamaño, hidrólisis, formulación de medios y esterilización, cabe aclarar que puede que en esta etapa se desarrollen todas o solo algunas de las operaciones mencionadas. Continuamente, como señala el mismo autor se lleva a cabo la segunda etapa, la Etapa de Biodegradación, en la cual se realiza la transformación de sustrato en biomasa o biomasa en algún producto

bioquímico o enzima, donde lo obtenido será procesado en la siguiente etapa. Por último, se realiza la etapa de Tratamiento de los Productos, la cual consiste en operaciones físicas, mediante las cuales se obtiene la concentración y purificación de los productos para que estos sean convertidos en materia útil. Cabe mencionar que, entre las operaciones de tratamiento más comunes se encuentran la filtración, centrifugación, sedimentación, floculación, ruptura celular, extracción, ultrafiltración, precipitación, cristalización, cromatografía, evaporación, secado y empaque (González, 2018 p. 5-6).

4.8 Guía Práctica - Virtual de Laboratorio

Las prácticas de laboratorio son entendidas como una estrategia didáctica para la enseñanza y aprendizaje de los sujetos, ya que estas posibilitan el desarrollo de algunas habilidades científicas y un aprendizaje de los conceptos asociados con las temáticas que se abordan con los estudiantes. Así mismo, estas prácticas se hacen fundamentales ya que movilizan el razonamiento del estudiante, dado que lo llevan a realizar un proceso de observación, de comparación, de análisis y de relación entre los diferentes procesos en los que se puede encontrar la hipótesis relacionada con un diseño experimental. Además, este tipo de prácticas hace posible el desarrollo de actitudes de comunicación y despierta la curiosidad intelectual (Marín, 2008). De igual manera, al fortalecer las prácticas de laboratorio como estrategia didáctica se hace posible desarrollar competencias científicas, promoviendo una mayor autonomía y participación donde se aborden las dimensiones conceptuales, procedimentales y actitudinales del conocimiento (Marín, 2008).

En este sentido, plantear una Guía Práctica-Virtual de Laboratorio que aporte la Biotecnología Ambiental puede llegar a generar reflexiones frente a las realidades de los contextos inmediatos, como lo es la problemática ambiental de contaminación por plásticos en Bogotá. Así mismo, en este apartado es importante mencionar como el desarrollo de guías de aprendizaje, que vayan unidas a programas que funcionan en plataformas virtuales según Gómez (2012) permite que el estudiante como al profesor interactúen mejor en ambientes virtuales, siendo estas guías didácticas virtuales según el mismo autor, un material educativo que se convierte en una valiosa herramienta de apoyo en los procesos de educación tanto presencial como virtual, pues promueve el aprendizaje autónomo fortaleciendo así, el pensamiento crítico y reflexivo pertinente y necesario en los procesos ambientales (p.10).

En consecuencia, no está de más comentar que “la educación colombiana requiere que los docentes estén preparados para utilizar las diferentes metodologías que permitan formar a los ciudadanos de una manera integral y con un alto componente de tecnología a fin de apropiarse de ella, transformar sus comunidades y mejorar su calidad de vida” (Gómez, 2012), por lo cual el planteamiento de una Guía Práctica - Virtual de Laboratorio proporciona herramientas de aprendizaje motivadoras, centradas en los estudiantes y en su capacidad de descubrir, reflexionar e integrar conocimientos a su propio ritmo para establecer y adoptar alternativas frente a las problemáticas a las que se enfrenta la humanidad actualmente, como lo es la problemática de plásticos y la falta de conciencia ambiental.

4.9 Marco Legal

4.9.1 Posibles riesgos al interactuar con material biológico vivo

Inicialmente, es importante mencionar que cuando se hace alusión al riesgo biológico se está haciendo referencia a “la exposición a agentes vivos o sus derivados que originan cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad en el hombre” (Cerdea *et al.*, 2014). Es decir, que se está en un posible riesgo biológico cuando el sujeto se encuentra expuesto con el organismo lo que puede generar cualquier tipo de afección.

Los agentes de riesgo biológico abarcan variados microorganismos que pueden perjudicar la salud del sujeto, pero sin embargo se presentan casos particulares Cerdea *et al.*, (2014) afirma que:

El riesgo biológico en ocasiones no se puede eliminar, debido a que es fundamental el trabajo con organismos, esto ocurre cuando hay una manipulación intencional, por ejemplo, en un laboratorio, en un trabajo experimental o en el trato con pacientes en un centro sanitario (p.22).

En los casos particulares, expuestos anteriormente, se hace pertinente estudiar a fondo los métodos de trabajo en aras de identificar todas las posibles vías de transmisión, para actuar sobre éstas con medidas adecuadas. Si el riesgo puede ser calificado como grave o inminente, habrá que actuar en consecuencia. (Cerdea *et al.*, 2014).

Particularmente, entre los riesgos biológicos producidos por los agentes vivos es fundamental tener en cuenta aspectos como: 1) Las picaduras y mordeduras de organismos. 2) Infecciones agudas y crónicas producidas por microorganismos: virus y bacterias, así como formas intermedias. 3) Enfermedades producidas por hongos. 4) Parasitosis producidas por animales microscópicos (protozoos), o grandes (helminths y artrópodos). Como último riesgo posible, el cual es pertinente tenerlo en cuenta en el desarrollo de esta investigación, son las posibles reacciones alérgicas causadas por sustancias de naturaleza vegetal o animal, especialmente liberadas al medio en forma de polvo (cabellos, polen, esporas de hongos, partes de insectos, deyecciones, etc.). (Cerdea *et al.*, 2014).

Por otra parte, los agentes biológicos se clasifican en el Real Decreto 664/1997 en cuatro grupos, siendo el grupo 1 el de menor riesgo y el grupo 4 el de mayor riesgo; para el caso de esta investigación científica donde se pretende trabajar con un insecto del grupo coleóptero se identifica que es un agente del grupo 1: porque resulta poco probable que cause una enfermedad en el hombre (Cerdea *et al.*, 2014).

4.9.2 Experimentación con organismos

En cuanto a la experimentación animal, es necesario exponer que esta es asumida como:

Una actividad que tiene como misión evidenciar o aclarar fenómenos biológicos sobre especies animales determinadas. No obstante, también es toda acción de carácter científico o experimental que pueda llegar a suponer un ataque al estado de bienestar

del animal, susceptible de causarle dolor, sufrimiento, angustia o agravio (Boada *et al.*, 2011).

De igual manera, la experimentación animal contempla un lugar prioritario en aspectos del bienestar de los animales con relación al aspecto ético y a la acción o respuesta humana que genera la experimentación con estos organismos, pues “la utilización de animales en la investigación, en la enseñanza y en pruebas de seguridad ha originado intensos debates y opiniones” (Boada *et al.*, 2011). En este sentido, es preciso mencionar que la investigación o experimentación con animales, es un tema que a lo largo del tiempo ha generado controversias, por lo cual como lo menciona el mismo autor, se han puesto en marcha diferentes campañas en contra de su uso. Cabe mencionar que dichas campañas han sido favorables en cuanto a la reflexión sobre el empleo de animales para la investigación, sin embargo, estas, únicamente han girado alrededor de los vertebrados.

Frente a esto, se pudo determinar que las directrices internacionales y las normal para Colombia no presentan una clara reglamentación en cuanto al uso de animales para la experimentación. En el caso de Colombia, se presenta la Ley no. 1774, 6 ene 2016 "por medio de la cual se modifican el código civil, la ley 84 de 1989, el código penal, el código de procedimiento penal y se dictan otras disposiciones"; en la cual, se considera que los animales son organismos sintientes. Además de ello, esta ley incluye una serie de normativas para la protección y cuidado de los animales domésticos, amansados, silvestres vertebrados o exóticos vertebrados. Esto permite evidenciar, como otro tipo de animales, en este caso los invertebrados no son asumidos como tal, o en consecuencia no se les da el mismo valor que a los animales que cobija la Ley 1774. Igualmente, es prudente comentar que, a partir de la revisión realizada de la literatura para la configuración de este apartado, se logró evidenciar cómo en una serie de trabajos, postulan como alternativa de experimentación los animales invertebrados, como es en este caso la especie *Tenebrio molitor*.

La presente investigación postula que la utilización de organismos en la experimentación sin importar cuál sea su morfología, tamaño o papel en los ecosistemas, debe contemplar una serie de protocolos de bioseguridad frente a su uso, esto a fin de proteger y cuidar a los organismos, además de lograr desarrollar una práctica favorable.

5. PLANTEAMIENTO PROBLEMA

La sociedad ha venido enfrentando una crisis ambiental, la cual se debe, según Carreño (2013) a la forma en que el ser humano interactúa con su entorno y los recursos naturales, por medio de la cultura, las percepciones, el conocimiento ambiental y la cotidianidad (p.1), destacando que “La crisis ambiental no se encuentra enmarcada dentro de una catástrofe ecológica o una falla geológica; sino en una crisis eminentemente social; una crisis de la razón y del pensamiento; de los modos de pensar, de actuar y de producir” (Leff, E. citado en Aliste y Urquiza, 2010 p. 15).

En este sentido, es necesario comprender que la contaminación ambiental es un factor que sin duda alguna, ha estado inherente a las actividades del ser humano, desatándose alrededor del mundo y tomando relevancia desde finales del siglo XVIII, durante la Revolución

Industrial, debido a la presencia de casos de contaminación que se agravaron por el aumento en el consumo desmedido de energía, de la extracción, producción y uso de diversas sustancias tanto naturales como artificiales para las cuales los mecanismos naturales de asimilación o degradación fueron inferiores (Albert, 2011).

Tal es el caso de la contaminación por plástico, la cual contempla materiales que por su larga existencia perduran en el ambiente durante largos periodos de tiempo, en los que causa grandes daños a los ecosistemas. Sin duda, uno de los registros más interesantes se reporta en la década de 1950, dado que desde entonces se expone que:

La producción de plástico ha superado a la de cualquier otro material, ya que gran parte del plástico que se produce está diseñado para desecharse después de ser utilizado una sola vez. Como resultado, los envases de plástico representan aproximadamente la mitad de los desechos de plástico de todo el mundo, nuestra capacidad para hacer frente a los desechos de plástico ya ha sobrepasado los límites, sólo se ha reciclado el 9% de los 9.000 millones de toneladas de plástico que se han producido en el mundo, la mayor parte de estos han terminado en vertederos, basureros o en el ambiente. De esta manera, se expone que, si se continúa con las prácticas de consumo y las formas de vida actual, para el 2050 habrá alrededor de 12 mil millones de toneladas de basura plástica en el mundo. (ONU.2018).

De igual manera, es importante mencionar que en Colombia existen cerca de 2.000 empresas dedicadas a la fabricación de plásticos, de las cuales 100 están ubicadas en Bogotá, capital de Colombia en la que habitan más de 7 millones de habitantes que generan más de 7535 toneladas diarias de residuos, que son depositadas en el Relleno Sanitario Doña Juana (RSDJ) (UAESP & Javeriana, 2011 citado en Téllez, 2012). Igualmente, no está de más evidenciar que, según cifras de Fenalco en Sarria y Gallo (2016), de las 6 mil toneladas de residuos que llegan a diario al RSDJ, ubicado en Bogotá, unas 840 toneladas son materiales plásticos y de estos, la mayor cantidad corresponden a Polietileno de Alta Densidad (PEAD), seguido del Polietileno de Baja Densidad (PEBD) y polietileno tereftalato (PET), con los cuales generalmente se fabrican productos como bolsas y botella, que se caracterizan por tener una corta vida útil y por tanto una alta producción, proporción y acumulación (p.22).

Atendiendo a lo dicho, en la presente propuesta investigativa, se busca comprender la problemática de los residuos plásticos, está con el fin de compartirla en un espacio educativo universitario, dado que en los escenarios educativos es donde se debe problematizar la realidad compleja y dinámica, buscando adoptar iniciativas que contribuyan a la problemática central y que no generen impactos negativos en el ambiente. En este caso particular, se propone realizar un proceso investigativo con el organismo de la naturaleza *Tenebrio molitor*, con el fin de analizar el mecanismo que tiene este insecto para biodegradar plástico, consolidando esto como una apuesta educativa que a pequeña escala se pueda constituir como una alternativa que contribuya a esa amplia problemática que se ha desarrollado alrededor del plástico y a su vez aporte a la Biotecnología Ambiental y su enseñanza, ya que esta es un área en la que se ha puesto poca atención educativa (Roa y Valbuena, 2013).

Así mismo, aunque la Biotecnología cumple un rol importante en la actualidad y muchos de los docentes comprenden y conocen el potencial e importancia de la enseñanza de esta área, pocos tienen la formación, experiencia o incentivos educativos para desempeñar una formación en el área de la Biotecnología (Roa y Valbuena, 2013). Adicionalmente, Kidman (2010) en Roa y Valbuena (2013) expresa que hay escasa investigación sobre Educación y Enseñanza Biotecnológica, además de subrayar que la formación de profesores para la Enseñanza de la Biotecnología en las escuelas y universidades ha sido poco abordada como objeto de investigación. Para el caso de Colombia, “En general a nivel nacional se han propuesto estrategias y planeado cursos de actualización para profesores de ciencias dado que es latente su desconocimiento o desactualización para la Enseñanza de la Biotecnología” (Roa y Valbuena, 2013).

En consecuencia, se considera que la Biotecnología en este caso la Biotecnología Ambiental debe abordarse desde los desarrollos alcanzados en el campo de la didáctica, buscando una formación ciudadana que asimile el conocimiento biotecnológico y el significado, sentido y función que tiene este en la sociedad, por tanto como lo comenta Roa (2010) es fundamental incluir la Biotecnología en la formación de profesores de ciencias, en especial de Biología, tanto en docentes en ejercicio como en formación inicial (p. 177).

Con relación a lo anterior, surge la siguiente pregunta problema:

¿Cómo analizar el proceso de biodegradación de plástico a partir de las larvas del coleóptero *Tenebrio molitor* que aporte a la Biotecnología Ambiental mediante una Guía Práctica - Virtual de Laboratorio?

6. OBJETIVOS

6.1 General

- Analizar el proceso de biodegradación de plástico a partir de las larvas del coleóptero *Tenebrio molitor* como aporte a la Biotecnología Ambiental mediante una Guía Práctica - Virtual de Laboratorio.

6.2 Específicos

- Caracterizar biológicamente el coleóptero *Tenebrio molitor*.
- Realizar un bioensayo de biodegradación de plástico con larvas del coleóptero *T. molitor*.
- Diseñar y elaborar una Guía Práctica - Virtual de Laboratorio sobre biodegradación de plástico que aporte a la Biotecnología Ambiental.
- Validar la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio con estudiantes de Sistemas Microbianos de la UPN.

7. METODOLOGÍA

El presente proyecto de investigación se orientó a partir del enfoque metodológico mixto equivalente de tipo paralelo simultáneo. En primer lugar, es importante mencionar que según Johnson y Onwuegbuzie (2004) citado en Jaramillo y Zapata (2008) la metodología mixta se entiende como un tipo de estudio donde los investigadores, combinan técnicas, métodos, aproximaciones, conceptos o lenguaje cuantitativo y cualitativo en un solo estudio (p.17), exaltando que, como lo mencionan estos mismos autores, el uso de una metodología mixta, es completamente favorable en términos de comprender la realidad.

Así mismo, Hernández, Fernández y Baptista (2003) citados en Pereira (2011) señalan que:

Los diseños mixtos: representan el más alto grado de integración o combinación entre los enfoques cualitativo y cuantitativo. Ambos se entremezclan o combinan en todo el proceso de investigación, o, al menos, en la mayoría de sus etapas. Además, agrega complejidad al diseño de estudio y contempla todas las ventajas de cada uno de los enfoques. (p. 21).

Posteriormente, esta propuesta de investigación se centra en el enfoque mixto del diseño de estatus equivalente, este diseño implica el tipo paralelo simultáneo, que es aquel que permite que el investigador, conduzca el estudio utilizando tanto las aproximaciones cualitativas como las cuantitativas, juntas de forma equitativa, es decir, los datos cualitativos y cuantitativos se recogen al mismo tiempo y se analizan de modo complementario (Tashakkori y Teddlie, 1998 citado en Vildósola, 2009). Es decir, que este tipo de metodología representa un conjunto de procesos sistemáticos y críticos de la investigación e implica la recolección y el análisis de datos cualitativos y cuantitativos, así como su integración y discusión conjunta para realizar inferencias producto de toda la información recabada para así lograr un mayor entendimiento del fenómeno bajo estudio (Hernández, Sampieri y mendoza, 2008 citado en Gómez, 2015). Es importante mencionar, que este enfoque mixto equivalente, es el que mejor puede ayudar a responder las preguntas de investigación, ya que brinda el mismo estatus a los enfoques CUAN y CUAL, debido a que las circunstancias y el planteamiento de problema son los que dictan y encaminan el método (Teddlie y Tashakkori, 2008 citado en Gómez, 2015).

7.1 Caracterización biológica de *Tenebrio molitor*

El desarrollo de esta investigación inició con una caracterización biológica realizada a partir de diferentes referentes bibliográficos con los que se buscó identificar los estadios de crecimiento y desarrollo de *Tenebrio molitor*, además de conocer las características morfológicas que representan cada estadio. De igual manera, con la caracterización biológica se pudo determinar las condiciones óptimas para el desarrollo del ciclo de vida de estos organismos. Así mismo, desde la revisión bibliográfica y el proceso de observación, se busca establecer la manera correcta de sexar la población de coleópteros para identificar machos y hembras, de forma tal que se pueda desarrollar un apropiado cultivo y cría de estos organismos.

7.1.1 Cría de larvas de *Tenebrio molitor*

La cría se inició con 220 larvas de *Tenebrio molitor* que consumían como dieta regular salvado de trigo, trozos de papa y zanahoria. Estos 220 individuos, fueron separados por estadios en una camas de 10 x 10 cm con condiciones reguladas de temperatura y humedad que favorecieron el ciclo de vida y el proceso de reproducción. Estos factores fueron determinantes para identificar y comprender las fases de desarrollo y los diferentes procesos biológicos que presenta este organismo y a su vez optimizar la reproducción de esta especie, con la finalidad de obtener una cría propia para llevar a cabo el desarrollo del bioensayo sobre biodegradación de plástico.

7.2 Bioensayo de Biodegradación de Plástico con Larvas del Coleóptero *Tenebrio molitor*

Para dar inicio al bioensayo, se realizó una colecta de los individuos obtenidos en la fase de cría y caracterización, a estos organismos se les toma peso y medida; y son divididos en cinco muestras de 25 a 30 individuos con diferentes dietas, siendo dos muestras de poliestireno (Icopor), dos muestras de polietileno de baja densidad (bolsa plástica) y una muestra de control a la cual se le suministró trozos de papa y zanahoria (Ver tabla 3).

Tabla 3. División de muestra para bioensayo.

N° DE MUESTRA	CANTIDAD DE ORGANISMOS	DIETA	CANTIDAD DE DIETA
1	25	Poliestireno expandido (Icopor)	4 trozos de poliestireno expandido (icopor) con medidas de 2cm x 2 cm
2	30	Poliestireno expandido (Icopor)	4 trozos de poliestireno expandido (icopor) con medidas de 2cm x 2 cm
3	25	Polietileno de Baja de Densidad (Bolsa Plástica)	4 trozos de Polietileno de Baja Densidad (Bolsa Plástica) de 2cm x 2 cm
4	30	Polietileno de Baja de Densidad (Bolsa Plástica)	4 trozos de Polietileno de Baja Densidad (Bolsa Plástica) de 2cm x 2 cm
5	30	Papa y Zanahoria	Trozos de papa y zanahoria

7.3 Guía Práctica- Virtual de Laboratorio

Seguidamente, se diseñó una Guía Práctica- Virtual de laboratorio, la cual se configuró desde las diferentes temáticas desarrolladas en la presente investigación, cabe resaltar que para la elaboración de esta Guía, se establecieron contenidos, actividades, imágenes, vídeos, foros y debates que fueron considerados pertinentes para el desarrollo académico de los estudiantes, así mismo, se buscó que el diseño de la Guía se caracterizará por que presenta una estructura flexible y coherente con la finalidad de brindar mayor claridad a los internautas.

Posteriormente, se seleccionó el programa Wix.com en el cual se diseñó la Guía Práctica-Virtual de Laboratorio, donde se eligió la plantilla con el diseño más adecuado y pertinente

para la presente propuesta. En esta plantilla, se realizó el montaje de la información y de los aspectos relevantes que constituyen la problemática ambiental por plástico, el proceso de biodegradación y la relación de estos factores con la enseñanza de la Biotecnología Ambiental.

En este sentido, es pertinente mencionar que la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio cuenta con los siguientes contenidos:

- Generalidades de la Biotecnología Ambiental
- Problemática ambiental por plástico
- Tipos de plástico
- Biodegradación de plástico
- Biología general de *Tenebrio molitor*

Las metodologías de la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio contemplan:

- Diseño de la Guía de Laboratorio N°1: Bioensayo de biodegradación de plástico (Poliestireno expandido y Polietileno de Baja densidad) con larvas del coleóptero *Tenebrio molitor*. (Ver Metodología 7.2), (Ver anexo 1).
- Diseño de la Guía de laboratorio N° 2 denominada: Aislamiento y cultivo de bacterias y/o microhongos de las heces fecales de *Tenebrio molitor*. (Ver anexo 2).
- Diseño de la Guía de laboratorio N°3 denominada: Bioproceso para la degradación de plástico a partir de las bacterias y/o microhongos aislados de las heces fecales de *Tenebrio molitor*. (Ver anexo 3).

Cabe mencionar, que las guías de laboratorio mencionadas anteriormente se encuentran en la sección denominada Prácticas de Laboratorio del sitio web diseñado. Igualmente, es necesario comentar que, en el diseño de las guías de aislamiento y bioproceso, se tuvo en cuenta el siguiente proceso:

7.3.1 Para la Guía de Laboratorio No. 2:

Aislamiento e identificación de bacterias y/o microhongos, se postularon una serie de elementos para tener en cuenta en su implementación, en este caso, se propuso la siguiente metodología: realizar el aislamiento de bacterias y microhongos de las heces fecales producidas por las larvas del *Tenebrio molitor* con la finalidad de identificar qué microorganismos intervienen en el proceso de biodegradación de plástico. Para esto, se requieren unos medios de cultivo selectivos como son: Agar Pseudomonas base, MacConkey, Agar Nutritivo y Papa Dextrosa Agar y 0.5 g de muestra inicial de heces fecales, la cual se debe disolver ^{en} 4,5 mL de agua destilada estéril, es decir, 10^{-1} . De esta solución inicial, se pasa 0.1 mL a cajas de Petri con los medios de cultivo y a partir de esto, se realiza un aislamiento secundario, es decir, se seleccionan las bacterias y hongos de manera individual.

Posteriormente, se debe llevar a cabo el proceso de Tinción de Gram con el objetivo de identificar las bacterias Gram positivas y Gram negativas y la estructura morfológica de estas; el proceso a desarrollar es el siguiente:

- Inicialmente, se realiza el frotis del cultivo para llevar la bacteria que se encuentra en el asa y ponerla en la lámina, posteriormente se le agrega una gota de agua para homogeneizar la bacteria y se procede a flamear la misma para compactarla.
- En este paso se le agrega una gota de cristal violeta y se deja reposar por un minuto.
- Enjuagar suavemente con agua.
- Agregar Lugol y esperar un minuto para que se tiña la muestra.
- Enjuagar suavemente con agua.
- Agregar Alcohol cetona y esperar 30s
- Enjuagar suavemente con agua.
- Agregar Fucsina y esperar 1 min.
- Enjuagar suavemente con agua.
- Dejar secar la muestra
- Proceder a observar en el microscopio en el objetivo 100x con aceite de inmersión.

Por otra parte, si en el cultivo se obtienen microhongos, el procedimiento a seguir se basa en realizar el montaje con láminas, cinta pegante, azul lactofenol y muestra del microhongo, a observar en microscopio en el objetivo de 40x, esto con la finalidad de ver su estructura reproductiva e identificarlo a género.

Para realizar el proceso de identificación de estos microorganismos, es pertinente describir la estructura y morfología. Para esto es importante, consultar en claves taxonómicas con el fin de contrastar la información obtenida en la práctica de laboratorio e identificar correctamente estos organismos. A modo de recomendación, al momento de realizar la guía de aislamiento en la que se propone una identificación de bacterias y/o microhongos, sería pertinente visitar en los siguientes enlaces:

<http://www.analisisavanzados.com/index.php/galerias-de-identificacion-bacteriana> y <https://mycology.adelaide.edu.au/> .

7.3.2 La Guía de Laboratorio No. 3:

Bioproceso para la degradación de plástico a partir de bacterias y microhongos aislados de las heces fecales de *Tenebrio molitor* se postuló como metodología de implementación el siguiente proceso:

- Bioproceso a pequeña escala-proceso batch – fermentación líquida
 - En un Erlenmeyers de 500 mL se preparan 195 mL del Medio Mínimo de Sales (MMS) estéril de composición g/L: KH_2PO_4 0.5 g, NH_4Cl 1.0 g, Na_2SO_4 2.0 g, KNO_3 2.0 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g, FeSO_4 0.004g, Agua Destilada: 1000 mL.
 - Posteriormente, se agrega 1g de plástico de Polietileno de baja densidad como única fuente de carbono, y se coloca 5 mL del inóculo del microorganismo a estudiar.

- El montaje se deja con aireación con un generador de aire y mangueras de plástico conectadas mediante corchos en Erlenmeyers de 500 mL (Jiménez, H, 2013).
- Bioproceso a pequeña escala-proceso batch – fermentación sólida
- En este paso, al igual que en la fermentación líquida, en un Erlenmeyers de 500 mL se preparan 95 mL del Medio Mínimo de Sales (MMS) de composición g/L: KH_2PO_4 0.5 g, NH_4Cl 1.0 g, Na_2SO_4 2.0 g, KNO_3 2.0 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g, FeSO_4 0.004g, Agua Destilada: 1000 mL.
- Posterior a ello, se agrega 10 g con plástico Poliestireno expandido (Icopor) como única fuente de carbono, y se coloca 5 mL del inóculo del microorganismo a estudiar. Cabe mencionar, que al ser el Icopor un material que requiere una fermentación sólida, en este proceso a un volumen de más o menos 100 mL, se agregan trozos de Icopor con el MMS preparado y continuamente, se sella con gasa y algodón.

7.4 Validación de la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio con estudiantes de Sistemas Microbianos de la UPN.

Para este proceso, se consolidan cuatro formatos que validan la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio y las tres Guías de Laboratorio propuestas. Estas validaciones fueron realizadas por un grupo de estudiantes de la asignatura de Sistemas Microbianos de la UPN seleccionados al azar, quienes otorgaron una apreciación cualitativa y cuantitativa. Cabe mencionar que, el primer formato consta de once (11) preguntas y válida la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio (Ver Anexo 4), mientras que los otros tres formatos validan las guías de laboratorio conformados de la siguiente manera:

1. Para la Guía de laboratorio N°1, se elaboró un formato que consta de nueve (9) preguntas. (Ver anexo 5).
2. En cuanto a la Guía N°2, el formato consta de ocho (8) preguntas. (Ver anexo 6).
3. En el caso de la Guía N°3 en el formato se postulan nueve(9) preguntas. (Ver anexo 7).

En este sentido, es pertinente resaltar que las preguntas planteadas en los formatos estuvieron encaminadas a valorar aspectos como: el contenido, la estructura, el diseño, la metodología, las actividades de aprendizaje, teniendo en cuenta que la construcción de la Guía se encontrara acorde a los objetivos planteados.

8. RESULTADOS Y ANÁLISIS

8.1 Caracterización Biológica sobre el crecimiento y desarrollo del coleóptero *Tenebrio molitor*.

Tabla 4. Caracterización biológica sobre el crecimiento y desarrollo del coleóptero *Tenebrio molitor*.

Imagen	Descripción del proceso
 <p data-bbox="370 1010 857 1062">220 individuos del coleóptero <i>Tenebrio molitor</i>. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).</p>	<p data-bbox="906 506 1425 940">En un inicio se obtuvieron 220 larvas provenientes de una microempresa dedicada a la producción y comercialización de alimento vivo denominada <i>Ranucha</i>. Los 220 individuos de <i>T. molitor</i> se adquirieron el 8 octubre de 2019 y permitieron iniciar la caracterización biológica, la cual se encontraba respaldada desde algunos referentes bibliográficos para así comprender el proceso del ciclo de vida de estos organismos.</p>
 <p data-bbox="370 1608 857 1661">División de individuos del coleóptero en vidriera. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019)</p>	<p data-bbox="906 1157 1425 1734">Posteriormente, las larvas se depositaron en una vidriera de 10 x 10, y se dejaron en un espacio que contaba con una temperatura promedio de 23.2 °C máx. y 19.3°C min y una humedad promedio de 52.62 % máx. 48.37% min. A estos 220 individuos se le suministro de alimento salvado de trigo, papa y zanahoria y un suministro de agua a partir de algodones húmedos. Cabe resaltar, que la vidriera donde se encontraban los organismos se cubrió con una bolsa de color negro para evitar la exposición a la luz, por ende, se deduce que el tiempo de fotoperiodo fue nulo.</p>



Estadios coleóptero *Tenebrio molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Coleóptero *Tenebrio molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Luego de tres semanas aproximadamente se evidenciaron diferencias en los organismos depositados en la vidriera, se presentaron cambios de mudas y se observaron larvas que habían pasado a pupas. De esta manera, se inició la observación con la finalidad de comprender el crecimiento y desarrollo de este organismo. Este seguimiento se llevó a cabo durante el 28 de octubre de 2019 hasta el 22 de noviembre del mismo año. Cabe resaltar que se retomó el proceso el 19 de febrero del 2020 donde se realizó la observación y comparación con algunas fuentes bibliográficas, a partir de las cuales se identificaron los estadios de crecimiento y desarrollo de *Tenebrio molitor*, reconociendo así que este organismo realiza un proceso de metamorfosis completa pues pasa por el estadio de huevo, larva, pupa y adulto con cambio de mudas en su estado larval.

Es pertinente mencionar, que la caracterización biológica que permitió conocer los estadios de este organismo y algunos de sus comportamientos se llevó a cabo hasta el día 5 de marzo de 2020.



Adultos del coleóptero *Tenebrio molitor* nutriéndose de pupa de coleóptero. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Luego de que los organismos se encontraran por cinco meses aproximadamente, en el espacio de la vidriera y alimentándose de salvado de trigo, se evidenció que en su mayoría se encontraban en estado adulto y otros se encontraban en estado de descomposición. De igual manera, es pertinente mencionar que algunas de las pupas que quedaban eran fuente de nutrición para los adultos que se encontraban bien desarrollados, dado que estos organismos en estado de pupa no se desplazan y duran en un estado de latencia en el que no se alimentan, pues no cuentan con boca y ano lo que las vuelve propensas a convertirse en alimento para los adultos.



Huevo del coleóptero *Tenebrio molitor* Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Huevo: Durante el proceso de caracterización biológica, fue posible observar el huevo de este coleóptero en una sola ocasión, con esta observación se evidenció que el huevo de *Tenebrio molitor* es pequeño midiendo alrededor de 1.5 y 2 mm, de color blanco y con forma de frijol.



Larva: La observación realizada en este estadio, permito evidenciar que las larvas del coleóptero *Tenebrio molitor* son pequeñas con forma cilíndrica; cuando emergen del huevo son de color blanco y van cambiando progresivamente a un marrón amarillento claro; son activas, se desplazan y consumen sustrato hasta pasar al estado de pupa. Así mismo, en esta fase presentan seis propatas en los primeros segmentos, un exoesqueleto

Estado larval y cambio de muda del coleóptero *Tenebrio molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019)



Larvas del coleóptero *Tenebrio molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019)

duro que mudan a lo largo de su crecimiento, igualmente, durante el último proceso de muda se pasa al estado de pupa. Cabe mencionar, que estos organismos estuvieron en este estado alrededor de tres meses.



Pupas de *Tenebrio molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Primera fase de cambio de estadio de Larva a Pupa del coleóptero *T. molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Pupa: En este estadio, se pudo evidenciar que la pupa de este organismo se caracteriza por ser curva, con un color blanco que va cambiando progresivamente a marrón, presenta poca movilidad, generalmente en la parte caudal se evidencian movimientos cuando está realizando el proceso para pasar al estado adulto. En esta fase, el organismo no consume alimento, pues no presenta ni boca, ni ano. Además, presenta protuberancias que se hacen más evidentes a medida que la pupa va cambiando de color. Cabe mencionar, que estas protuberancias se convertirán en las alas y patas funcionales con las que cuenta el coleóptero en estado adulto. En esta fase, el organismo duró alrededor de una semana.



Estado de Pupa con protuberancias coleóptero *T. molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Cambio de coloración y aparición de extremidades en estado de Pupa, coleóptero *T. molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Cambios de coloración y fases de Adultos de *Tenebrio molitor*. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Tenebrio molitor Adultos con coloración marrón luego de una semana de haber emergido de Pupa - Adulto. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Tenebrio molitor Adultos maduros. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

Adulto: En esta fase, se observó que el coleóptero *Tenebrio molitor* en estado adulto se convierte en un escarabajo con medidas aproximadas de 18 mm de largo por 4 mm de ancho. De igual manera, se evidenció que cuando esté organismo emerge del estado de pupa presenta un exoesqueleto suave de color blanco que se va endureciendo y tornando a un color negro-marrón en la parte superior y negro-rojizo en la parte inferior, además, presenta alas, pero estas no son funcionales para el vuelo.

Por otra parte, es pertinente mencionar que en el proceso de caracterización se evidenció que este organismo en todos los estados, particularmente en la fase de larva y adulto no toleran la luz, pues la evitan buscando lugares oscuros. De igual manera, se observó que este organismo en estado adulto realiza un proceso en el cual consume individuos de su misma especie es estadio de pupa, lo que conlleva a la disminución en porcentaje de población inicial.

Así mismo, es importante mencionar que en los estadios de pupa y adulto conforme se van desarrollando, van tornando a una tonalidad de blanco a una más oscura, en el caso de los adultos, su última tonalidad es negra, en la que es posible realizar el proceso de reproducción.

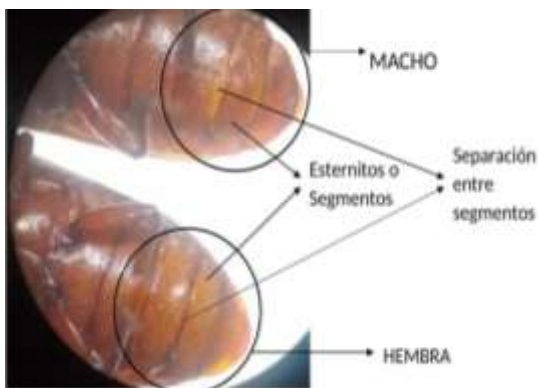
En esta fase, el organismo duró alrededor de tres meses.



Macho montando a la hembra, enrolla su parte caudal para exponer su estructura reproductiva y copular a la hembra. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Macho y Hembra sexualmente maduros. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Determinación de sexo a partir de las aberturas entre los Esternitos de *T. molitor* Adulto. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).

En el proceso de reproducción se observó una amplia competencia entre los adultos que se encontraban en la vidriera, esto se evidenció con los que visualmente se percibían sexualmente maduros, siendo esto entendido desde la tonalidad negra de la quitina que compone el cuerpo de estos organismos. Cabe resaltar que, se identificó que los machos perseguían a las hembras hasta el punto en que un macho lograba posarse encima de la hembra para que esta se quedara quieta y de esta manera enrollar su cola bajo el cuerpo de la hembra y así poder introducir el micropene y realizar la cópula.

Es pertinente mencionar, que dentro del proceso de reproducción de estos organismos se evidencia que tienen una reproducción sexual con sexos diferenciados y esto aunque a simple vista es difícil percibirlo, para determinar el sexo de estos organismos se usó el Estereoscopio el cual permitió observar con mayor claridad que en la cara ventral posterior del abdomen, es decir, la parte inferior del abdomen de estos coleópteros en etapa adulta se evidencia una serie de aberturas entre los Esternitos que permiten identificar el sexo; para el caso de la hembra hay poca separación entre los Esternitos, mientras que para el caso de los machos, la separación entre los segmentos es mucho más visible con una coloración más clara. Igualmente, se evidenció que el último segmento o esternito para el caso del macho es redondo y levemente puntiagudo en la hembra.

Tabla 5. Temperatura máxima y mínima del proceso de cría de *Tenebrio molitor*.

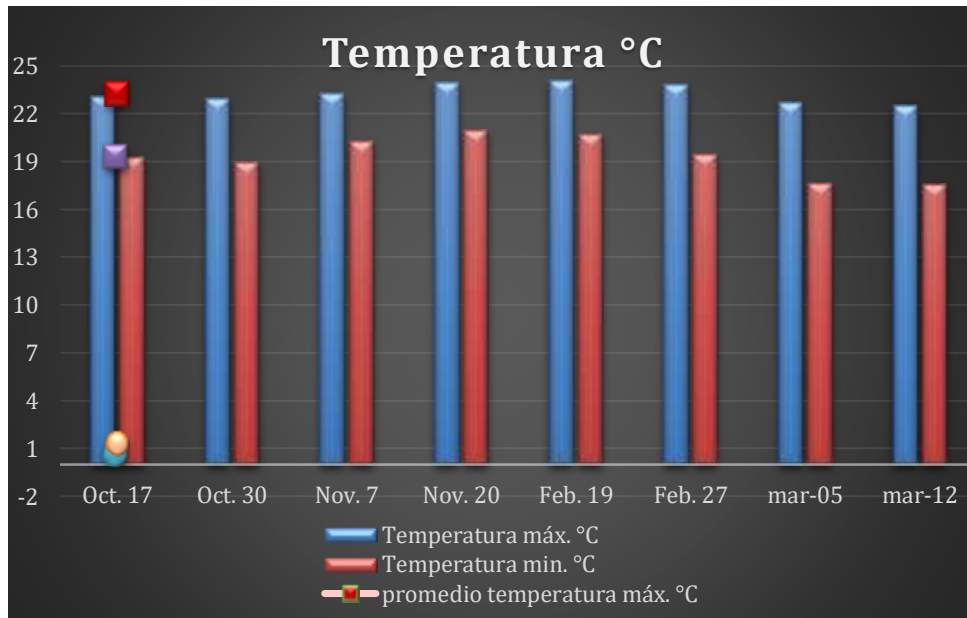
Fecha	Temperatura máx. °C	Temperatura mín. °C
Oct. 17	23	19,2
Oct. 30	22,9	18,9
Nov. 7	23,2	20,2
Nov. 20	23,9	20,9
Feb. 19	24	20,7
Feb. 27	23,8	19,4
mar-05	22,7	17,6
mar-12	22,5	17,5
Promedio	23,25	19,3
Desviación estandar	0,57	1,28

Tabla 6. Humedad máxima y mínima del proceso de cría de *Tenebrio molitor*.

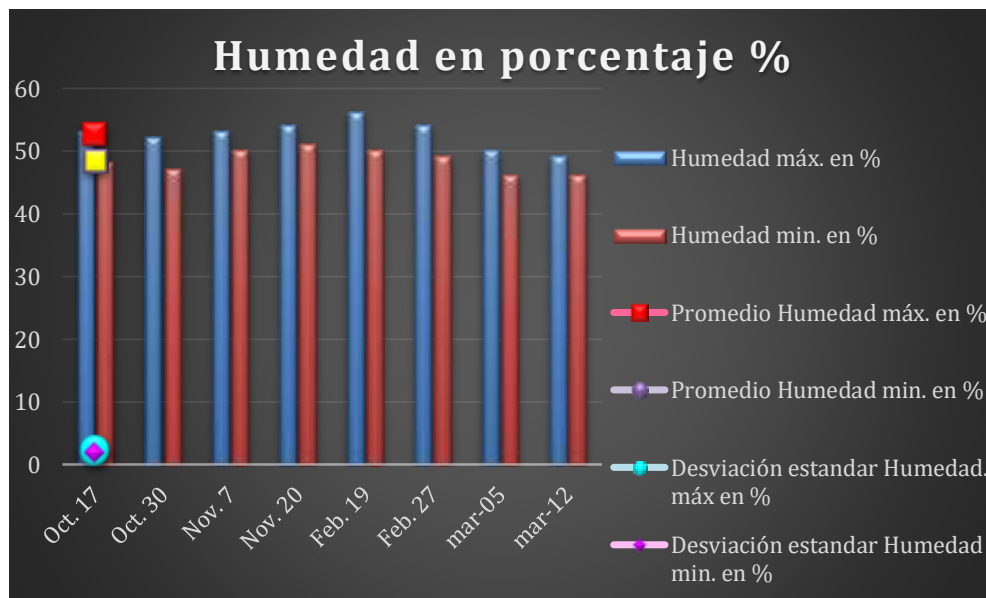
Fecha	Humedad máx. en %	Humedad mín. en %
Oct. 17	53	48
Oct. 30	52	47
Nov. 7	53	50
Nov. 20	54	51
Feb. 19	56	50
Feb. 27	54	49
mar-05	50	46
mar-12	49	46
Promedio	52,62	48,37
Desviación Estandar	2,26	1,92

En relación con lo observado, se evidencia que este organismo pertenece a la familia Tenebrionidae la cual se caracteriza por que sus especies tienen tonalidades de color oscuro, en tonos de marrón a negro (p. 257). De igual manera, en concordancia con Daviran (2017) entre otros autores, se reconoce que estos organismos realizan un proceso de metamorfosis completa, pasando por el estadio de huevo, larva, pupa y adulto con cambio de mudas en su estado larval (p.25). Por otra parte, se evidencia que la duración del ciclo de vida de los organismos duró alrededor de seis a siete meses, lo que concuerda con lo expone Daviran (2017), quien señala que generalmente se demoran 200 días en completar este ciclo (p.24-25). Sin embargo, es necesario aclarar que “la duración de vida de estos insectos puede variar

según las condiciones ambientales y nutritivas a la cual estén sometidos” (Mondragón y Contreras 2015 p.257). Frente a esto, se puede inferir que la duración que tuvieron los organismos seleccionados para esta investigación está íntimamente relacionada con las condiciones que se le brindaron; la temperatura en un promedio de 23.25 °C máxima y 19.3°C mínima (Tabla 5) y una humedad promedio de 52.62 % máxima 48.37% mínima (Tabla 6), siendo éstas, prácticamente condiciones de un ambiente natural dado que, como lo sustenta Mondragón y Contreras (2015) la duración de las fases desde huevo hasta adulto de *T. molitor*, puede estar entre 6 y 12 meses si se mantienen en condiciones de un ambiente natural (p. 257).



Gráfica 1. Temperatura máxima y mínima. °C



Gráfica 2. Comparación humedad máxima y mínima.

De otra manera, en cuanto a la fase de huevo, es pertinente señalar que los resultados obtenidos concuerdan con lo expuesto por Daviran (2017) y Díaz (2014) quienes indican que los huevos de *T. molitor* son de color blanco y forma ligeramente arriñonada. Igualmente, es válido afirmar que la cría propia de 150 larvas refleja un porcentaje relativamente bajo, hablando en términos de los huevos que puede llegar a ovipositar una hembra de esta especie, pues Díaz (2014) entre otros autores indican que, durante el ciclo de vida las hembras pueden depositar desde 250 a 1000 (p.5). Sin embargo, es necesario aclarar que este proceso está relacionado con las condiciones del ambiente siendo la temperatura un factor determinante en la cantidad de crías (Arana, 2018 p. 31).

Consecutivamente, es preciso indicar que, otro factor que determina la oviposición y por tanto la cantidad de crías es la conducta de competencia reproductiva que se presentó entre los machos, lo cual concuerda con lo que plantea Palomino, Rodríguez y Cuerda (1994) en Arana (2018) donde se muestra que la competencia entre machos por aparearse depende de la dispersión de las hembras y de la competencia de esperma (p.6).

Cabe mencionar, que:

La competencia de esperma incluye la competencia existente entre machos por prevenir fecundaciones posteriores y desplazar fecundaciones anteriores mediante distintos comportamientos: a) desplazamiento de la esperma del macho anterior antes de copular con la hembra; b) cerrar la cloaca de la hembra con una sustancia pegajosa después de la cópula; c) impregnar a la hembra de una feromona que impida el acercamiento de otro macho; o más frecuentemente d) sujetar a la hembra y no dejarla. (Arana, 2018 p.6).

Este comportamiento, responde a que, en el aparato genital de la hembra, cuando se da un apareamiento múltiple, la esperma del último macho en copular, será la que fertiliza la mayoría de los huevos de la hembra, por lo cual, será eventual observar esta conducta de competencia (Arana, 2018 p.6-7).

En el estado larval, se distingue que los resultados obtenidos en términos de las características de las larvas concuerdan con lo que mencionan Argueta y Ramos (2013) entre otros autores pues se indica que son pequeñas con forma cilíndrica de forma blanca que va cambiando progresivamente a un marrón amarillento claro, entre otras. Adicionalmente, en los resultados se señala que el tiempo de duración en este estado larval fue de aproximadamente tres meses, lo que concuerda con Argueta y Ramos 2013 entre otros autores, quienes mencionan que las larvas adquieren su máximo desarrollo entre los 89 y 100 días, después de mudar entre 9 y 18 veces (p.13).

En cuanto al estado de pupa, según Giudice (2016) entre otros autores, se caracteriza por ser de forma curva y de color blanco, el cual irá cambiando a marrón, es poco móvil, presenta protuberancias que más adelante se convertirán en alas y patas funcionales y tiene una duración de 7 a 9 días, tiempo que concuerda con el obtenido en la presente investigación. De igual manera, el tiempo de duración que presentó el adulto coincide con el que plantea (Azagoh *et al.*, 2016; Makkar *et al.*, 2014 en Medrano 2019) donde se indica, que en la etapa de estado adulto el coleóptero puede vivir de dos a tres meses. Además de esto, es relevante

comentar que, en esta etapa, este organismo es un escarabajo que cuenta con unas características particulares como ser blanco de exoesqueleto suave, que con el paso del tiempo se va endureciendo y tornando a un color negro – marrón en la parte superior y negro – rojizo en la parte inferior del cuerpo, entre otras (Medrano, 2019).

En otro sentido, se expone que estos organismos tienen una reproducción sexual con sexos diferenciados, los cuales se pueden determinar en el estado de pupa o en la fase adulta. Siendo así, es pertinente señalar que “la determinación del sexo en el estado de pupa implica la observación del desarrollo de las estructuras genitales, que se encuentran en la parte ventral inmediatamente caudal del Esternito” (Ver fig.2) donde la hembra posee una mayor inflamación que diverge en dos papilas mientras que, en el macho, la inflamación es más pequeña y las papilas no divergen ni sobresalen mucho (Argueta y Ramos 2013 p.16), sin embargo, se aclara que en esta investigación no fue posible evidenciar y determinar el sexo en el estado de la pupa, no obstante, se realizó a partir del adulto, observando que en la cara ventral posterior del abdomen de estos coleópteros hay una serie de aberturas entre los Esternitos que permiten identificar el sexo; para el caso de la hembra hay poca separación entre los Esternitos posteriores (3°, 4° y 5°), mientras que en el caso de los machos, la separación entre los segmentos es mucho más visible con una coloración más clara. Igualmente, el último segmento o Esternito para el caso del macho es redondo y levemente puntiagudo en la hembra en concordancia con (Bhattacharya, 1970 citado en Argueta y Ramos, 2013).





Figura 2. Diferenciación de Sexo en estadio de pupa (Tomada de Argueta y Ramos, 2013).

Por último, es necesario justificar la conducta de canibalismo y repulsión a la luz que se observó en los organismos de esta especie puesto que, por un lado, los estados de larva y adulto realizan un proceso de consumo de pupas, lo cual tiene relación con lo plantea Dossey *et.al.*, (2016) citado en Daviran (2017) “esta especie presentan comportamientos como el canibalismo en distintas etapas de su ciclo” (p.25). Por otro lado, también se evidenció que estos organismos buscaban permanecer ocultos a la luz, lo cual afirma lo que expone Sarmiento (2018) “En todos los estados evitan la luz, prefiriendo lugares oscuros” (p. 13).

8.2 Bioensayo de biodegradación de plástico con larvas de *Tenebrio molitor*

Tabla 7. Bioensayo de biodegradación de plástico con larvas de *Tenebrio molitor*

	<p>Posteriormente, entre la semana del 25 al 28 de febrero del 2020 se realizó la colecta de las crías obtenidas a partir las 220 larvas que se obtuvieron de la reproducción de los adultos que se encontraban en la vidriera dando como resultado 150 larvas con un promedio aproximado de peso de 0,013 g y medida de 1,3 cm.</p>
<p>Recipientes para dividir los organismos y proporcionarles determinadas dietas. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).</p>	<p>Continuamente, se realizó la separación de las larvas distribuyéndolas en recipientes, en grupos de 25 - 30 organismos por cada muestra, siendo en dos muestras para el primer tipo de plástico, dos para el segundo tipo de plástico y uno como muestra de control. Para este proceso, se les suministraron a las larvas de <i>T. molitor</i> distintas dietas a base de papa y zanahoria y dos tipos de plástico en particular como: el poliestireno y el polietileno de baja densidad. Es importante señalar, que los organismos en estado larval que se dividieron en los recipientes de plástico se encontraban en un tiempo de fotoperiodo de aproximadamente 10 horas.</p>
	<p>Inicialmente, a todas las muestras el día 12 de marzo del 2020 se les suministró como dieta papa y zanahoria por un tiempo estimado de una semana, con la finalidad de desarrollar una flora intestinal en los organismos.</p>
<p>Dieta control a base de zanahoria y papa. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).</p>	<p>De este proceso, se evidenció un consumo de papa y zanahoria con una producción de heces activa, siempre y cuando las condiciones ambientales fueran óptimas, pues de lo contrario la producción de heces era escasa, así como el crecimiento y desarrollo de los organismos.</p>



Evidencia de larva consumiendo Icopor. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019)



Evidencia consumo de Icopor. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).



Evidencia consumo de bolsa plástica. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019)

Seguidamente, el día 19 de marzo del 2020 se le suministró como dieta a los grupos de 25 y 30 larvas, 4 trozos de poliestireno expandido (Icopor), con medidas de 2 cm de largo por 2cm de ancho con un promedio de peso de 0.05g por cada trozo de Icopor. Así mismo, a los otros dos grupos de organismos se le suministró como dieta 4 trozos de polietileno de baja densidad, los cuales median 2cm de ancho de 2cm de largo y pesaban en promedio 0.013g. Por último, a los 30 organismos de control se le suministró como dieta una rodaja de papa y zanahoria, esta dieta era cambiada cada tres días para evitar la descomposición de esta.



Por otra parte, luego del suministro de dieta se realizó un conteo cada 15 días de la cantidad de individuos en cada muestra, evidenciando que hubo una disminución de población con relación al tiempo. Cabe resaltar, que en estos períodos de conteo no se evidenció un cambio relevante en las características físicas del organismo. Así mismo, en este proceso se observó un consumo mayor de poliestireno expandido que de polietileno de baja densidad.



En el desarrollo de esta investigación, se realizó un bioensayo con un grupo de organismos de la especie *Tenebrio molitor* los cuales fueron utilizados como agentes de prueba para comprobar el consumo de dos tipos de plástico específicos (poliestireno y polietileno de baja densidad). Cabe resaltar, que como expone Contero (2006) los bioensayos son estudios de las respuestas fisiológicas o poblacionales de organismos seleccionados que permiten evaluar experimentalmente el efecto de los agentes contaminantes presentes en una muestra. Además, afirma que la realización periódica de bioensayos permite detectar el aumento, la disminución, la presencia, concentración o nivel de adversidad que le está causando un elemento externo a los organismos con los que se esté realizando el estudio (p.39). En este sentido, se expone la importancia del uso de bioensayos en la parte experimental y se reitera la pertinencia que tiene para la presente investigación, ya que en el desarrollo del bioensayo fue posible observar las respuestas fisiológicas y poblacionales que presentan los organismos de *Tenebrio molitor* en el proceso de biodegradación de plástico.

Así mismo, dentro de este proceso experimental más allá de seleccionar los organismos que serán utilizados como agentes de prueba, se debe tener en cuenta que los organismos deben ser preferiblemente obtenidos a partir de cultivos controlados en laboratorio, esto con el fin de garantizar el crecimiento de la especie de estudio, además de un material biológico de calidad (Uc-Peraza y Delgado.2012).

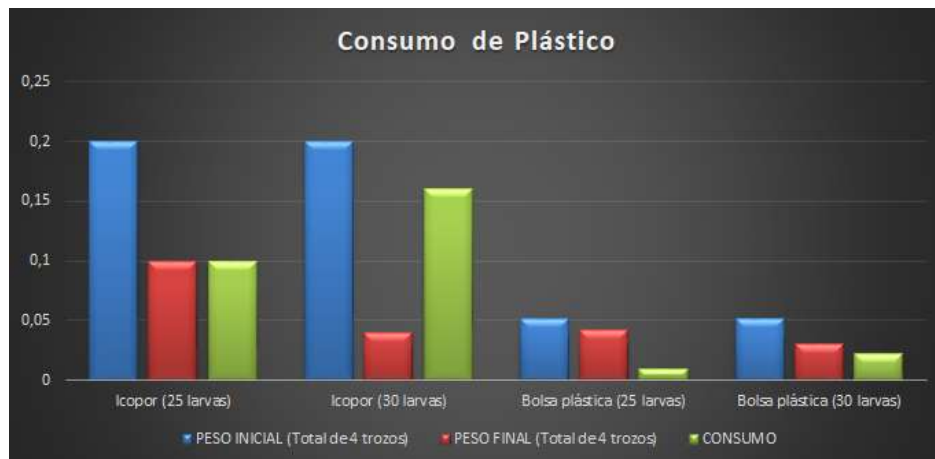
Consecutivamente, en esta investigación al contar con 5 muestras (2 con dieta de Icopor, 2 de bolsa plástica y una de control), se observa que la ingesta y la biodegradación de plástico es mayor en los organismos que se les asignó como dieta el poliestireno (Icopor) como se observa en la siguiente tabla 8 y gráfica 3:

Tabla 8. Productividad Específica sobre biodegradación de Icopor y plástico con larvas de *Tenebrio molitor*.

MUESTRA	PESO INICIAL (Total de 4 trozos)	PESO FINAL (Total de 4 trozos)	CONSUMO	TIEMPO (MESES)	PRODUCTIVIDAD ESPECÍFICA (sustrato consumido / tiempo (meses))	(%) PRODUCTIVIDAD ESPECÍFICA (sustrato consumido / tiempo (meses) x 100%)	IMAGEN
Icopor (25 larvas)	0,2	0,1	0,1	2	0,05	5%	 <p>Evidencia de consumo total de Icopor. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).</p>
Icopor (30 larvas)	0,2	0,04	0,16	2	0,08	8%	 <p>Evidencia de consumo total de Icopor. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).</p>

Bolsa Plástica (25 larvas)	0,052	0,042	0,01	2	0,005	0,5%	 <p>Evidencia consumo total de bolsa plástica. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).</p>
Bolsa Plástica (30 larvas)	0,052	0,03	0,022	2	0,011	1,1%	 <p>Evidencia consumo total de bolsa plástica. Imagen tomada por: Álvarez, N. y Botache, L. (2019).</p>

- Productividad Específica: $\text{Sustrato Consumido} / \text{Tiempo}$
- % Productividad Específica: $(\text{Sustrato Consumido} / \text{Tiempo}) \times 100\%$



Gráfica 3. Consumo de plástico de larvas de *Tenebrio molitor*.

En la tabla 8 y gráfica 3, se evidencia que el consumo y biodegradación de plástico fue mayor en las muestras que tenían como dieta el poliestireno (Icopor), dado que en este caso se pudo observar una biodegradación de (0,1 g y 0,16), a diferencia de la dieta de polietileno de baja densidad (bolsa plástica) en la cual se obtuvo un nivel de biodegradación de (0,01 y 0,022), cabe resaltar que este resultado de biodegradación se obtuvo en el transcurso de 60 días. De igual manera, en esta gráfica se evidencia la producción específica, que hace referencia al sustrato consumido sobre el tiempo que se destinó para realizar el bioensayo que fue de dos meses, dando esto como resultado en la muestra 1 de Icopor de 25 larvas una productividad de (0,05) que equivale a (5%) y la muestra 2 de Icopor que contaba con las 30 larvas una productividad de (0,08) que equivale (8%), a diferencia de las que se les suministraba como dieta polietileno de baja densidad (bolsa plástica) ya que, la muestra de 25 larvas presentó

una productividad de (0,05) con un porcentaje de (0,5%) y la muestra de 30 larvas de esta misma dieta presentó una productividad de (0,011) que equivale a un porcentaje de productividad específica de (1,1%).

En este sentido, se puede determinar que las larvas de *T. molitor*, biodegradan en mayor cantidad el poliestireno (Icopor) lo cual concuerda con lo que exponen Molina, Flores y Hermosillo (2016), quienes indican que en 45 días biodegradan 84% de poliestireno, en comparación con el polietileno de baja densidad (bolsa plástica) del cual biodegradan solo el 64%. Los autores indican que esta diferencia en la biodegradación puede estar dada por el cambio en las variables de temperatura o humedad y por el consumo que se presenta entre ellos. Así mismo, en estos resultados pueden incidir la manera en que estos insectos transforman el sustrato consumido, siendo el 50% del plástico que consumen en CO₂ y el otro 50% lo excretan en biomasa y como fragmentos biodegradados.

De otra manera, la variación de biomasa (ganancia de peso) de las larvas del coleóptero *Tenebrio molitor* fue de 0,015 g para la muestra N° 1 con una productividad específica de Biomasa de 6,6g; para el caso de la muestra N°2 se obtuvo 0,07 de biomasa producida con una productividad específica de 2,3 g. De otra manera, la muestra N° 3 presentó una producción de biomasa de 0,07 con una productividad específica de 0,1 g y, para el caso de la muestra N° 4 se evidencia una biomasa producida de 0,002 con una productividad específica de biomasa de 11g. A partir de lo dicho, se puede inferir que el consumo de plástico como el Icopor y la Bolsa, no inciden de forma significativa en el crecimiento y desarrollo del coleóptero *Tenebrio molitor* pues la variación de biomasa se da con una ganancia de peso. De igual manera, según la Tabla 9 la muestra con la que se obtuvo una mayor cantidad de biomasa del gusano de harina fueron la muestra N° 2 y 3 y la que presentó menor aumento de biomasa fue la muestra N° 3.

Tabla 9. Productividad Biomasa Larvas del coleóptero *Tenebrio molitor*.

MUESTRA	PROMEDIO PESO INICIAL (g)	PROMEDIO PESO FINAL (g)	Biomasa producida (Peso final - Peso inicial en g)	Tiempo (Meses)	Sustrato consumido (g)	Productividad Especifica de Biomasa (sustrato consumido / biomasa producida en g)
MUESTRA 1 ICOPOR (25 Larvas)	0,01	0,025	0,015	2	0,1	6,6
MUESTRA 2 ICOPOR (30 Larvas)	0,02	0,09	0,07	2	0,16	2,3
MUESTRA 3 BOLSA PLÁSTICA (25 Larvas)	0,01	0,08	0,07	2	0,01	0,1
MUESTRA 4 BOLSA PLÁSTICA (30 larvas)	0,013	0,015	0,002	2	0,022	11

Consecutivamente, al referirnos a la excreción es pertinente mencionar que dentro de esta investigación se colectaron las heces producidas por las larvas de *T. molitor*, en las cuales fue posible evidenciar un cambio en cuanto a la cantidad y color de estas. Cabe resaltar, que se unieron las heces de la muestra uno y dos de Icopor en un mismo recipiente y las muestras tres y cuatro de bolsa plástica en otro recipiente, recolectando de esta manera de la muestra de Icopor 2 g de heces que presentaban una tonalidad blanca a diferencia de las muestras de

bolsa plástica de las cuales se recolectó 1g de heces de color negro grisáceo, como se evidencia en la tabla 10 y Figuras 3 y 4:

Tabla 10. Productividad heces fecales coleóptero *Tenebrio molitor*.

Tipo de plástico	Heces Producidas (g)	Tiempo (Meses)	Sustrato Consumido (g)	Productividad Especifica de Heces(Sustrato consumido/ Producción de Heces)	Productividad Especifica %
Poliestireno (Icopor) Muestra 1 y 2	2	2	0,26	0,13	13
Polietileno de Baja densidad (Bolsa Plástica) Muestra 3 y 4	1	2	0,032	0,03	3



Figura 3. Colecta de heces del coleóptero *T. molitor* dieta Icopor
Imagen tomada por: Álvarez, N y Botache, L. (2019)



Figura 4. Colecta de heces del coleóptero *T. molitor* dieta bolsa plástica.
Imagen tomada por: Álvarez, N y Botache, L. (2019).

Con relación a lo anterior, se puede establecer que el cambio que se presenta en la cantidad de las heces, según Daviran (2017), se encuentra relacionado con la ingesta de plástico y con el consumo de los gusanos que mueren o las mudas que quedan dentro de las muestras y que

se convierten en alimento para las demás larvas, estos factores mencionados, suman a la cantidad de heces que se pueden producir debido a que las larvas no solo excretan el plástico que consumen sino que también excretan un porcentaje de las larvas o las mudas que pudieron ser consumidas durante el bioensayo. (Ver fig. 4)

Posteriormente, la mortalidad en este caso también es un factor importante, ya que influye en el proceso de biodegradación de plástico, dado que como se observa en las gráficas 4 y 5, las muestras de 30 y 25 individuos fueron disminuyendo con relación al tiempo en el que se realizó el bioensayo. (Ver tabla 11)

Tabla 11. Mortalidad de larvas del coleóptero *Tenebrio molitor*.

FECHA	MUESTRA 1 ICOPOR	MUESTRA 2 ICOPOR	MUESTRA 3 BOLSA PLÁSTICA	MUESTRA 4 BOLSA PLÁSTICA	MUESTRA DE CONTROL
19-mar-20	25	30	25	30	30
2-abr-20	20	22	20	23	24
16-abr-20	14	17	15	13	16
30-abr-20	8	11	12	7	10
19-may-20	3	7	9	3	5



Gráfica 4. Mortalidad de larvas muestras de Icopor

En este caso, se evidencia que las 25 larvas de la muestra N°2 de Icopor presentaron una mayor disminución que las larvas de la muestra N°1 de Icopor, las cual mantuvo una pérdida de organismos similar a la muestra de control.



Gráfica 5. Mortalidad de larvas muestra de bolsa plástica

En este caso, se evidencia que hubo mayor sobrevivencia de individuos para el caso de la muestra N° 4 correspondiente a bolsa plástica con 25 individuos, en comparación con la muestra N° 3 de bolsa plástica y la muestra de control que en un inicio contaban con 30 organismos, por lo que se puede inferir que se presentó mayor consumo entre individuos y mortalidad en la muestra N° 3

En las gráficas anteriormente planteadas, se puede determinar que el número de individuos disminuyó debido a casos de canibalismo y restos de mudas que eran consumidos por las demás larvas, lo cual concuerda con lo que expone Daviran (2017) al decir que, el nivel de biodegradación se puede ver afectado por el número de larvas, pues se infiere que a mayor cantidad de larvas mayor biodegradación; así mismo, que la mortalidad puede estar relacionada con el canibalismo, ya que, estos insectos en su estado larval requieren de niveles de agua constantes, por lo cual tienden a alimentarse de sus semejantes que se encuentran en la misma muestra para suplir los niveles de agua que necesita para realizar los procesos fisiológicos (p.73).

8.3 Guía Práctica-Virtual de Laboratorio

El diseño y elaboración de la Guía Práctica-Virtual de Laboratorio sobre biodegradación de plástico y su relación con Biotecnología Ambiental se realizó en la plataforma Wix.com la cual cuenta con un conjunto de elementos para el desarrollo y creación de un sitio web totalmente personalizado, gratuito y de una alta calidad.

El sitio web diseñado fue denominado Guía Práctica Sobre Biodegradación de Plástico, cuenta con cinco (5) pestañas en la parte superior las cuales hacen referencia a Inicio, donde se exhibe de forma general los apartados de la guía; la siguiente pestaña, es denominada nuestro proyecto en esta se expone a grosso modo los objetivos y alcances que se esperan con el trabajo de grado; continuamente, se encuentran una pestaña con las Prácticas de Laboratorio, este apartado es de relevancia ya que, en este se publican las tres guías diseñadas para realizar prácticas de laboratorio, las cuales fueron denominadas de la siguiente manera: 1. Bioensayo de biodegradación de plástico con larvas de coleóptero *Tenebrio molitor*, 2.

Aislamiento de bacterias y microhongo a partir de heces fecales de *Tenebrio molitor* y 3. Bioproceso para la degradación de plástico a partir de las bacterias/ micro hongos aisladas de las heces fecales de *Tenebrio molitor*. Seguidamente, en la parte superior también se encuentra la pestaña de foros en el que se puede realizar la entrega de informes de práctica, señalar dudas frente a las temáticas, plantear debates, entre otros aspectos. Por último, de la pestaña denominada Más, se desprende la galería en la que se muestra el archivo y registro fotográfico obtenido alrededor de la investigación y, la pestaña de contacto por medio de la cual los internautas podrán enviar inquietudes frente al tema o solicitar más información al respecto.

Posteriormente, en la parte inferior de la página principal, se encuentran cinco (5) ítems relevantes para la presente investigación y para la contextualización de las personas que visiten el sitio web. Cabe mencionar que, estos cinco ítems se basan en: Enseñanza de la Biotecnología Ambiental, Problemática Ambiental por Plástico, Tipos de Plástico, Biodegradación de Plástico y aspectos generales sobre el organismo *Tenebrio molitor*. Así mismo, es importante señalar que, en estos apartados, se presentan una serie de aclaraciones a partir de texto, videos e imágenes.

Finalmente, como pie de página, en todas las pestañas de la Guía Práctica Sobre Biodegradación de Plástico se presenta una breve información de las autoras, un logotipo que dirige a la página principal de la Universidad Pedagógica Nacional institución en la que se formaron las autoras de la presente investigación.

En este sentido, se presentan algunas imágenes correspondientes a la Guía Práctica Sobre Biodegradación de Plástico y el enlace virtual de la misma.

Enlace: <https://tgradonalb.wixsite.com/misitio/galeria>



Figura 5. Página principal de la Guía Práctica Sobre Biodegradación de Plástico.



Figura 6. Página principal, pestañas superiores.



Figura 7. Página principal, ítems inferiores y pie de página.



Figura 8. Pestaña superior sobre Guías Prácticas de Laboratorio.



Figura 9. Apartado galería Guía Práctica - Virtual de Laboratorio.

Particularmente, es necesario exponer que la edición de una página Web para propósitos educativos, como en este caso para comprender el proceso de biodegradación de plástico de las larvas del coleóptero *T. molitor* y su relación con Biotecnología Ambiental, se convierte en un recurso que contempla diferentes herramientas de la red, que puede convertirse en un medio fundamental de aprendizaje (Ferrer, 2005), lo cual concuerda con las observaciones realizadas en el proceso de validación donde por ejemplo, para la pregunta N° 3 donde se indaga si se Considera que la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio es un elemento importante para el aprendizaje, el Estudiante (en adelante E) tres, manifiesta que: “*Son herramientas necesarias para contribuir a las generaciones que están aprendiendo de manera diferente*” y por su parte, el E2 expone que “*El diseño de esta guía y todo su contenido permite aplicar conocimientos de diferentes áreas y explorar la microbiología desde diferentes enfoques*”.

De igual manera, teniendo en cuenta que las páginas web son fácilmente aplicables a los propósitos pedagógicos y que además de esto, permiten y deben pretender divulgar información a los internautas (Ferrer, 2005), se reconoce que una función primordial de los sitios web es brindar materiales como imágenes, sonidos, presentaciones, entre otras y, de tipo tangible como las actividades, apuntes, entre otros, lo cual se evidencia claramente en la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio y se corrobora con los comentarios presentados en las validaciones donde el E3 indica que “*Considero que es para cualquier público incluso para estudiantes de colegio*” y a su vez el E9 señala que “*Las imágenes, videos y contenido escrito, están acordes con las temáticas que se presentan en el sitio*”. Cabe aclarar que, de acuerdo con las observaciones realizadas, se llevó a cabo un mejoramiento en las imágenes, videos y contenido en general del sitio web, a fin de generar mayor interés y comprensión del tema.

Así mismo, no está de más señalar que otra de las funciones de un sitio Web Educativo en este caso de la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio, se basa en facilitar y promover la comunicación entre los usuarios, es decir, entre los estudiantes y los docentes, por lo cual, es imprescindible que esta guía cuente con chat y foros de debate (Ferrer, 2005). Frente a esto, es ineludible mencionar que dentro del diseño la Guía de la presente investigación se contempla un Foro en el que se puede realizar la entrega de informes de práctica, señalar dudas frente a las temáticas, plantear debates en relación con las temáticas abordadas en el sitio web, resaltando que esto ayuda a mejorar el aprendizaje de los sujetos (Ferrer, 2005).

Por otra parte, es necesario indicar que, el uso de herramientas tecnológicas es una necesidad que ha ido incrementando con el paso del tiempo en el área educativa, pues dentro de la educación se requiere que los estudiantes vayan asumiendo un rol más activo en su proceso de aprendizaje, por lo cual, diseñar y elaborar espacios virtuales como la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio para aportar al proceso de enseñanza – aprendizaje presenta ventajas relevantes ya que permite el acceso fácil a la información, facilita el trabajo individual y colectivo, permite almacenar la información y tener está a disposición en cualquier momento, entre otras; lo cual de forma general aportaría de forma significativa al campo educativo (Ferrer, 2005).

Finalmente, es ineludible mencionar que esta Guía se consolida como un elemento a partir del cual se puede aportar a la enseñanza de la Biotecnología Ambiental, ya que como expone el E1 “*Los contenidos que van desde lo más general, hasta lo más específico, permiten*

comprender mejor el proceso de biotecnología ambiental'' lo cual quiere decir que, la Guía Práctica- Virtual de Laboratorio desde su contenido promueve el aprendizaje y la comprensión del campo de la Biotecnología Ambiental con la finalidad de reconocer los adelantos científicos e identificar la incidencia que estos tienen en el ambiente.

Del mismo modo, al desarrollar prácticas de laboratorio con microorganismos se puede aportar un panorama general de la apuesta de la Biotecnología Ambiental, la cual desde la aplicación de diferentes herramientas y métodos aporta a la mitigación de los problemas ambientales que alteran los ecosistemas naturales, estando eso íntimamente relacionado con la ecología microbiana, en la cual según Bécars (2014) los procesos que se desarrollan en este campo en compañía microorganismos que buscan aportar a la mitigación y resolución de problemas ambientales mediante la aplicación de la Biotecnología Ambiental, logrando de esta manera identificar nuevas especies y métodos que permitan abordar los conflictos socioambientales (p.86).

En esta lógica, se considera determinante que el profesor de Biología en ejercicio como en formación contemple una “mayor preparación –profesionalización-, no solo en lo que respecta a su conocimiento disciplinar sino también en la manera en que el contenido biológico y biotecnológico y su conocimiento didáctico se integran para favorecer, no solamente el aprendizaje y comprensión, sino también una valoración y actitud crítica” (Roa, 2010) esto en relación con la realidad social, de modo que se oriente el conocimiento biotecnológico en las clases, para que así, se favorezca la toma de decisiones de fondo y no de forma en cuanto a las problemáticas ambientales.

8.4 Validación Guía Práctica - Virtual de Laboratorio y Guías de Laboratorio

Tabla 12. Observaciones sobre la Guía Práctica - Virtual de Laboratorio

	1	2	3	4
N° Pregunta	El contenido presentado en la Guía Práctica Virtual de Laboratorio es completo y claro.	El contenido de la guía permite complementar los conocimientos que se encuentran en los libros.	Considera que la Guía Práctica Virtual de Laboratorio es un elemento importante para el aprendizaje.	Las actividades de aprendizaje y los contenidos proporcionados en la guía virtual están acordes a los objetivos del trabajo propuesto.
Observación	El contenido es claro y pertinente para el desarrollo de la guía.	Los contenidos se estructuran de lo general a lo particular, lo que permite seguir un hilo conductor de la temática.	El diseño de esta guía y todo su contenido permite aplicar conocimientos de diferentes áreas y explorar la microbiología desde diferentes enfoques	Considero que responden, acorde a los objetivos planteados e incluso tienen un campo de acción muy amplio para la continuidad de la investigación
N° Pregunta	5 La presentación y contenido de la Guía Virtual motivó el aprendizaje del tema.	6 La estructura y el diseño de la Guía Práctica Virtual de Laboratorio es acorde con las temáticas desarrolladas.	7 Considera que el diseño de la Guía Virtual contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del tema.	8 El contenido que aparece en la Guía Virtual como textos, definiciones, imágenes y videos es claro y específico.

Observación	Sólo con el título y las imágenes presentadas ya se motiva a realizar la práctica y aprender.	Contemplan los elementos que se asocian y que son necesarios para comprender la biodegradación.	Es un diseño atractivo, lo cual puede posibilitar que existan procesos de aprendizaje.	Las imágenes, videos y contenido escrito, están acordes con las temáticas que se presentan en el sitio.
N° Pregunta	9 Considera que el contenido de la Guía Virtual aportó a sus saberes en relación con la Biotecnología Ambiental.	10 La Guía Virtual permite evidenciar la importancia de los procesos biotecnológicos.	11 La Guía Virtual como instrumento tecnológico aporta y facilita el desarrollo de procesos de laboratorio, información inmediata y recolección y entrega de informes y resultados de manera digital.	
Observación	Los contenidos que van desde lo más general, hasta lo más específico, permiten comprender mejor el proceso de biotecnología ambiental.	Si, teniendo en cuenta que está fuertemente asociado a problemáticas ambientales contemporáneas a causa del plástico.	Si, permite acceder a la información, como también hacer entrega de éstos de manera sencilla.	

Tabla 13. Observaciones de la guía de Bioensayo de biodegradación de plástico con larvas del coleóptero *Tenebrio molitor*.

N° Pregunta	1 El contenido presentado en la guía de laboratorio es completo y claro.	2 La estructura y el diseño de la práctica está acorde con la temática.	3 El contenido y presentación de la guía práctica de laboratorio es un buen método para alcanzar los objetivos.	4 Las actividades de aprendizaje y los contenidos proporcionados están acordes a los objetivos.
Observación	Si, el contenido es claro, sintético y comprensible.	La estructura y el diseño permiten familiarizarse fácilmente con la guía.	Existe cohesión entre todos los elementos de la práctica de laboratorio.	Tanto las actividades y los contenidos permiten tener una relación directa con los objetivos propuestos.
N° Pregunta	5 Considera que la práctica contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del tema.	6 El contenido de la guía permite dar cuenta del proceso de cría, crecimiento y desarrollo del organismo <i>Tenebrio molitor</i> .	7 El contenido y la metodología de la guía permiten observar el proceso de biodegradación de plástico realizado por las larvas de <i>T. molitor</i> .	8 A partir de la guía es posible comprender el desarrollo y realización de un Bioensayo.
Observación	Es algo innovador que enuncia se hace en el DBI, uno aprende haciendo, experimentando en el laboratorio no sólo en libros y con la explicación del docente.	Se evidencian los procesos que se requieren seguir para tener éxito en la siembra de este organismo.	Es imperante este tipo de estudios ya que evidencian la posibilidad de alternativas ante las problemáticas que aquejan en la actualidad.	Sí la guía tiene un lenguaje adecuado para entender y comprender el bioensayo

N° Pregunta	9. La estrategia de aprendizaje presenta una metodología clara
Observación	Es clara, en cuanto a que se evidencian todos los elementos necesarios para la realización del proceso.

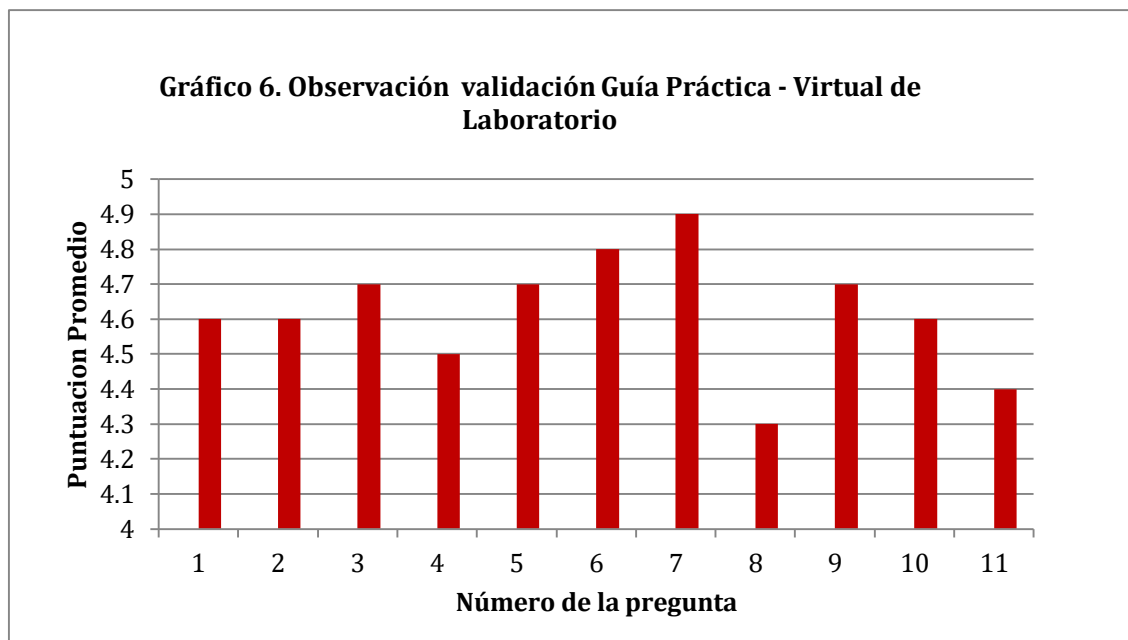
Tabla 14. Observaciones de la guía de Aislamiento y cultivo de bacterias y/o microhongos

N° Pregunta	1 El contenido presentado en la guía de laboratorio es completo y claro.	2 La estructura y el diseño de la práctica está acorde con la temática.	3 El contenido y presentación de la guía práctica de laboratorio es un buen método para alcanzar los objetivos.	4 Las actividades de aprendizaje y los contenidos proporcionados son acordes a los objetivos.
Observación	La teoría es clara y sintética, la metodología se entiende y las preguntas son claras.	La estructura pensada, el diseño y lo que contiene son acordes a la temática.	La forma en la que se presentan los contenidos y lo que hay en éstos, permite que posiblemente se puedan llegar alcanzar los objetivos.	Considero que la práctica es un elemento fundamental dentro del acto educativo y responden a los objetivos.
N° Pregunta	5 Considera que la guía práctica de laboratorio contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del tema.	6 El contenido de la guía permite comprender el proceso para identificar y caracterizar las bacterias y/o microhongos de las heces de <i>Tenebrio molitor</i> .	7 La guía permite fortalecer habilidades en la utilización de técnicas, métodos e instrumentos de laboratorio.	8 La estrategia de aprendizaje presenta una metodología clara.
Observación	Los trabajos prácticos poseen una potencialidad considerable a la hora de propiciar un aprendizaje.	El contenido y la metodología permiten la comprensión del proceso de aislamiento de microorganismos. Se resalta la puesta metodológica.	Si, puesto que permite conocer cuáles son las técnicas, métodos e instrumentos que se deben utilizar en cada paso.	La estrategia de aprendizaje es clara debido a que su contenido lo permite.

Tabla 15. Observaciones de la guía de Bioproceso para la degradación de plástico a partir de las bacterias y/o microhongos aislados de las heces fecales de *Tenebrio molitor*

N° Pregunta	1 El contenido presentado en la guía de laboratorio es completo y claro.	2 La estructura y el diseño de la práctica está acorde con la temática.	3 Las actividades de aprendizaje y los contenidos proporcionados son acordes a los objetivos.	4 El contenido y presentación de la guía práctica de laboratorio es un buen método para alcanzar dichos objetivos.

Observación	Me parece importante que en la guía se brinda la información necesaria para la realización de la práctica.	La estructura es coherente con la guía y todo el proceso.	Los contenidos proporcionados para este caso están completos, en la misma dirección las actividades.	Hay un buen desarrollo de los contenidos y la presentación, lo que permite acercarse a alcanzar los objetivos
N° Pregunta	5 Considera que la guía práctica contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del tema	6 A partir de la Guía es posible comprender que es un bioproceso a pequeña escala y cuál es su importancia	7 Los parámetros e instrumentos requeridos en la guía permiten que el laboratorio sea fácil de realizar.	8 Considera que la guía podría fortalecer sus habilidades científicas, el trabajo en equipo y manejo práctico de Bioproceso cultivo Batch a pequeña escala.
Observación	Tanto la teoría como la práctica son fundamentales para el aprendizaje y la propuesta vincula estos dos aspectos. Esto es una estrategia de aprendizaje nuevo y creo que puede aprenderse bastante de ella.	Debido al desarrollo que se les ha dado a los contenidos, permite comprender el bioproceso y la configuración de reflexiones acerca de su importancia.	Los parámetros son claros y completos, por lo tanto, permite un buen desarrollo del proceso al momento de aplicarlo.	La plataforma y las prácticas de laboratorio fomentan diferentes habilidades dentro de las cuales está la manipulación de instrumentos y el trabajo en equipo.
N° Pregunta	9 La estrategia de aprendizaje presenta una metodología clara.			
Observación	Considero que desde la visita a la plataforma ya se evidencia la intencionalidad de cada una de las diferentes prácticas y actividades propuestas. Es clara y además interesante, puesto que cada parámetro está relacionado.			



Gráfica 6. Promedio de validaciones Guía Práctica - Virtual de Laboratorio.

En la Gráfica 6, se puede evidenciar la relación entre el número de preguntas y la puntuación promedio de estas. Cabe resaltar que, las once (11) preguntas validadas se encuentran en un rango de puntuación promedio de 4.3 y 4.9.

Con relación a la gráfica 6, es pertinente mencionar, que en la pregunta N°6, se obtuvo un promedio de 4.8, lo que indica que la Guía Práctica- Virtual contempla los elementos necesarios que permiten comprender con mayor facilidad la biodegradación de plástico. Para el caso de la pregunta N°7 se obtuvo un promedio de 4.9, lo cual indica que la Guía Práctica-Virtual desde su diseño contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje sobre la biodegradación de plástico con larvas de *T. molitor*, de manera significativa, debido a que el contenido motiva al aprendizaje no solo de este proceso, sino también genera interés hacia los aspectos biotecnológicos ambientales, esto a causa de que la información que se encuentra suministrada, resulta interesante y atractiva para el lector.

Por otra parte, para el caso de la pregunta N°8, se obtuvo un promedio de 4.3 lo cual indica que el contenido que aparece en la Guía Virtual como textos, definiciones, imágenes y videos es claro y específico, pero que hay aspectos en los que es pertinente realizar una serie de mejoras para obtener un diseño más atractivo y acorde con la temática de biodegradación, permitiendo así adquirir un promedio más alto como el de las otras preguntas.

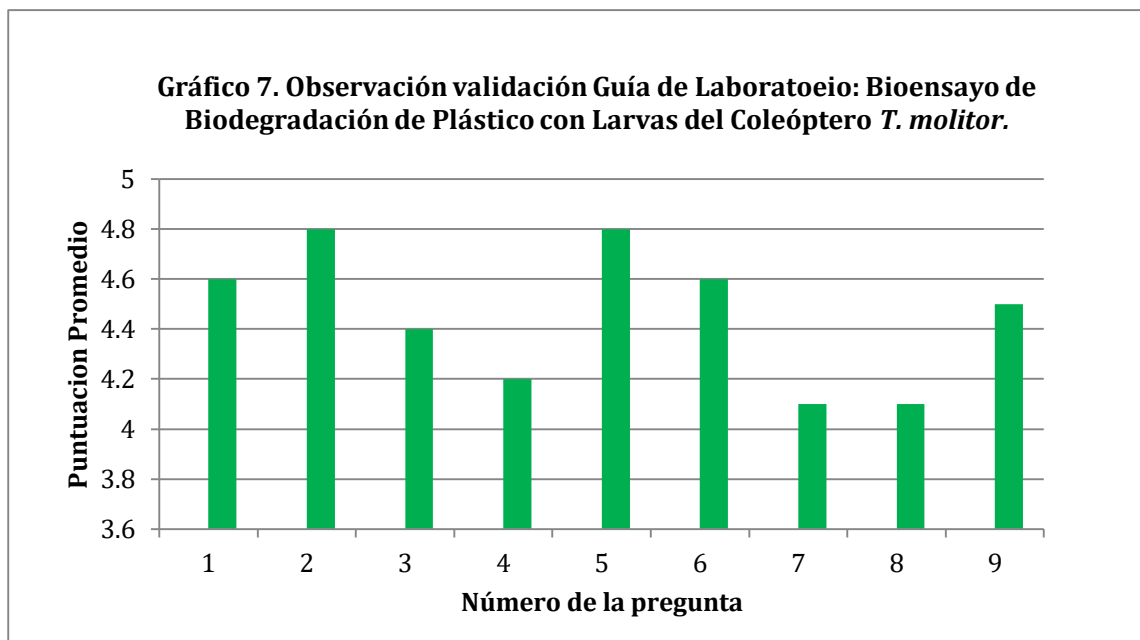
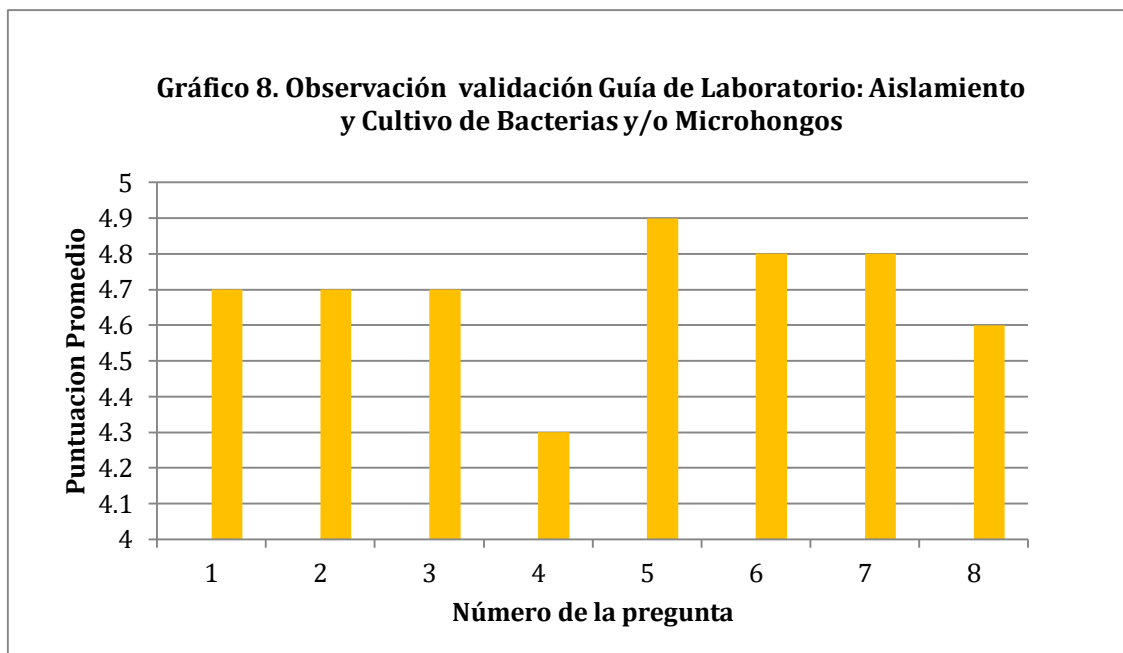


Gráfico 7. Promedio de validaciones Guía de Laboratorio N° 1.

En la Gráfica. 7, se observa la relación entre el número de preguntas y la puntuación promedio de estas. Evidenciando que las (9) preguntas se encuentran en un rango de puntuación de 4,1 y 4,8

De acuerdo con la puntuación evidenciada en la gráfica 7 de las preguntas dos y cinco, se puede inferir, que la estructura y diseño de la práctica de laboratorio es acorde con el proceso de Biodegradación de Plástico y con ella se contribuye a mejorar el aprendizaje sobre los bioensayos, siendo esto un aspecto importante pues permite reconocer la importancia de realizar prácticas de laboratorio, teniendo en cuenta que, según López y Tamayo (2012), las actividades experimentales además de apoyar el aspecto teórico, aporta al desarrollo de la curiosidad de los estudiantes, donde se fortalece el proceso de enseñanza – aprendizaje permitiendo así, que los estudiantes estén en la capacidad de resolver problemas, explicar y comprender los fenómenos con los cuales interactúan en su cotidianidad (p. 148). Además de distinguir la relevancia que tiene los procesos de biodegradación en la Biotecnología Ambiental.

Por otra parte, teniendo en cuenta que la pregunta N°6, obtuvo una calificación de 4,6 y las preguntas N° 7 y 8 se encuentran en un promedio de 4,1, se determina que el contenido y la metodología de la guía permiten observar y comprender el proceso que se debe llevar a cabo en la cría y bioensayo de biodegradación de plástico con las larvas de *Tenebrio molitor*, no obstante, es pertinente ampliar la información sobre las condiciones ambientales que se le deben brindar a este organismo, pues esto permite que el proceso de laboratorio planteado se desarrolle de forma favorable y se convierta en un aporte en el aprendizaje de lo sujetos en relación con la implementación de bioensayos.

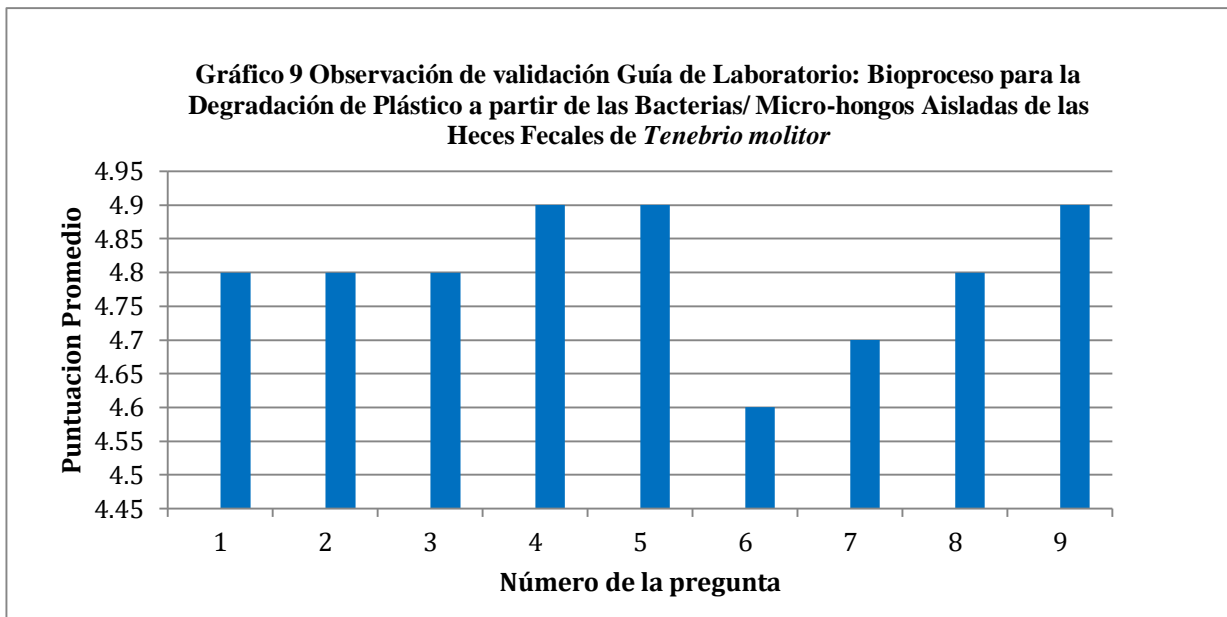


Gráfica 8. Promedio de validaciones de Guía de Laboratorio: Aislamiento y cultivo de bacterias y/o microhongos.

En cuanto a la Gráfica 8, es posible evidenciar que las (8) preguntas validadas para el caso de la Guía N° 2 se encuentra en un rango de puntuación promedio de 4.3 y 4.9.

De acuerdo a lo que se observa en la gráfica 8, es posible evidenciar que la pregunta cinco presenta la puntuación promedio más alta siendo 4.9, lo cual indica que esta guía de laboratorio contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del aislamiento y cultivo de los microorganismos de las heces fecales de la especie en estudio, debido a la claridad de la información que se expone en la guía, además porque presenta un buen desarrollo teórico y metodológico que favorece los procesos de aprendizaje.

Posteriormente, para el caso de la pregunta N°4 en la que se obtuvo un promedio de 4.3, es pertinente resaltar que este promedio indica que las actividades de aprendizaje y los contenidos que se proponen en esta guía son acordes a los objetivos planteados, aunque según lo que postulan algunos de los estudiantes que realizaron el proceso de validación es pertinente realizar una serie de mejoras en el contenido que se presenta, en términos de imágenes y diseño, esto con el fin de comprender y asimilar de forma más apropiada los objetivos propuestos. De igual manera, es importante señalar que, de acuerdo con las observaciones de algunos estudiantes se reconoce que al desarrollar la guía es posible completar la información y las imágenes relacionadas con el aislamiento, además de cumplir los objetivos a cabalidad.



Gráfica 9. Promedio de validaciones de Guía N° 3

En la Gráfica (9), se evidencia que las nueve preguntas se encuentran en un rango de promedio de 4,6 y 4,9

En relación con lo observado en la gráfica 9, se determina que el contenido y presentación de la guía de laboratorio desarrolla y representa un método apropiado para alcanzar los objetivos propuestos, contribuyendo a su vez como se expone en la pregunta N°5 a mejorar el proceso de aprendizaje acerca de los Bioprocesos. Igualmente, la calificación obtenida en la pregunta N° 9 expone que la estrategia de aprendizaje presenta una metodología clara permitiendo así, desarrollar una práctica propicia y significativa.

Por otra parte, para el caso de las preguntas N°6 y 7, se puede evidenciar que la información y contenidos sobre los bioprocesos y su importancia, en este caso a pequeña escala es clara y cuenta con un lenguaje adecuado, sin embargo, es oportuno tener en cuenta que el aprendizaje sobre estos, principalmente del Bioproceso cultivo Batch a pequeña escala, sería complementado en el momento de la implementación de la práctica de laboratorio, pues a partir de esta, es posible comprender de forma clara cómo se da el manejo de los microorganismos en la fermentación líquida y sólida.

9. CONCLUSIONES

La caracterización biológica desarrollada con *Tenebrio molitor* determina que los factores ambientales juegan un rol importante en el desarrollo y crecimiento de este organismo, que llegan acelerar o retrasar su ciclo de vida; variables como temperatura, luminosidad, humedad y la manipulación de los organismos, son aspectos que requieren ser controlados en un rango óptimo de Temperatura entre 25 y 27 °C y de humedad de 70 a 80% para generar un desarrollo de todos sus estadios.

Las dietas suministradas a este organismo condicionan su crecimiento y desarrollo, siendo importante proporcionar alimentos húmedos como vegetales, en este caso la papa y zanahoria, pues esta especie requiere niveles altos de humedad para desarrollar adecuadamente procesos de reproducción, ovoposición, producción de heces y entre otros.

Para obtener un proceso adecuado de reproducción y obtención de crías es determinante sexar y separar los organismos en diferentes grupos en condiciones ambientales adecuadas, de forma tal que se pueda minimizar en cierto grado el nivel de competencia en los machos generando más posibilidades de concretar la cúpula y proceso de reproducción.

Durante el proceso de bioensayo realizado por un periodo de tiempo de (2) meses, se logra determinar que los dos tipos de plástico; poliestireno y polietileno de baja densidad seleccionados para esta investigación, fueron biodegradados, pero el poliestireno (Icopor) presentó una mayor proporción debido a que fue mayor el sustrato consumido de este que del polietileno de baja densidad (bolsa plástica). Siendo el porcentaje de productividad específica para la muestra uno y dos de Icopor de 5% y 8% a diferencia de las muestras tres y cuatro de la bolsa plástica las cuales presentaron un porcentaje de productividad específica de 0.5% y 1.5%.

El porcentaje de biodegradación se vio afectado, debido al consumo que se presentaba entre las larvas de las muestras, ya que al disminuir la cantidad de larvas disminuyó el consumo de plástico. Para el caso, de la muestra uno de Icopor que inició con 25 organismos y finalizó con 3 se obtuvo un consumo de 0.1g a diferencia de la muestra 2 que contaba con mayor cantidad de organismos, dado que inicio con 30 individuos y finalizó con 7, en lo cual se obtuvo un consumo de 0.16g. De igual manera, para el caso de las muestras tres y cuatro de la bolsa plástica, que iniciaron con 25 y 30 organismos y terminaron con 9 y 7 individuos, se obtuvo un consumo de 0.01g y 0.02g. Sin embargo, en las muestras de bolsa plástica se evidenció que hubo mayor consumo en el tratamiento cuatro, aunque había menor número de organismos por lo cual se concluye que la variables inciden en el consumo de este tipo de plástico.

El diseño y elaboración de la Guía Práctica – Virtual de Laboratorio sobre biodegradación de plástico fue favorable, pues el contenido con el que cuenta según el proceso de validación es claro y pertinente, lo que permite llevar a cabo una continuidad de la temática, permitiendo así, la aplicación de conocimientos de diferentes áreas y la exploración en el campo de la microbiología desde diferentes enfoques, aportando así al fortalecimiento de la Biotecnología Ambiental y por tanto a las problemáticas ambientales.

El desarrollo de esta Guía Práctica – Virtual de Laboratorio da la posibilidad de concluir la importancia del desarrollo y utilización de herramientas tecnológicas en la educación, pues a partir de esta, es posible reconocer la necesidad que se ha ido incrementando con el paso del tiempo en el área educativa, ya que dentro de la educación se requiere que los estudiantes vayan asumiendo un rol más activo y autónomo en su proceso de aprendizaje.

La validación de la Guía Práctica-Virtual de Laboratorio concluye que el contenido y la estructura que se presenta es claro y específico, además de ser llamativo y atractivo para los estudiantes, así mismo, se evidencia que los objetivos planteados dentro de la guía se

encuentran acordes a la temática y contemplan los elementos necesarios para comprender la biodegradación.

El espacio virtual de la Guía Práctica se contempla la importancia de la enseñanza de la Biotecnología Ambiental dentro del campo de la Biología y la pertinencia que tiene está en el desarrollo de esta propuesta investigativa y de las problemáticas actuales a causa de los residuos plásticos.

Las observaciones realizadas en la validación de la Guía de Laboratorio: Bioensayo de Biodegradación de Plástico con Larvas del Coleóptero *Tenebrio molitor* concluyen la importancia de realizar investigaciones que integren la teoría - práctica durante la formación de los maestros buscando que se interrelacionen y presenten la misma importancia, pues a partir de esto es posible fomentar alternativas frente a las problemáticas que atañen la actualidad y las posibles soluciones que se pueden articular con los procesos biotecnológicos.

La validación de las Guías de Laboratorio: Aislamiento y cultivo de bacterias y/o microhongos y Bioproceso para la degradación de plástico a partir de las bacterias/ micro hongos aisladas de las heces fecales de *Tenebrio molitor* es posible concluir que estas guías presentan un contenido claro y sintético, además de tener una metodología específica que brinda claridad sobre el proceso de aislamiento e identificación de microorganismos.

La Guía Práctica-Virtual de Laboratorio permite concluir que, desde la biodegradación de plástico es posible aporta a la enseñanza de la Biotecnología Ambiental, ya que desde este proceso se logra captar la atención y generar interés frente al tema en los estudiantes, pues estos de manera autónoma indagan y cuestionan sobre las aplicaciones que tiene este campo, reconociendo así, los procesos que esta contempla como la biodegradación a partir de organismos propios de la naturaleza.

Así mismo, desde la experiencia obtenida en la presente investigación, se considera necesario e importante que la Biotecnología Ambiental empiece a ser abordada de manera más amplia en el campo de la educación, principalmente en la formación de Licenciados de Biología, pues ellos como sujetos transformadores pueden implementar diferentes estrategias y alternativas desde el área de la Biotecnología que aporten a la mitigación de los problemas ambientales que afronta la humanidad.

10. RECOMENDACIONES

- Utilizar larvas jóvenes, teniendo en cuenta que las larvas que son mayores tienden a cambiar con velocidad a su estadio de Pupa, lo que influye en el proceso de biodegradación y producción de heces, además porque estos organismos en fase de Pupa se mantienen por un tiempo aproximado de una semana, en la cual no se alimentan, ni excretan y por ende pueden significar alimento para las otras larvas debido a que se encuentran indefensas.
- Para próximas investigaciones con los organismos de la especie *Tenebrio molitor*, se recomienda realizar el seguimiento con individuos en etapa adulta, para evidenciar si existe

un cambio significativo con relación a el porcentaje de biodegradación que realiza este organismo en etapa adulta a diferencia de su etapa larval.

- Se recomienda realizar este proceso de bioensayo con unas variables de temperatura y humedad adecuadas para mejorar la biodegradación de plástico. Teniendo en cuenta que, los cambios de temperatura y humedad inciden en el crecimiento y desarrollo de estos organismos.
- Finalmente, se sugiere usar las heces fecales producidas por los organismos como abono orgánico. De igual manera, para este proceso se recomienda realizar una evaluación de productividad en especies vegetales para determinar si las heces son seguras y efectivas como abono orgánico.
- Para futuras investigaciones, se recomienda implementar las dos guías de laboratorio que se diseñaron en el marco de esta investigación, estas guías se encuentran en el espacio virtual denominado Guía Práctica-Virtual de Laboratorio en la sección de Prácticas de Laboratorio, esta podrá ser visitada el siguiente Enlace: <https://tgradonalb.wixsite.com/misitio>. Las dos guías son: 1) Bioproceso para la degradación de plástico a partir de las bacterias y/o microhongos aislados de las heces fecales de *T. molitor* y 2) Aislamiento y cultivo de bacterias y/o microhongos. De igual manera, se sugiere que, al desarrollar estas dos guías de laboratorio, los resultados y análisis obtenidos sean cargados en la página web en la sección de foros.

11. BIBLIOGRAFÍA

Albert. (2011). Contaminación ambiental. Origen, clases, fuentes y efectos. In: ECO. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, ECO, cap. 4. p.37-52.

Aliste y Urquiza. (2010). Medio ambiente y sociedad: conceptos, metodologías y experiencias desde las ciencias sociales y humanas. Santiago de Chile: RIL, editores.

Alonso; Lozano; Madregal; Villete; Apaza y Saravia. (2002). Degradación de poliestireno y polipropileno con microorganismos de vermicompost. San Salvador de Jujuy.

Arana. (2018). "Manejo en cautiverio de *Tenebrio molitor* (coleóptera Tenebrionidae) usando cinco tipos de harina". Universidad de Quintana Roo, División en Ciencias e Ingeniería, Tesis de grado. México.

Argueta y Ramos. (2013). Contenido de proteína, grasa, calcio, fósforo en las larvas del Escarabajo molinero (Coleoptera: Tenebrionidae: *Tenebrio molitor* L.) alimentadas con diferentes sustratos y fuentes de agua; para ser utilizadas como alimentación de animales silvestres. Universidad el Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, San Salvador.

Bacon y Reston. (2007). Informe de Evaluación Relleno Sanitario Doña Juana. Bogotá, Colombia.

Bécares. (2014). La Biotecnología Ambiental, ¿la cenicienta de la Biotecnología? *AmbioCiencias*, 12, 81-94. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN:1998-3021(edición digital),21478942(edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

Blasco y Castillo Rodríguez, F. (2014). “Acerca de la Biotecnología Ambiental”. *Arbor*, 190 (768): a157. doi: <http://dx.doi.org/10.3989/arbor.2014.768n4011>.

Blazco-Zumeta. (s.f). Clave de determinación, *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae). FAUNA DE PINA DE EBRO Y SU COMARCA. INSECTA

Boada; Colom y Castelló. (2011). La experimentación animal. 1 recurso electrónico (202 p.). (Treballs de l'assignatura Deontologia Veterinària) <<https://ddd.uab.cat/record/80084>> [Consulta: 23 agost 2019].

Bo-Yu Peng, Yiming Su, Zhibin Chen, Jiabin Chen, Xuefei Zhou, Mark Eric Benbow, Craig S. Criddle, Wei-Min Wu y Yalei Zhang. (2019). Biodegradation of Polystyrene by Dark (*Tenebrio obscurus*) and Yellow (*Tenebrio molitor*) Mealworms (Coleoptera: Tenebrionidae). *Environmental Science & Technology* 53 (9), 5256-5265. DOI: 10.1021/acs.est.8b06963. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.8b06963> https://pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/acs.est.8b06963/suppl_file/es8b06963_si_001.pdf

Carreño. (2013). Caracterización del cuidado y la conservación del recurso hídrico a partir del conocimiento ambiental de la comunidad próxima a la quebrada Yomasa -sector Bolonia- y su vinculación con la política pública. (Tesis de maestría). Bogotá D.C.: Universidad Pedagógica Nacional.

Castillo; González; Moreno y Moreno. (2017). Importancia de la contaminación de los plásticos desde un enfoque CTSA. *Revista del Sistema de Práctica Pedagógica y Didáctica*. Departamento de Química / Universidad Pedagógica Nacional / ISSN: 0122-7866 Bogotá D.C.

Centro de Actividad Regional para la Producción Limpia (CAR/PL). Plan de Acción para el Mediterráneo. (2003). Aplicaciones de la Biotecnología en la Industria.

Cerda, Cortés, Bertini, París y Ríos. (2014). Exposición a agentes de riesgo biológico en trabajadores chilenos. Universidad Católica de Chile. Centro de información Toxicológica y de medicamentos. Santiago de Chile.

Collado y Oulego. (2016). Diseño y escalado de un bioproceso: del artículo de investigación a la planta industrial. Universidad de Oviedo.

Contero. (2006). Utilización de bioensayos para la determinación de contaminación en agua de riego en la cuenca del río granobles. Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador

Corraliza, Berenguer, Moreno y Martín. (2006). La investigación de la conciencia medioambiental. Un enfoque psicosocial. (pp. 106-120). En: *Persona, sociedad y medio*

ambiente. Perspectivas de la investigación social de la sostenibilidad. Ed. Junta de Andalucía. Consejería de Medio Ambiente. Sevilla. (ISBN: 84-96329-90-9).

Correa. (2006). Manual de laboratorio de bioensayos. Universidad Autónoma de Baja California.

Daviran. (2017). Biodegradación de la Espuma de Poliestireno por la larva de *Tenebrio molitor* para la producción de Abono. Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería. Lima -Perú.

Díaz. (2012). Conformado de materiales plásticos. Universidad Nacional Autónoma de México.

Díaz. (2014). Uso de la larva de (*Tenebrio molitor*) como aditivo proteico, en la alimentación de codornices (*Coturnix coturnix japonica*). Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala. p.5-6.

Díaz de Sandy, Balcázar y Nirvana. (2018). Degradación de poliestireno a través del microbiota de *Tenebrio molitor* y *Artemia franciscana*

Domínguez. (2015). La contaminación ambiental, un tema con compromiso social. Producción + Limpia, 10 (1), 9-21. Consultado el 24 de abril de 2019, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552015000100001&lng=en&tlng=es.

FAO. (2017). Microplastics in fisheries and aquaculture. Fisheries and Aquaculture Technical Paper 615. <http://www.fao.org/3/a-i7677e.pdf>.

Ferrer. (2005). Diseño de páginas web en educación. Universidad-o-Autónoma de Madrid. Tendencias Pedagógicas 10. p. 199 a 220.

Garavito. (2007). Plásticos: curso de procesos de manufactura. Escuela colombiana de ingeniería.

Giudice. (2016). El Beagle, un proyecto de investigación exploratoria en escuela media: notas preliminares sobre el escarabajo de la harina en el ámbito de un laboratorio escolar. Revista Boletín Biológica N° 35 - año 10 - 2016 p. 22 -33.

Gómez. (2012). Diseño de una guía didáctica para ambientes virtuales de aprendizaje. Universidad Piloto de Colombia. Bogotá, Colombia.

Gómez. (2015). Metodología de la investigación en pedagogía social (Avance cualitativo y modelos mixtos). Sociedad Iberoamericana de Pedagogía Social Sevilla, España.

Gómez. (2016). Diagnóstico del impacto del plástico-botellas sobre el medio ambiente: Un estado de arte. (Tesis de grado). Universidad Santo Tomás. Facatativá-Cundinamarca.

Gómez y Sáiz. (2013). Biodeterioro de monumentos y biorremediación: Estado actual y perspectivas futuras. An. Real'Acad.'Farm.' Vol'79,'Nº'4'(2013), p.562-579.

Gonzales. (2018). Introducción a los bioprocesos: Módulo IV: Principios de Ingeniería de los Bioprocesos Unidad III: Introducción a los Bioprocesos.

Giudice. (2016). El Beagle, un proyecto de investigación exploratoria en escuela media: notas preliminares sobre el escarabajo de la harina en el ámbito de un laboratorio escolar. Revista Boletín Biológica N° 35.

Instituto de Biotecnología. (s.f). Incorporación de la Biotecnología en la Educación Básica y Media. Revista colombiana de la Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia.

Jaramillo y Zapata. (2008). Aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos en Colombia. Universidad de Antioquia. Colombia.

Jiménez, H. (2013). Guía de Laboratorio de Biotecnología Industrial. Diplomado de Biotecnología (I). Departamento de Biología. Universidad Pedagógica Nacional

López y Tamayo. (2012). LAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO EN LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS NATURALES. Revista Latinoamericana de Estudios Educativos (Colombia), 8 (1), 145-166. [Fecha de Consulta 3 de Julio de 2020]. ISSN: 1900-9895. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1341/134129256008>

Marín. (2008). El trabajo experimental en la enseñanza de la química en contexto de resolución de problemas en el laboratorio. Un caso particular la combustión. En: Maestría en Educación énfasis Enseñanza de las Ciencias Naturales. Universidad del Valle, 2008.

Martín. (2012). Bioprospección de la degradación del polietileno. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

Medrano. (2019). Larvas de gusano de harina (*Tenebrio molitor*) como alternativa proteica en la alimentación animal. Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiental Bogotá, Colombia. Tesis de grado.

Meza. (s.f). Biodegradabilidad de polietileno Tereftalato y de Oxopolietileno, a nivel de laboratorio, por la acción de bacterias nativas presentes en humus de lombriz, caballo y gallina. Escuela politécnica del ejército. Ecuador, Sangolquí.

Mondragón y Contreras. (2015). Uso de los insectos *Tenebrio molitor*, *Tribolium castaneum* y *Palembus dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae) como recurso didáctico en la enseñanza de las Ciencias Naturales. Universidad Pedagógica Experimental Libertador. Instituto Pedagógico de Caracas, Venezuela. Revista de Investigación N.º 86 Vol. 39 septiembre-diciembre, 2015.

Molina, Flores y Hermosillo. (2016). Degradación de Polímeros con *Tenebrio Molitor*. XXVII Congreso e Investigación CUAM-ACMOR. Instituto Mexicano Madero Plantel Zavaleta. Puebla. Pue- México DF.

Muñoz de Malajovich, María Antonia. (2012). Biotecnología. - 2a ed. - Bernal: Universidad Nacional de Quilmes. 448 p.: il.; 22x15 cm. - (Biomedicina / Daniel Eduardo Gómez). ISBN 978-987-558-255-2.

Nieto y Montoto. (2017). Basuras marinas, plásticos y micro plásticos orígenes, impactos y consecuencias de una amenaza global. Ecologistas en acción.

Occelli. (2013). La enseñanza de la biotecnología en la escuela de secundaria y su abordaje en los libros de texto: un estudio en la ciudad de Córdoba / Maricel Occelli; dirigido por Beatriz Nora Valeiras. - 1a ed. - Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba. ISBN 978-950-33-1089-2.

Olivares. (s.f.). Olivares. (s.f.). Diseño y escalamiento de procesos biotecnológicos. Universidad Autónoma de Baja California.

ONU. (2018). La ONU lucha por mantener los océanos de plástico. Noticias ONU.

Pereira. (2011). Los diseños de método mixto en la investigación en educación: Una experiencia concreta. Revista Electrónica Educare [en línea] 2011, XV (enero-junio): [Fecha de consulta: 5 de junio de 2019] Disponible en: <<http://w.redalyc.org/articulo.oa?id=194118804003>> ISSN

Posada. (2007). Biodegradación de la materia orgánica presente en las aguas residuales de una empresa de pinturas. Universidad EAFIT. Medellín.

Quintero. (2014). Construcción de un biodigestor y sus implicaciones en la enseñanza de la química: una experiencia de aula basada en una cuestión socio científica (CSC). Revista del Sistema de Práctica Pedagógica y Didáctica. Universidades Pedagógica Nacional.

Roa. (2010). Referentes de la Biotecnología para la Enseñanza de las Ciencias Naturales. Bio-grafía: Escritos sobre la Biología y su Enseñanza Vol. 3 N°5 ISSN 2027-1034. Bogotá, Colombia, p.170- 180.

ROA ACOSTA, Robinson; VALBUENA USSA, Édgar Orlay. (2013). Incursión de la biotecnología en la educación: Tendencias e implicaciones. Revista Colombiana de Biotecnología, [S.l.], v. 15, n. 2, p. 156-166, jul. 2013. ISSN 1909-8758. Disponible en: <<https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/41274/43810>>. Fecha de acceso: 25 jun. 2020 doi: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v15n2.41274>.

Sarmiento. (2018). Establecimiento e implementación de un Protocolo de Cría de Gusano de Harina *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), como apoyo al programa de conservación de la Rana Venenosa Dorada *Phyllobates terribilis* (Anura: Dendrobatidae) En el Bioparque Wakatá, Parque Jaime Duque.

Sarria-Villa, Rodrigo Andrés y Gallo-Corredor, José Antonio. (2016). La gran problemática ambiental de los residuos plásticos: Micro plásticos. *Jou.Cie.Ing.* 8 (1): 21-27, 2016. ISSN 2145-2628.

Solanet. (2016). Prólogo. Once academias ante la amenaza del calentamiento global para el planeta y las especies que lo habitan / Enrique M. Falcón ... [et al.]; prólogo de Manuel A. Solanet. - 1a Ed compendiada. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Academia Nacional de Ciencias Morales y Políticas. p.9

Tarcilo. (2017). Impacto Formativo de las Prácticas de Laboratorio en la Formación de Profesores de Ciencias. X Congreso Internacional sobre Investigación en Didáctica de las Ciencias. *Enseñanza de las Ciencias*, N.º extraordinario (2017): 3033-3038, ISSN (DIGITAL): 2174-6486.

Téllez. (2012). La complejidad de la problemática ambiental de los residuos plásticos: una aproximación al análisis narrativo de política pública en Bogotá. Bogotá, Colombia.

Uc-Peraza y Delgado. (2012). Determinación de la concentración letal media (CL50) de cuatro detergentes domésticos biodegradables en *laeonereis culveri* (webster 1879) (polychaeta: annelida) Universidad de Quintana Roo. México.

Vázquez, Beltrán, Espinosa y Velasco. (s.f). El origen de los plásticos y su impacto en el ambiente. Editorial anipac. Universidad Autónoma Metropolitana.

Velasco. (2017). Biodegradación del polietileno de baja densidad, mediante el uso del lepidóptero *Galleria mellonella* bajo condiciones térmicas controladas en el 2017. (Tesis de pregrado). Universidad César Vallejo. Perú.

Vildósola. (2009). Las actitudes de profesores y estudiantes, y la influencia de factores de aula en la trasmisión de la naturaleza de la ciencia en la enseñanza de la secundaria. Universidad de Barcelona.

ANEXOS

Anexo 1: Guía de Laboratorio N°1: Bioensayo de biodegradación de plástico (Poliestireno expandido y Polietileno de Baja densidad) con larvas del coleóptero *Tenebrio molitor*.

Guía de Laboratorio N° 1: BIOENSAYO SOBRE BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICO CON LARVAS DEL COLEÓPTERO *Tenebrio molitor*

Por:

Natalia Álvarez Estepa
Lina M. Botache Laguna

Introducción

El bioensayo es el uso de organismos vivos como agentes de prueba para observar el efecto o concentración de un compuesto químico y su incidencia ambiental (Correa, 2006). De igual manera, consiste en el estudio de las respuestas fisiológicas o poblacionales de los organismos. Cabe mencionar que estas pruebas se realizan a diferentes concentraciones y porcentajes de los compuestos, requiriendo como mínimo cinco concentraciones, más una muestra control.



Larvas de *T. molitor*- Tomada por: Álvarez N. 2019

Particularmente, es importante mencionar que los organismos que son utilizados como agentes de prueba deben ser debidamente seleccionados y preferiblemente obtenidos a partir de cultivos en condiciones controladas de laboratorio, esto con el fin de garantizar el crecimiento de la especie de estudio, además de un material biológico de calidad. Igualmente, estos bioensayos deben realizarse en espacios que cuenten principalmente, con el organismo adecuado, y donde se logre la estabilización de este, para así llevar a cabo un monitoreo en el que se puedan detallar alteraciones en el desarrollo de la especie (Correa, 2006).

Por otra parte, en este bioensayo el organismo a utilizar es *Tenebrio molitor* el cual presenta características importantes, como lo es su corto ciclo de vida, contemplando una metamorfosis completa, con cuatro etapas huevo, larva, pupa y adulto. De igual manera, su ciclo de vida suele durar de 280 a 630 días, sin embargo, esto puede variar según las condiciones ambientales como lo son la temperatura y la humedad. Así mismo, es importante tener en

cuenta que los parámetros óptimos para el crecimiento y desarrollo de este organismo están de 25 a 27°C con una humedad de 70 a 80 %. Además de esto, es un organismo cosmopolita con alta probabilidad de supervivencia en condiciones de cultivo de laboratorio. Cabe mencionar, que los cultivos en este caso de las larvas de *Tenebrio molitor*, deben ser iniciados con hembras y machos sanos, con una alimentación controlada, pues esto permite llevar a cabo un seguimiento más efectivo frente a los agentes químicos que pueden incidir en el crecimiento de estos organismos como lo es la ingesta y la biodegradación de plástico.



Estadios larva y pupa de *Tenebrio Molitor* - Foto tomada por Botache, L.2019

Objetivos

General

- Realizar un bioensayo de biodegradación de plástico con las larvas de *Tenebrio molitor* en condiciones de laboratorio.

Específicos

- Identificar el porcentaje de biodegradación de plástico realizado por las larvas de *Tenebrio molitor*.
- Desarrollar destrezas con relación a un bioensayo con larvas de *Tenebrio molitor*.
- Fortalecer el manejo de instrumentos de laboratorio.
- Propiciar el trabajo en equipo y las habilidades científicas.

Materiales, reactivos y equipos

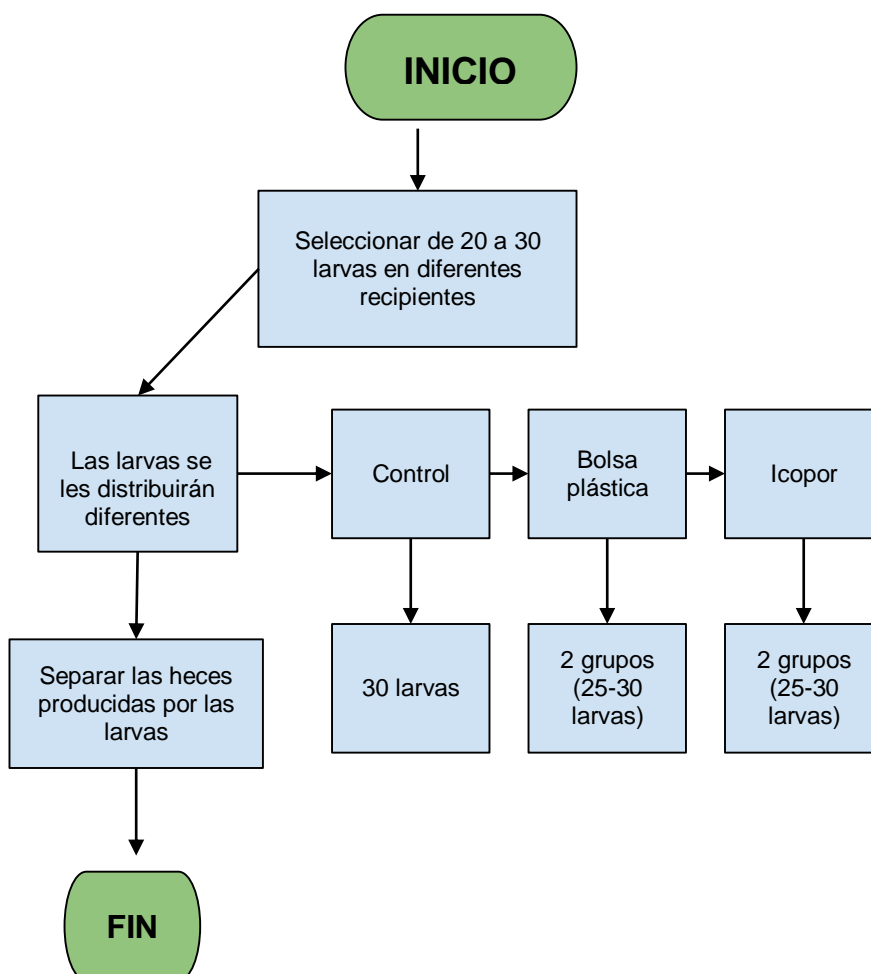
- Individuos de *Tenebrio molitor*
- Cajas de Petri
- Vidriera con secciones de 5x5cm
- Balanza analítica
- Pasto, zanahoria y papa.
- Salvado de trigo
- Icopor (Poliestireno expandido)
- Bolsas de plástico (Polietileno de baja densidad)

- Pinzas
- Algodón
- Cámara fotográfica

Metodología

- Seleccionar de 25 a 30 larvas en diferentes recipientes a las cual se les distribuirán diferentes dietas.
- Se selecciona un grupo de larvas de aproximadamente 30 individuos los cuales serán identificados como organismos de Control.
- Se seleccionan 5 grupos dos de 25 y dos de 30 larvas a los cuales se dispondrán como dieta dos tipos de plástico que representan el poliestireno (Icopor) y el polietileno de baja densidad (Bolsa plástica).
- Antes de proporcionar diferentes dietas, a los 5 grupos se les suministra una misma dieta (papa y zanahoria) por alrededor de una semana, con el fin de desarrollar una flora intestinal en general en los organismos. De igual manera, se realiza la medición y peso de los organismos.
- Posteriormente, se hace la distribución de las dietas suministrando 4 trozos polietileno de baja densidad de 2 cm por 2 cm debidamente pesados a dos muestras de 25 y 30 organismos. Para el caso de las otras dos muestras, se realiza el mismo procedimiento cambiando el polietileno de baja densidad (Bolsa Plástica) por poliestireno (Icopor). En cuanto a la muestra de control se le sigue suministrando vegetales.
- Luego de realizar el seguimiento y la observación por un tiempo estimado de dos (2) meses se deben pesar los trozos de Icopor y bolsa para determinar el porcentaje de productividad específica de biodegradación (Sustrato consumido/tiempo). De igual manera tomar el peso de las heces y de las larvas para identificar la producción de biomasa y heces (Sustrato consumido/ producción).
- Se separan las heces de las cuales se hará un aislamiento de bacterias o microhongos en medios de cultivos selectivos (Ver Guía N°2).

Bioensayo:



Cuestionario

1. ¿Qué otros bioensayos conocen con relación al trabajo con insectos?
2. Consulte ¿qué otro tipo de organismos se han utilizado en bioensayos para la biodegradación de plástico?
3. ¿Consulte qué tipos de plástico son biodegradables?
4. Justifique a partir de dos argumentos, la importancia de trabajar con bioensayos en los procesos investigativos.

Bibliografía

Correa. (2006). Manual de laboratorio de bioensayos. Universidad Autónoma de Baja California.

Anexo 2: Guía de laboratorio N° 2 denominada: Aislamiento y cultivo de bacterias y/o microhongos de las heces fecales de *Tenebrio molitor*.

Guía Práctica de Laboratorio N° 2: AISLAMIENTO DE BACTERIAS Y MICROHONGOS A PARTIR DE HECES FECALES DEL GUSANO *Tenebrio molitor*

Por:

Natalia Álvarez Estepa
Lina M. Botache Laguna

Introducción

Los microorganismos son organismos ubicuos que han colonizado todos los tipos de ecosistemas como agua, suelo, el resto de los organismos (García *et al.*, 2009, p. 9). Esto influye en que los microorganismos que se encuentran en los ambientes naturales generalmente están como poblaciones mixtas, razón por la cual, es necesario realizar una serie de cultivos y aislamientos que permitan identificarlos y caracterizarlos. En este sentido, es pertinente señalar como lo expone Álvarez *et al.*, (2018) existen y se pueden utilizar diferentes estrategias para el aislamiento e identificación de microorganismos (p.2), entre ellos se reconoce la separación física mediante diluciones seriadas y siembra; la utilización de medios de cultivos selectivos y diferenciales, así como el aprovechamiento de características particulares de los microorganismos, sin embargo, para facilitar y mejorar el proceso generalmente se combinan estas estrategias. Ver [Tipos de siembra](#) y [Medios de cultivo selectivos y diferenciales](#).

De esta manera, es necesario comprender que un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de microorganismos. Cabe mencionar, que la composición de estos medios puede ser definida, es decir, un medio sintético o no definida lo que infiere a un medio complejo. De igual manera, los medios de cultivo pueden ser sólidos o líquidos. Así mismo, existe el medio mineral o basal, el cual se trata de un medio que solo contiene compuestos inorgánicos, igualmente, con la adición de una fuente de carbono orgánico al medio mineral, se obtiene un medio mínimo. De otra manera, al referirnos a un medio rico, se hace alusión a un medio con todos los tipos de requerimientos nutritivos (fuente de carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, sales minerales y factores de crecimiento) que permiten el crecimiento de la mayoría de los microorganismos heterótrofos. Siendo así, es válido afirmar que “no todos los medios de cultivo son iguales, ni todos los microorganismos pueden crecer en todos los medios de cultivo” (García *et al.*, 2009, p.8) pues no hay un medio universal que sirva para aislar los diferentes tipos de microorganismos que existen, esto debido a que la diversidad metabólica de los microorganismos es muy amplia; por ello, la variedad de medios de cultivo es también muy grande, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos.

En consecuencia, para la identificación y caracterización de los microorganismos, es importante realizar cultivos puros, los cuales “posiblemente hayan sido las bases más importantes en el desarrollo de la Microbiología, puesto que los primeros trabajos en

Microbiología se hicieron en unas condiciones experimentales que no permitían tener la certeza que se hubieran obtenido con cultivos puros” (García *et al.*, 2009, p.19). De esta manera, es de resaltar que la preparación de un cultivo puro implica no solo el aislamiento de un determinado microorganismo, sino su mantenimiento y el de su descendencia microbiana. Por ello todas las manipulaciones para conseguir cultivos puros se deben realizar en un ambiente estéril que impida el acceso al medio de otros microorganismos diferentes a los que deseamos aislar. Así mismo, en la preparación de estos medios, se debe tener especial cuidado en la esterilización de los equipos, pues esto permite obtener un cultivo más puro, contribuyendo así a la formación de colonias visibles y aisladas. Cabe destacar, que un aislamiento más puro consiste en disponer de la descendencia de un individuo inmovilizada sobre la superficie de un medio sólido y separada del resto de individuos presentes en el cultivo mixto. Esta célula, en las condiciones de crecimiento adecuadas dará lugar a una descendencia que resultará macroscópicamente visible denominada colonia. Cada colonia contiene millones o miles de millones de células idénticas y con el mismo origen y propiedades, por lo cual lo más correcto es hablar de unidades formadoras de colonias (UFC) al referirnos al origen de una colonia.

Por otra parte, en términos de las estrategias de aislamiento e identificación de microorganismos, se destacan los cultivos selectivos, reconociendo que estos favorecen el crecimiento de un tipo o grupo de microorganismo, e inhibe el crecimiento del resto de la flora microbiana presente en el inóculo. Cabe mencionar que, esto ocurre ya que “generalmente estos medios cuentan con productos inhibidores que no afectan el crecimiento de un microorganismo o grupo de microorganismos (...)” (García *et al.*, 2009, p. 9), según sea el caso o requerimiento del investigador, pero sí afecta el resto de la biota, igualmente, es necesario mencionar que como lo indica el mismo autor, la selectividad del cultivo está establecida por condiciones de crecimiento, nivel de oxígeno, pH y temperatura, entre otras.

Al existir diferentes técnicas y estrategias de aislamiento, en la presente práctica se desarrollará la técnica de aislamiento por banco de diluciones y recuento de bacterias, complementada con un aislamiento secundario y uso de la Tinción de Gram. En este sentido, se comprende que el aislamiento de microorganismos mediante banco de diluciones es un método tanto cualitativo como cuantitativo, ya que, por un lado, permite determinar las diferentes morfologías coloniales y, por otro permite conocer el número de microorganismos que hay en una suspensión. Cabe aclarar que, este método “consiste en realizar diluciones sucesivas de la muestra en condiciones de esterilidad, de manera que se va reduciendo el número de microorganismos de la suspensión inicial, con el objeto de sembrar después cantidades conocidas de las diluciones en la caja de Petri” (García *et al.*, 2009, p.21).

Finalmente, para el desarrollo de esta guía de laboratorio, es pertinente revisar brevemente qué tipo de microorganismos degradan plástico, en este caso particular, de los microorganismos que se pueden obtener a partir del aislamiento de las heces fecales del organismo *Tenebrio molitor*. De esta manera, se identifica que, según Martín, (2012) entre los microorganismos con mejor rendimiento en la biodegradación de polietileno, se encuentran los *Actinomicetos* y los hongos, siendo este proceso posible por la acción de enzimas microbianas como las hidrolasas, peroxidasa, oxidasas y oxidoreductasas de microorganismos como *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp., *Rhodococcus* sp., *Bacillus circulans*, cuyas enzimas se destacan en la degradación del polietileno (Martín, 2012). Por

su parte, Zahra *et. al.*, 2010 y Ojeda *et. al.*, 2009 en Martín, (2012) coinciden en que el género *Aspergillus* sp degrada el polietileno, así como también hongos del género *Penicillium* sp. Ante lo dicho, se destaca que existen diferentes organismos degradadores de plástico que a lo largo del tiempo han sido descubiertos a partir de diversas investigaciones, como es el caso del gusano de harina *Tenebrio molitor*, siendo este un organismo que mastica y biodegrada películas de plástico.

Objetivo General

- Determinar las bacterias y microhongos de las heces fecales de larvas de *Tenebrio molitor*.

Objetivos específicos

- Aislar bacterias y microhongos de las heces fecales de *Tenebrio molitor*.
- Identificar bacterias y microhongos obtenidos de las heces fecales de *Tenebrio molitor*.
- Desarrollar destrezas en el manejo de instrumentos de laboratorio.
- Fortalecer el trabajo en equipo y las habilidades científicas.

Materiales, reactivos y equipos

Materiales

- Cajas de Petri
- Tubo de ensayo
- Micropipeta
- Erlenmeyer
- Espátula
- Mecheros
- Probeta
- Beaker
- Laminas y laminillas
- Bata
- Guantes

Reactivos

- Cristal violeta
- Lugol
- Agua
- Alcohol-acetona
- Reactivo Fuscina
- Medios de cultivo selectivos (Agar Pseudomonas base, MacConkey, Agar Nutritivo y Papa Dextrosa Agar)
- Muestras de las heces de las larvas de *T. molitor*

Equipos

- Microscopio
- Autoclave
- Balanza

Metodología

Realizar un aislamiento de bacterias a partir del desecho orgánico (heces fecales) de las larvas y adultos de *Tenebrio molitor*, para esto, desarrollar los medios de cultivo, Agar *Pseudomonas* base, MacConkey, Agar Nutritivo y un aislamiento de microhongos a partir del medio de cultivo Papa Dextrosa Agar.

Con 0.1 g de muestra inicial de heces fecales la cual se disuelve en 0,9 mL de agua destilada estéril, es decir, 10^{-1} . De esta solución inicial, se pasa 0.1 mL a cajas de Petri con los medios de cultivo selectivos. A partir de esto, se realiza un aislamiento secundario, es decir, se seleccionan y siembran las bacterias y microhongos de manera individual.

Posteriormente, para el caso de las bacterias se lleva a cabo el proceso de Tinción de Gram con el objetivo de identificar las bacterias gram positivas y gram negativas y la forma y bordes de estas; el proceso a desarrollar es el siguiente:

Inicialmente, se realiza el frotis del cultivo para llevar la bacteria que se encuentra en el asa y ponerla en la lámina, posteriormente se le agrega una gota de agua para homogeneizar la bacteria y se procede a flamear la misma para fijarla.

Tinción de Gram:

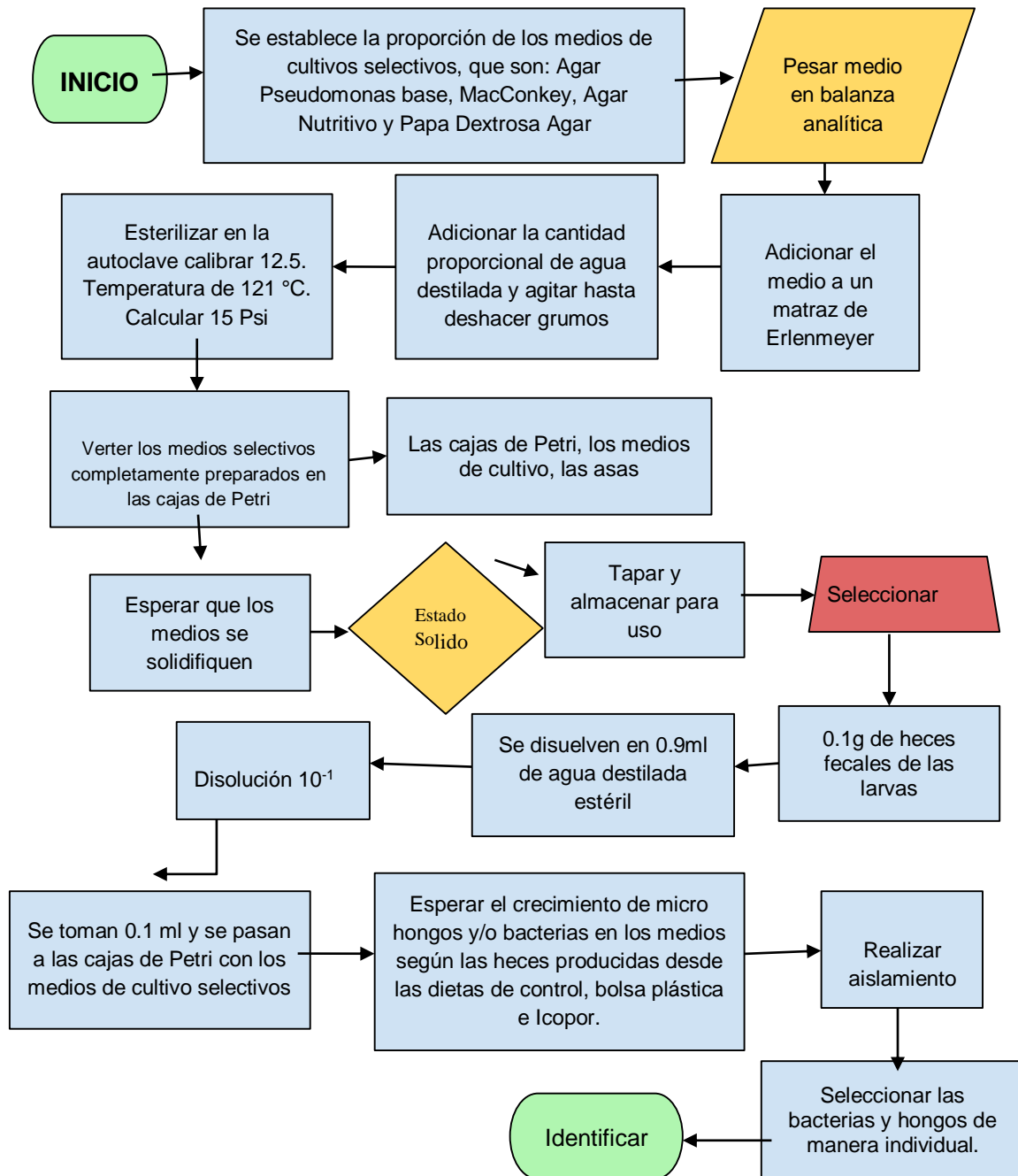
- Adicionar una gota de cristal violeta por un minuto sobre el frotis.
- Lavar suavemente con agua.
- Adicionar Lugol por un minuto.
- Lavar suavemente con agua.
- Adicionar Alcohol-Acetona por 30 segundos
- Lavar suavemente con agua.
- Adicionar Fuscina por un minuto.
- Lavar suavemente con agua.
- Dejar secar la muestra
- Proceder a observar en el microscopio en el objetivo 100x con aceite de inmersión.

Por otra parte, para el caso de microhongos, se realizan montajes con láminas, cinta pegante, azul lactofenol y el microhongo a observar en microscopio en el objetivo de 40x, esto con la finalidad de ver su estructura reproductiva e identificarlo a género.

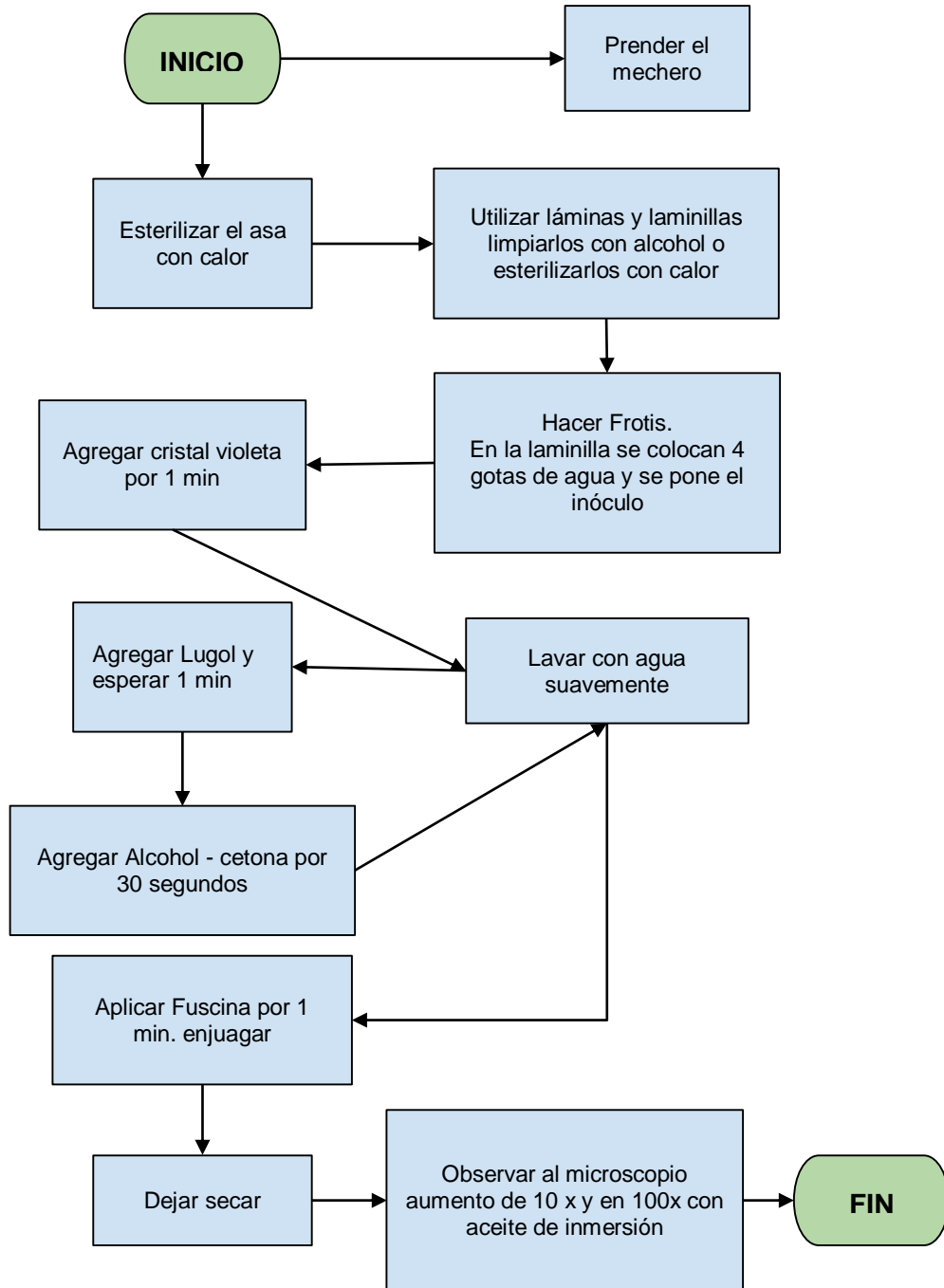
Para realizar el proceso de identificación de estos microorganismos, es pertinente describir la estructura y morfología. Para esto es importante, consultar en claves taxonómicas con el fin de contrastar la información obtenida en la práctica de laboratorio e identificar correctamente estos organismos. A modo de recomendación, al momento de realizar la guía

de aislamiento en la que se propone una identificación de bacterias y/o microhongos, sería pertinente visitar en los siguientes enlaces:
<http://www.analisisavanzados.com/index.php/galerias-de-identificacion-bacteriana>
<https://mycology.adelaide.edu.au/>

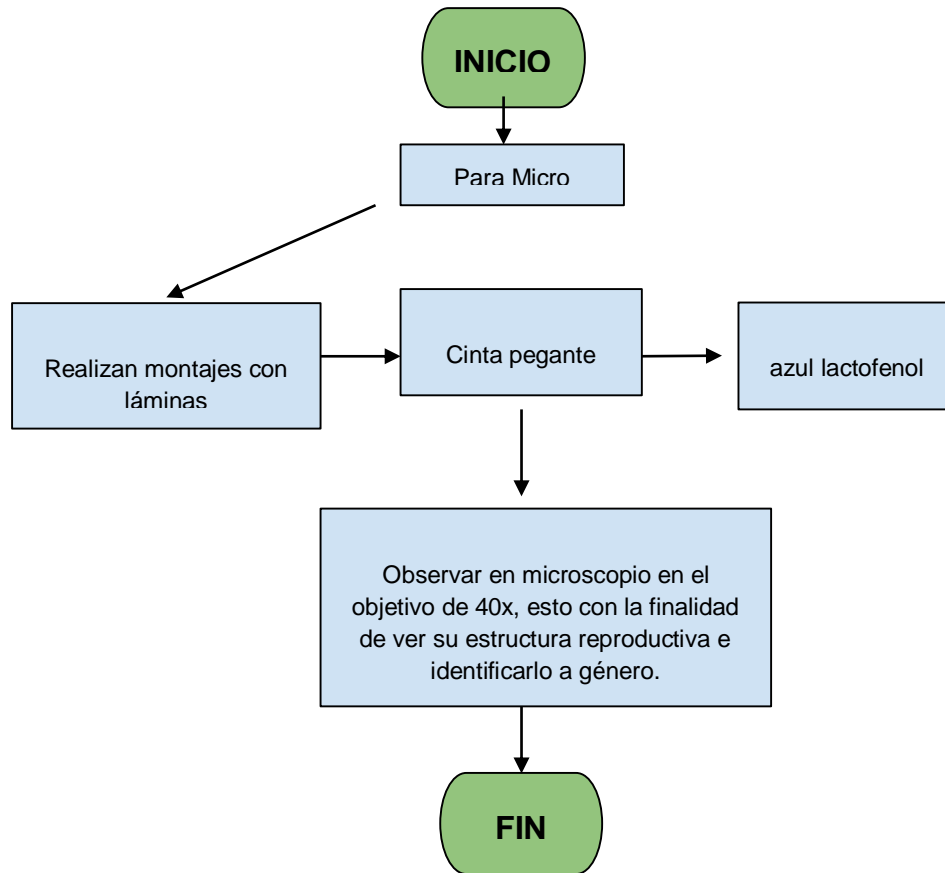
Preparación de Medios de Cultivo y Aislamiento de Bacterias y Microhongos:



Coloración de Gram



Montaje para observación de microhongos



Cuestionario

1. Explique en qué consisten los medios de cultivo selectivos y diferenciales.
2. A partir de los resultados presentados en la guía: Explique qué relación tienen los microorganismos obtenidos en la práctica con el proceso de biodegradación de plástico que realiza *Tenebrio molitor*.
3. Explique por qué es importante en un proceso de investigación utilizar medios de cultivos selectivos.
4. Argumente por qué las heces fecales de *Tenebrio molitor* son un medio importante para el aislamiento e identificación de microorganismos biodegradadores de plástico.

Bibliografía

- Álvarez María del Mar, Blandón Lily J, Ceballos Valeria, Mejía Michelle, Buriticá H Héctor Mario. (2018). Aislamiento de Microorganismos en diferentes ambientes Suelo, Agua y Aire).
- García, Domenech, López, Oliver, Ramírez. (2009). 2º de Biología prácticas de microbiología.

Anexo 3: Guía de laboratorio N°3 denominada: Bioproceso para la degradación de plástico a partir de las bacterias y/o microhongos aislados de las heces fecales de *Tenebrio molitor*.

Guía Práctica de Laboratorio N°3: Bioproceso para la degradación de plástico a partir de bacterias y microhongos aislados de las heces fecales de *Tenebrio molitor*

Por:

Natalia Álvarez Estepa
Lina M. Botache Laguna

Introducción

Los procesos biotecnológicos, conocidos como bioprocesos son una parte esencial de muchas industrias; se basan en el empleo de datos obtenidos a nivel de laboratorio como punto de partida para finalizar en una escala industrial. Estos usan células (microbianas, animales y vegetales) y componentes de células, como enzimas para manufacturar nuevos productos o degradar desechos peligrosos, entre otras funciones. En este sentido, es válido afirmar que un bioproceso consiste en un cultivo de células o el uso de componentes de células en un biorreactor, en el cual es posible crear un ambiente de crecimiento óptimo del microorganismo a utilizar. Es preciso mencionar que, en la actualidad según González (2018) estos bioprocesos han generado gran interés, debido a su potencial en la obtención de productos, primordialmente para el cuidado de la salud humana y su relación con el ambiente (p.4).

De igual manera, es pertinente precisar que, como lo indica Olivares (s.f.) los bioprocesos buscan llevar a cabo el crecimiento de células vivas y, para ello es necesario establecer un entorno donde las condiciones de crecimiento puedan ser controladas. Así mismo, para que el bioproceso sea exitoso, se debe realizar un buen diseño de biorreactor, donde se tenga en cuenta las características de la célula, el modo de operación y las condiciones de esterilidad de esta (Olivares s.f.). Igualmente, como lo expone Collado y Oulego (2016) a la hora de llevar a cabo el diseño es necesario comprender y visualizar el diseño de operaciones.



Biorreactor escala laboratorio. Imagen tomada de:
Página Web Medorex

En los bioprocesos, es necesario que la materia prima para obtener producto se considere en tres etapas. Las cuales según González (2018) son: La Etapa de Tratamiento Previo, en esta etapa se realiza la selección de tamizado, la reducción de tamaño, hidrólisis, formulación de medios y esterilización. Continuamente, como señala el mismo autor se lleva a cabo la segunda etapa, la Etapa de Biodegradación, en la cual se realiza la transformación de sustrato en biomasa o, biomasa en algún producto bioquímico. Por último, se realiza la etapa de Tratamiento de los Productos, la cual consiste en

operaciones físicas, mediante las cuales se obtiene la concentración y purificación de los productos y estos sean convertidos en materia útil, Cabe mencionar que, entre las operaciones de tratamiento más comunes se encuentran la filtración, centrifugación, sedimentación, floculación, ruptura celular, extracción, ultrafiltración, precipitación, cristalización, cromatografía, evaporación, secado y empaque (González, 2018 p. 5-6).

En este sentido, se debe resaltar que los bioprocesos requieren como lo expone González (2018) considerar las propiedades físicas y químicas, delimitando así las tensiones máximas a las que serán sometidos los materiales a utilizar (p.6). En los bioprocesos las condiciones específicas dependen del proceso que se esté desarrollando y en ocasiones no se puede evitar que el material se exponga a condiciones de temperatura y pH relativamente altas. Cabe mencionar que, “en el caso de la presión, los microorganismos no se afectan por las presiones que se encuentran normalmente en los biorreactores (...)” (González, 2018, p.6).

Continuamente, en relación a la segunda etapa del bioproceso, se debe comprender que un Biorreactor tiene como función principal contener las células en un entorno óptimo garantizando la seguridad tanto del medio ambiente como de los operadores y del propio cultivo, por lo cual, la mayoría de los biorreactores están diseñados para ser esterilizados y mantener la esterilidad durante su operación, por lo que generalmente se construyen de acero inoxidable con el fin de poder soportar altas temperaturas y presión. De igual manera, en esta etapa se realiza la fermentación, la cual emplea microorganismos para llevar a cabo transformaciones de materia, en este caso para transformar los plásticos, a partir de la catálisis de enzimas. Cabe mencionar que, para que un proceso de fermentación se desarrolle adecuadamente se debe establecer inicialmente como se mencionó, un medio óptimo para el crecimiento de los microorganismos, esto con el fin de que el microorganismo desarrolle su metabolismo y de esta manera se obtenga la base para un producto. Es preciso comentar que, en cualquier proceso de fermentación, se deben evaluar variables como temperatura, velocidad de agitación, presión, formación de espuma, oxígeno disuelto, pH, formación de biomasa y de producto, y consumo de sustrato. Ver video: [Tipos de Reactores.](#)

Igualmente, es necesario mencionar que dentro de la fermentación encontramos la fermentación líquida y la fermentación sólida; siendo la primera es “una técnica de crecimiento de microorganismos en un medio líquido, donde todos los nutrientes se encuentran disueltos en el medio de cultivo y el proceso se lleva a cabo bajo condiciones físico químicas controladas” (Cruz, 2007, p. 35). En comparación a la fermentación sólida, según este mismo autor tiene ventajas pues se obtiene un producto más homogéneo, es más sencillo el control de los factores de fermentación, presenta mejor distribución de oxígeno y del calor suministrado al sistema y se puede llevar a cabo la medición directa de la biomasa, esta fermentación se realiza principalmente usando tres métodos de alimentación de sustrato, fermentación en lote, fermentación en lote alimentado, y fermentación en cultivo continuo (p. 35). Por otra parte, “La fermentación sólida es un proceso que utiliza sólidos en ausencia parcial o total de agua libre; sin embargo, el sustrato debe tener la humedad suficiente para permitir el crecimiento del microorganismo y que este lleve a cabo todos sus procesos metabólicos” (Pandey, 2003 en Cruz, 2007 p.35). Esta fermentación sirve como fuente de nutrientes y como soporte para que los

microorganismos crezcan sobre él, tiene bajos requerimientos de energía y produce una menor cantidad de residuales en comparación con la fermentación líquida. Adicionalmente, este tipo de fermentación cuenta con de las siguientes etapas: preparación de la mezcla sólida, reducción de la carga microbiana, autoclave, inoculación de la matriz sólida con un inóculo líquido, ajuste de la humedad y del pH, puesta del medio en el fermentador, inyección continua o intermitente de aire a temperatura y humedad controladas, secado hasta la humedad residual deseada, adecuación de tamaño de partícula y obtención de ingrediente activo (Cruz, 2007, p.35).

El bioproceso por escalado presenta la escala de Matriz de laboratorio, conocido como cultivo Batch o cultivo por lote, este se realiza en un rango de 200 a 2000. Posteriormente, se realiza la escala de fermentador o cultivo Fed-Batch, que es un cultivo por lote alimentado, este se realiza de 5 a 10 t y a diferencia del cultivo por lote, requiere controlar de forma más precisa factores de pH, temperatura, agitación, flujos, demanda biológica de oxígeno, la formación de espuma y la presencia de gases. Cabe mencionar que, para regular el pH en este tipo de cultivo, es necesario agregar de NaOH. Por último, se encuentra la escala planta piloto y producción comercial. Adicionalmente, es pertinente mencionar que el cultivo Batch, el cual se pretende desarrollar en esta guía; “constituye la unidad primaria de investigación en la que quedan determinadas las metodológicas de procesamiento y se establecen las condiciones bajo las cuales se obtienen los mejores resultados” (Cruz, 2007 p.24).

Objetivos

General

Realizar un proceso de biodegradación de plástico a partir de un bioproceso a pequeña escala en cultivo Batch con las bacterias aisladas de las heces de las larvas de *Tenebrio molitor*

Específicos

- Diseñar dos cultivos Batch a pequeña escala uno con fermentación líquida y otro con fermentación sólida para biodegradación de plástico.
- Observar la biodegradación de plástico a partir de los bioprocesos.
- Potencializar el trabajo en equipo y las habilidades científicas.

Materiales y Reactivos

Materiales

Mangueras de transparentes de 10 y 30 cm

Corchos

Erlenmeyer de 500 mL

Gasa

Generador de aire

Polipropileno

Poliestireno expandido

Tubos de ensayo inclinados
Guantes de nitrilo
Bata de laboratorio

Reactivos

Alcohol etílico
Medio mínimo de sales
KH₂PO₄
NH₄Cl
Na₂SO₄
KNO₃
CaCl₂ 6H₂O
MgSO₄ 7H₂O
FeSO₄
Agua destilada estéril
NaCl

Metodología

Activación de microorganismos

Para este paso, se debe realizar nuevamente la siembra según el medio de cultivo selectivo, para activar los microorganismos. De igual manera, es importante comprender que, en este paso, se debe dar la formulación cuidadosa de los medios de cultivo adecuados para el crecimiento del inóculo y para la producción, pues esto es un prerrequisito para el desarrollo del bioproceso.

Preparación del inóculo

Para Bacterias; se requieren de unos tubos inclinados con el medio de cultivo Agar Nutritivo, en los cuales se siembra la bacteria por 48 horas a 25°C, luego con agua destilada estéril al 0.85% de NaCl se hace una suspensión de la bacteria y este sería el inóculo.

Para Microhongos; se requieren de unos tubos inclinados con el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar, en los cuales se siembra el microhongo por 5 días a 25°C, luego con agua destilada estéril al 0.85% de NaCl se hace una suspensión de los conidios del microhongo y este sería el inóculo.

Bioproceso a pequeña escala-proceso batch – fermentación líquida

Inicialmente en un Erlenmeyers de 500 mL se preparan 195 mL del Medio Mínimo de Sales (MMS) estéril de composición g/L: KH₂PO₄ 0.5 g, NH₄Cl 1.0 g, Na₂SO₄ 2.0 g, KNO₃ 2.0 g, CaCl₂ 6H₂O 0.01 g, MgSO₄ 7 H₂O 1.0 g, FeSO₄ 0.004g, Agua Destilada: 1000 mL.

Posteriormente, se agrega 1g de plástico de Polipropileno como única fuente de carbono, y se coloca 5 mL del inóculo del microorganismo a estudiar.

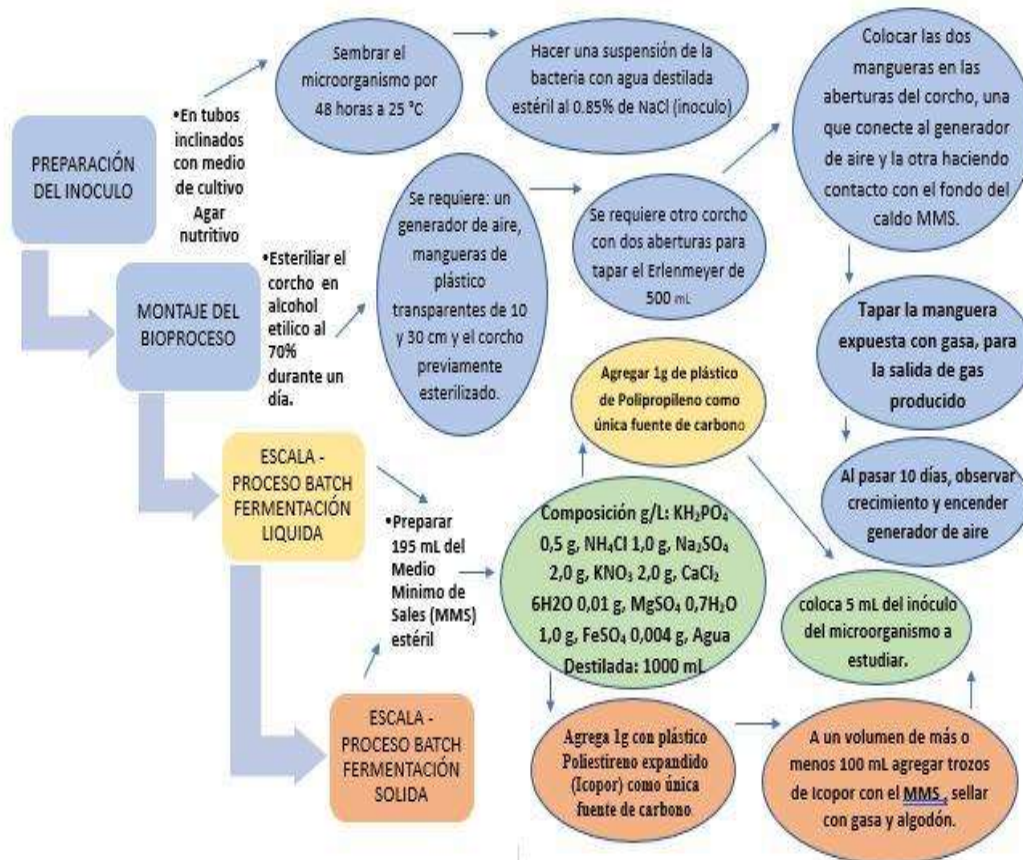
El montaje se deja con aireación con un generador de aire y mangueras de plástico conectadas mediante corchos en el Erlenmeyers de 500 mL (Jiménez, H, 2013).

Bioproceso a pequeña escala-proceso batch – fermentación sólida

En este paso, al igual que en la fermentación líquida, en un Erlenmeyers de 500 mL se preparan 95 mL del Medio Mínimo de Sales (MMS) de composición g/L: KH_2PO_4 0.5 g, NH_4Cl 1.0 g, Na_2SO_4 2.0 g, KNO_3 2.0 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g, FeSO_4 0.004g, Agua Destilada: 1000 mL.

Posterior a ello, se agrega 10 g con plástico Poliestireno expandido (Icopor) como única fuente de carbono, y se coloca 5 mL del inóculo del microorganismo a estudiar. Cabe mencionar, que al ser el Icopor un material que requiere una fermentación sólida, en este proceso a un volumen de más o menos 100 mL, se agregan trozos de Icopor con el MMS preparado y continuamente, este será sellado con gasa y algodón (Jiménez, H, 2013).

Metodología para Bioproceso a pequeña escala - proceso Batch en fermentación líquida y sólida



Cuestionario

¿Qué otros microorganismos son utilizados en bioprocesos de biodegradación de plástico?

¿En Colombia qué microorganismos se utilizan en bioprocesos a gran escala?

¿Qué se requiere para aumentar la biomasa en un bioproceso? ¿De qué forma se debe realizar?

¿Qué inconvenientes pueden surgir en el escalado de un bioproceso?

Bibliografía

Collado y Oulego. (2016). Diseño y escalado de un bioproceso: del artículo de investigación a la planta industrial. Universidad de Oviedo.

Cruz. (2007). Estandarización del proceso de producción masiva del hongo *Trichoderma koningii* Th003 mediante fermentación bifásica a escala piloto. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

González. (2018). Introducción a los Bioprocesos.

Jiménez, H. 2013. Guía de Laboratorio de Biotecnología Industrial. Diplomado de Biotecnología (I). Departamento de Biología. Universidad Pedagógica Nacional.

Martín. (2012) Bioprospección de la degradación del polietileno. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

Olivares. (s.f.) Diseño y escalamiento de procesos biotecnológicos. universidad autónoma de baja california.

Anexo 4: Instrumento de validación Guía Práctica- Virtual de Laboratorio

Instrumento de validación Guía Práctica Virtual de Laboratorio: Guía Práctica Sobre Biodegradación de Plástico.

Conteste y justifique su respuesta de acuerdo con los ítems que se van a definir y a lo que usted está observando. Puntuación de 0 lo más bajo y 5 lo más alto.			
No	Características	puntuación (0 - 5)	Justificación
1	El contenido presentado en la Guía Práctica Virtual de Laboratorio es completo y claro.		
2	El contenido de la guía permite complementar los conocimientos que se encuentran en los libros.		
3	Considera que la Guía Práctica Virtual de Laboratorio es un elemento importante para el aprendizaje.		
4	Las actividades de aprendizaje y los contenidos proporcionados en la guía virtual están acordes a los objetivos del trabajo propuesto.		
5	La presentación y contenido de la Guía Virtual motivó el aprendizaje del tema.		
6	La estructura y el diseño de la Guía Práctica Virtual de Laboratorio es acorde con las temáticas desarrolladas.		
7	Considera que el diseño de la Guía Virtual contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del tema.		
8	El contenido que aparece en la Guía Virtual como textos, definiciones, imágenes y videos es claro y específico.		
9	Considera que el contenido de la Guía Virtual aportó a sus saberes en relación con la Biotecnología Ambiental		
10	La Guía Virtual permite evidenciar la importancia de los procesos biotecnológicos.		
11	La Guía Virtual como instrumento tecnológico aporta y facilita el desarrollo de procesos de laboratorio, información inmediata y recolección y entrega de informes y resultados de manera digital.		

Anexo 5: Instrumento de validación Guía de Laboratorio N°1.

**BIOENSAYO DE BIODEGRADACIÓN DE PLÁSTICO CON LARVAS DEL
COLEÓPTERO *Tenebrio molitor*.**

Conteste y justifique su respuesta de acuerdo con los ítems que se van a definir y a lo que usted está observando. Puntuación de 0 lo más bajo y 5 lo más alto.			
No	Características	puntuación (0 - 5)	Justificación
1	El contenido presentado en la guía de laboratorio es completo y claro.		
2	La estructura y el diseño de la práctica está acorde con la temática.		
3	El contenido y presentación de la guía práctica de laboratorio es un buen método para alcanzar los objetivos.		
4	Las actividades de aprendizaje y los contenidos proporcionados están acordes a los objetivos.		
5	Considera que la práctica contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del tema.		
6	El contenido de la guía permite dar cuenta del proceso de cría, crecimiento y desarrollo del organismo <i>Tenebrio molitor</i> .		
7	El contenido y la metodología de la guía permiten observar el proceso de biodegradación de plástico realizado por las larvas de <i>T. molitor</i> .		
8	A partir de la guía es posible comprender el desarrollo y realización de un Bioensayo.		
9	La estrategia de aprendizaje presenta una metodología clara		

Anexo 6: Instrumento de validación Guía de Laboratorio N° 2

AISLAMIENTO Y CULTIVO DE BACTERIAS Y/O MICROHONGOS.

Conteste y justifique su respuesta de acuerdo con los ítems que se van a definir y a lo que usted está observando. Puntuación de 0 lo más bajo y 5 lo más alto.			
No	Características	puntuación (0 - 5)	Justificación
1	El contenido presentado en la guía de laboratorio es completo y claro.		
2	La estructura y el diseño de la práctica está acorde con la temática.		
3	El contenido y presentación de la guía práctica de laboratorio es un buen método para alcanzar los objetivos.		
4	Las actividades de aprendizaje y los contenidos proporcionados son acordes a los objetivos.		
5	Considera que la guía práctica de laboratorio contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del tema.		
6	El contenido de la guía permite comprender el proceso para identificar y caracterizar las bacterias y/o microhongos de las heces de <i>Tenebrio molitor</i> .		
7	La guía permite fortalecer habilidades en la utilización de técnicas, métodos e instrumentos de laboratorio.		
8	La estrategia de aprendizaje presenta una metodología clara.		

Anexo 7: Instrumento de validación Guía de Laboratorio N° 3

BIOPROCESO PARA LA DEGRADACIÓN DE PLÁSTICO A PARTIR DE LAS BACTERIAS/ MICRO HONGOS AISLADAS DE LAS HECES FECALES DE *Tenebrio molitor*.

Conteste y justifique su respuesta de acuerdo con los ítems que se van a definir y a lo que usted está observando. Puntuación de 0 lo más bajo y 5 lo más alto.			
No	Características	puntuación (0 - 5)	Justificación
1	El contenido presentado en la guía de laboratorio es completo y claro.		
2	La estructura y el diseño de la práctica está acorde con la temática.		
3	Las actividades de aprendizaje y los contenidos proporcionados son acordes a los objetivos.		
4	El contenido y presentación de la guía práctica de laboratorio es un buen método para alcanzar dichos objetivos.		
5	Considera que la guía práctica contribuye a mejorar el proceso de aprendizaje acerca del tema.		
6	A partir de la Guía es posible comprender que es un bioproceso a pequeña escala y cuál es su importancia.		
7	Los parámetros e instrumentos requeridos en la guía permiten que el laboratorio sea fácil de realizar.		
8	Considera que la guía podría fortalecer sus habilidades científicas, el trabajo en equipo y manejo práctico de Bioproceso cultivo Batch a pequeña escala.		
9	La estrategia de aprendizaje presenta una metodología clara.		

