

**MORFOLOGÍA E HISTOLOGÍA DE VÍAS DIGESTIVAS EN COLEÓPTERO
(Tenebrionidae) BAJO EL EFECTO DE UNA DIETA DE POLÍMEROS**

Leidy Tatiana Garcés Castaño

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYÁN-CAUCA
2019**

**MORFOLOGÍA E HISTOLOGÍA DE VÍAS DIGESTIVAS EN COLEÓPTERO
(Tenebrionidae) BAJO EL EFECTO DE UNA DIETA DE POLÍMEROS**

Leidy Tatiana Garcés Castaño

**Trabajo de grado en modalidad de investigación para obtener el título de
Bióloga**

**Directora
Margarita Del Rosario Salazar Sánchez M.Sc.**

**Codirector
Gerardo Andrés Torres Gómez Ph.D**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
UNIVERSIDAD DEL CAUCA
POPAYÁN-CAUCA
2019**

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	1
1. OBJETIVOS	4
1.1 Objetivo General	4
1.2 Objetivos específicos.....	4
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 Orden coleoptera	5
2.1.1 Tenebrionidae	5
2.2 Biopolímero.....	7
2.2.1 Ácido poliláctico (PLA)	7
2.2.2 Almidón Termoplástico (TPS)	8
2.3 Morfología (Anatomía macroscópica)	10
2.3.1 Histología	11
2.4 Biodegradación	11
3. ANTECEDENTES	13
4. METODOLOGÍA.....	17
4.1 Descripción morfológica vías digestivas de un coleóptero de la familia Tenebrionidae (Análisis macroscópico)	17
4.2 Descripción histológica vías digestivas de un coleóptero de la familia Tenebrionidae.....	17
4.2.1 Desvitalización	18
4.2.2 Fijación	18

4.2.3	Deshidratación	18
4.2.4	Diafanización o aclaramiento	19
4.2.5	Inclusión.....	19
4.2.6	Corte y tinción	19
5.	RESULTADOS Y ANÁLISIS:.....	20
5.1	Descripción morfológica vías digestivas de un coleóptero de la familia Tenebrionidae (Análisis macroscópico)	25
5.2	Descripción histológica vías digestivas de un coleóptero de la familia Tenebrionidae.....	30
5.2.1	Estomodeo.....	31
5.2.2	Mesenterón.....	35
5.2.3	Proctodeo	37
6.	CONCLUSIONES	43
7.	RECOMENDACIONES	45
8.	BIBLIOGRAFÍA	46

RESUMEN

La implementación de organismos vivos en estudios científicos, ha sido una herramienta crucial para el entendimiento de procesos e identificación de cambios subsecuentes a la experimentación; en este ámbito, los insectos han permitido desarrollar numerosos avances en la investigación, debido a ello se ha empleado en este trabajo ejemplares de un coleóptero perteneciente a la familia Tenebrionidae en etapa adulta con la finalidad de determinar los efectos relacionados a la degradación de materiales biodegradables por medio del estudio de las vías digestivas. Se halló como resultado de la caracterización morfológica e histológica del tracto digestivo: Elementos de íntima cuticular y la existencia de vellosidades recubriendo la zona estomodeal; con respecto a las dietas administradas película, TPS y avena se concluyó que no hubo daños estructurales relevantes que alterarán la constitución digestiva; además se evidencia una producción aumentada de membrana peritrófica hacia la zona posterior del estomodeo hasta la zona posterior del mesenterón en las tres dietas evaluadas.

INTRODUCCIÓN

Los estudios morfológicos e histológicos han cobrado importancia debido a su contribución en la descripción, identificación y clasificación de especies (Lagar & Fresneda, 2014; Özyurt, Koçakoğlu, Candan, & Suludere, 2019; Watt, 1974; Zúñiga Reinoso, Pinto, & Larrea, 2017); igualmente con su aplicación han generado información relevante para ejercer controles eficaces de plagas agrícolas como *Maecolaspis monrosi*, *Heilipus lauri* Boheman, *Stenohelops barcinensis* conocidos por afectar cultivos de soya, aguacate y caña de azúcar (Cabrera, Lázaro, & Nasca, 2000; Diaz Grisales, Caicedo Vallejo, & Carabalí Muñoz, 2017; Puchi, 2005; Ruiz Montiel, Illescas Riquelme, Hernández, & Wallace, 2015).

Las pruebas histológicas son una herramienta para el seguimiento de procesos en los que se experimenta con organismos vivos; en cuanto a zonas digestivas, se ha adelantado el estudio de tejidos en ejemplares pertenecientes al orden coleoptera como *Rhynchophorus palmarum*, *Aegorhinus superciliosus* y *Dendroctonus adjunctus* con el fin de identificar la conformación de estas estructuras a nivel microscópico (Medel, Molina, Seguel, Rebolledo, & Quiroz, 2013; Sánchez, Sánchez, Caetano, & Jaffé, 2000; Zúñiga Bermúdez, González Herrera, Fernández Arias, & Barrios, 1994).

Teniendo presente que procesos de biodegradación para materiales obtenidos de fuentes renovables, como la película plástica de almidón de yuca (TPS) y ácido poliláctico (PLA) no se habían estudiado con anterioridad a nivel digestivo en insectos (Ren, 2010; Yates & Barlow, 2013); se buscó determinar los efectos morfológicos e histológicos causados en las vías digestivas de un coleóptero Tenebrionidae al administrar dietas con estos materiales. Este trabajo es un complemento al proyecto ID-4858 financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Cauca en la convocatoria UESS-2018:

“Efecto de la asimilación de un polímero como dieta de un coleóptero (Tenebrionidae)”.

Se ha encontrado que insectos pertenecientes a la familia Tenebrionidae tienen la capacidad para degradar materiales como la espuma de poliestireno (S. S. Yang et al., 2018; Y. Yang et al., 2015), lo cual confirma la capacidad de estos coleópteros para actuar eficientemente en diferentes tipos de sustratos. La evaluación de los impactos producidos a partir del consumo de películas plásticas de TPS y PLA sobre una especie biológica es un aporte importante a la identificación y conocimiento de los efectos que producen este tipo de materiales en un organismo vivo; demostrando la utilidad de los insectos en la industria como degradadores naturales de polímeros biodegradables.

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo General

Caracterizar morfológica e histológicamente las vías digestivas de un coleóptero Tenebrionidae en fase adulta alimentado con diferentes dietas.

1.2 Objetivos específicos

- Describir la morfología de vías digestivas del coleóptero Tenebrionidae.
- Evaluar el cambio histológico de las vías digestivas del coleóptero Tenebrionidae por el cambio de dieta con biopolímeros.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Orden coleoptera

Estimaciones demostraron años atrás como los invertebrados eran mucho más numerosos de lo que se esperaba, entre estos se destacó a los artrópodos como el filo con mayor número de especies en el mundo (Erwin, 1982). En la clase insecta se encuentra el orden coleoptera del cual se encuentran registros realmente antiguos hacia el 2000 a.C. en el antiguo Egipto donde eran venerados desde tiempos remotos, posteriormente en tribus humanas tuvieron repercusión en el campo alimentario hacia el paleolítico (Crowson, 1981).

Los coleópteros son insectos holometábolos, que pertenecen al filo Arthropoda y al subfilo Hexapoda comúnmente conocidos como escarabajos; tienen el cuerpo esclerotizado y dividido en tres partes principales: cabeza, tórax y abdomen, además de un par de alas modificadas denominadas como élitros. Su aparato bucal es de tipo masticador (De la Cruz Lozano, 2005) y poseen antenas con 8 u 11 artejos; actualmente son considerados como el orden más numeroso dentro de los insectos con un aproximado de 350.000 a 375.000 especies (Brusca & Brusca, 2015).

2.1.1 Tenebrionidae

La familia Tenebrionidae fue clasificada por primera vez en 1802 por Latreille y comprende un aproximado superior a las 20.000 especies por lo cual se considera de las más numerosas en el orden coleoptera (Cifuentes Ruiz & Zaragoza Caballero, 2014); esta familia se distribuye en 10 subfamilias, 96 tribus y 61 subtribus con una asombrosa diversidad morfológica, por lo cual se considera engorroso el diagnóstico entero de la familia (Bouchard, Lawrence, Davies, & Newton, 2005).

Habitano zonas arbóreas o en el suelo entre restos de madera y rocas; como adaptaciones han logrado disminuir al máximo la pérdida de agua, con ello han colonizado zonas semiáridas y áridas como desiertos; también son considerados en algunos casos como plagas en almacenes de granos donde generan el deterioro de harinas o alimentos secos (Cifuentes Ruiz & Zaragoza Caballero, 2014; Damborsky, Sandrigo Ybran, Oscherov, & Bar, 2000; Garcés Molina, Arango Gutiérrez, & Gómez Fernández, 2009).

Se estima que desde el año 1950 hasta la actualidad, se han adelantado estudios sobre la capacidad de esta familia taxonómica para deteriorar alimentos secos y degradar materiales sintéticos como: espuma de poliestireno, caucho estireno butadieno vulcanizado (SBR) o miga de llanta (Aboelkheir, Visconte, Oliveira, Romildo, & Souza, 2019; Bouchard et al., 2018; S. S. Yang et al., 2018); además se reconoce su importancia en el ciclaje de nutrientes y en servir como alimento de insectívoros (Pizarro Araya & Cepeda Pizarro, 2013).

La dieta de estos organismos varía definiéndose como detritívoros, omnívoros e inclusive caníbales puesto que tanto larvas como adultos se alimentan de organismos muertos, guano, restos de hongos, árboles deciduos, granos y harinas entre otros (Božek, Hanus Lorenz, & Rybak, 2017; Morillo Garcia, Olivero Verbel, & Caballero Gallardo, 2016; Ramos Elorduy, González, Hernández, & Pino, 2002; Roncarati, Gasco, Parisi, & Terova, 2015); en cuanto a su biología, especies como *Corticeus fraxini* y *Corticeus linearis* suelen habitar entornos con poca concurrencia de los humanos, al contrario de géneros como *Latheticus*, *Tribolium*, *Gnathocerus*, *Palorus*, *Alphitobius*, *Alphitophagus*, *Ulomoides* y *Tenebrio* sacan provecho de áreas como molinos o bodegas de alimentos (Brendell, 1975; Garcés Molina et al., 2009).

2.2 Biopolímero

Los biopolímeros proceden en su mayoría de recursos de tipo renovable, hoy en día se han convertido en una alternativa para controlar la producción de productos plásticos derivados del petróleo, debido a que tienen un menor tiempo de biodegradabilidad (Chero Angeles, 2015; Galiano et al., 2018; Valero Valdivieso, Ortegon, & Uscategui, 2013; H. S. Villada, Acosta, & Velasco, 2008). Se enmarcan como polímeros de origen natural y con características biodegradables los obtenidos a partir de microorganismos como el PBH (Ácido polihidroxibutírico), del almidón como el TPS (Almidón termoplástico) o de ácidos como el PLA (Ácido poliláctico) (Tokiwa, Calabia, Ugwu, & Aiba, 2009).

Según la literatura, los biopolímeros obtenidos de fuentes renovables han sido objeto de estudio desde hace dos décadas y actualmente están siendo empleados en mayor proporción; así para el año 2017 se produjo un aproximado de 2.05 millones de toneladas, una cifra en la que el 42.9% corresponde a biopolímeros biodegradables. De acuerdo a lo anterior, se predice que su producción aumente a 2.44 millones de toneladas para el año 2022 (Galiano et al., 2018; Niaounakis, 2019).

2.2.1 Ácido poliláctico (PLA)

Se define como un poliéster alifático de origen microbiano obtenido a partir de la fermentación de fuentes como la caña de azúcar, la yuca, el maíz o la papa (Qi, Ren, & Wang, 2017; H. Villada, Acosta, & Velasco, 2007); fue descubierto por Carothers en 1932 y con el tiempo ha logrado posicionarse como uno de los materiales de sustitución más prometedor para los plásticos de origen fósil, entre las razones que inciden en esta elección está el lograr disminuir la polución ambiental y la aproximación a una crisis energética en un futuro; además se cataloga como una alternativa termoplástica de tipo biodegradable, compostable y renovable (Langer, Basu, & Domb, 2016; Li, Tan, Zhang, & Zhu, 2016).

Este homopolímero se deriva del monómero natural L-láctico (L-PLA) con un grado de cristalinidad del 37% aproximadamente, además posee alta resistencia a la tensión y baja elongación; es adecuado para aplicaciones que den soporte a cargas como suturas y fijaciones. Sus características térmicas se encuentran definidas por un alto punto de fusión y una temperatura de transición vítrea entre 60 °C y 65 °C (Zapata, Pujol, & Coda, 2012); la biodegradabilidad de este material supera los 180 días en condiciones naturales, no obstante se ha evaluado su aplicabilidad en mezclas de compuestos junto al TPS en una proporción del 28%, siendo degradado en un lapso de 32 días (Niaounakis, 2019; Salazar Sánchez, Campo Erazo, Villada Castillo, & Solanilla Duque, 2019).

El ácido poliláctico presenta tres estereoisómeros poli(L-láctico) (L-PLA), poli(D-láctico) (D-PLA) y poli(DL-láctico) (DL-PLA) (Tokiwa et al., 2009); se obtiene de la fermentación de productos ricos en carbohidratos, de tal manera que se lo señala como un material bioactivo que se desintegra en el ambiente (Božek et al., 2017). Para su producción industrial provee en los materiales obtenidos una alta resistencia mecánica, biocompatibilidad, bioabsorbilidad, transparencia, baja toxicidad y fácil procesamiento (Li et al., 2016), también se le atribuye un alto punto de fusión (180°C) y facilidad de fabricación (Pranamuda, Tokiwa, & Tanaka, 1997).

2.2.2 Almidón Termoplástico (TPS)

El almidón se extrae de fuentes agrícolas como frutas, cereales y tubérculos (H. Villada et al., 2007); esta macromolécula contiene dos polisacáridos de importancia: Amilosa, la cual presenta una cadena lineal de unidades de glucosa y es producto de la condensación de D - glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos α (1,4); como características tiene el ser insoluble en agua, especialmente fría debido a que posee una estructura altamente organizada y rígida de tipo tridimensional helicoidal; a partir de ello se conforman largas cadenas lineales de 200 - 2.500 unidades. Por otra parte la amilopectina es una

cadena de tipo ramificado que se constituye a partir de un 94 - 96% por enlaces α (1 - 4) y en un 4 - 6 % con uniones α (1 - 6), contrario a la amilosa tiene solubilidad parcial en agua. Se tiene conocimiento que del 17% - 27% del almidón corresponde a la amilosa y el porcentaje restante es correspondiente a amilopectina; la proporción final de estos componentes lo determina la composición genética de cada fuente o cereal (Badui Dergal, 2006; Hernández Medina, Torruco, Guerrero, & Betancur Ancona, 2008; H. S. Villada et al., 2008).

Entre las funciones más destacadas del almidón está el servir de fuente alimenticia y actualmente ser empleado para la fabricación de productos biodegradables (Hernández Medina et al., 2008; Lörcks, 1998); propiedades relacionadas con la solubilidad, hinchamiento de los granos o la capacidad de retención de agua son unos de los parámetros tenidos en cuenta para formular el tipo de aplicación que se da a cada tipo de almidón (Granados, Guzman, Acevedo, Diaz, & Herrera, 2014).

Aunque la producción de este tipo de plásticos se ha estudiado desde el año 1970 aproximadamente, la primer patente de almidón termoplástico en el mundo fue concedida en el año 2000 en Estados Unidos, posteriormente en Colombia hacia el año 2006 se empezó a trabajar en la producción de un tipo de termoplástico obtenido a partir del almidón de yuca, en el proceso se incluyó la disrupción y adición de plastificantes como el glicerol con la finalidad de aumentar las cualidades mecánicas del material; también se ha ampliado su estudio con relación a las mezclas poliméricas, entre ellas se ha trabajado con fibra de fique o PLA en una proporción del 28% y el porcentaje restante de TPS (Chero Angeles, 2015; Luna, Villada, & Velasco, 2009; Salazar Sánchez et al., 2019; H. Villada et al., 2007).

El almidón es usado a nivel industrial debido a su abundancia por la producción agrícola y bajo costo; cuando es empleado para la formación de películas, posee

como característica ser inodoro, insípido, e incoloro además de presentar una alta flexibilidad en los productos finales (Hoang Phuong Nguyen Vu, 2016). En este caso particular el almidón de yuca tiene como componentes químicos un 0,062% de contenido de proteína cruda, una humedad del 9.5%, 1.02% de fibra cruda y un 0.20% de grasa cruda (Granados et al., 2014); se considera junto al PLA uno de los compuestos más usados para la manufacturación de empaques (Salazar Sánchez et al., 2019).

2.3 Morfología (Anatomía macroscópica)

Los estudios morfológicos tuvieron sus primeros reconocimientos en Grecia hacia el siglo VI a.c. donde se hicieron importantes por su contribución a la comprensión de las diferentes formas de vida; Influidos por las corrientes religiosas y la filosofía de aquel entonces, surgió la dualidad entre el materialismo y el idealismo y con ello se permitió el nacimiento de la morfología científica, la cual se apoyaba en la observación directa, la sistematización y la experiencia; debido a esto se dieron bases para la fundamentación de la embriología, la medicina y la anatomía quienes se apoyaban en estudios y observaciones a nivel macroscópico (Rosell Puig, Paneque Ramos, & Gómez Martínez, 2005).

El término morfología se atribuye al poeta, novelista y filósofo Johann Wolfgang von Goethe (1749–1832) quien desde el siglo XIX lo inmiscuyó en el campo de las ciencias biológicas como el estudio de la forma y estructura de los individuos; para él, un morfológico debía de enfocarse en las estructuras que significaran una función importante para el animal y tuvieran relación con el entorno en el que este se encontrara debido a que los organismos responden a las fuerzas externas que inciden en el (Aronoff & Fudeman, 2001; Lenoir, 1984). Tiempo después Wilhelm Troll (1897 - 1978) retomó los escritos morfológicos de Goethe reforzando la idea de una morfología idealista (Esterhammer, 2002; Malagon Aldana, 2016; Rieppel, 2011); para autores como Lenoir la morfología se definía como el estudio científico de las leyes internas de la organización biológica (Lenoir, 1984).

2.3.1 Histología

La histología tiene como objetivo favorecer el entendimiento de la microanatomía, células, tejidos y órganos, además de correlacionar factores de estructura y función de los organismos (Ross & Wojciech, 1966); su surgimiento se remonta a inicios del siglo XVII con la creación del microscopio compuesto, esta contribución permitió el estudio de estructuras más pequeñas y el desarrollo de nuevos estudios entre los que se destacaron personajes como Marcelo Malpighi, quien confirmó la existencia de los capilares (Rosell Puig et al., 2005).

En 1590 se hicieron contribuciones importantes como el empleo de lentes de aumento por primera vez, a manos de Hans Janssen y su hijo Zacharias; posteriormente el diseño de lentes compuestas diseñadas por Leeuwenhoek, habilitó el descubrimiento del mundo microscópico (Iglesias Ramírez & Rodríguez Obaya, 2015) y el empleo de nuevos términos como la célula propuesto por Robert Hooke en el año 1665 (Angulo Rodríguez, Galindo Uriarte, Avendaño Palazuelos, & Perez Angulo, 2012; Iglesias Ramírez & Rodríguez Obaya, 2015; Mejía Verdial, Paredes Moreno, Licona Rivera, & Salinas Gómez, 2016; Rosell Puig et al., 2005)

La célula es la unidad básica de todo ser vivo, la reunión de muchas de estas conforma lo que se conoce como tejidos; existen diferentes tipos de tejidos, a modo grueso se pueden establecer en epitelial que se divide en dos categorías generales: glandulares o de revestimiento; también está el tejido nervioso especializado en la transferencia de información, el tejido muscular liso o estriado y por último el de tipo conectivo que se encarga de establecer uniones entre tejidos y dar sostén (Mejía Verdial et al., 2016).

2.4 Biodegradación

Proceso por el cual se produce la degradación bioquímica de materiales, en este intervienen microorganismos (hongos, bacterias, algas) que conducen la

formación de pequeños fragmentos como producto de la ruptura de enlaces en los compuestos; el proceso consiste en la excreción de enzimas extracelulares las cuales proceden a despolimerizar el material fuera de las células, produciendo como resultado agua, dióxido de carbono, metano (en caso de biodegradación anaerobia) y materia orgánica (Salazar Sánchez et al., 2019; Valero Valdivieso et al., 2013).

Para que un proceso de biodegradación se dé satisfactoriamente, el crecimiento de microorganismos en las superficies de interés es primordial, a ello se denomina "*proceso de erosión superficial*"; también debe ocurrir la pérdida de propiedades mecánicas como dureza, tensión, resistencia en los materiales, acompañado de factores abióticos incidentes. El término plástico biodegradable se adjudica a polímeros que son sometidos a procesos heterogéneos de degradación, en los que se involucra diferentes microorganismos que tienen como objetivo consumir las moléculas, transportarlas directamente al interior celular y excretar los restos despolimerizados (Muller, 2005).

En este proceso se debe tener presente tanto las condiciones del ambiente como el tipo de microorganismos asociados al mismo, para determinar la biodegradabilidad de un material, se deben evaluar características físicas y químicas, además del tipo de superficie que presentan, el orden de sus estructuras, la elasticidad y la cristalinidad de los mismos (Tokiwa et al., 2009).

3. ANTECEDENTES

Los combustibles fósiles han sido usados en la fabricación de plásticos desde tiempo atrás, en su proceso de extracción ocasionan la liberación de gases de efecto invernadero (GEI) acelerando el cambio climático en el planeta (Sanz et al., 2016); aproximadamente el 5% del petróleo que se extrae en el mundo tiene como finalidad convertirse en productos plásticos de diversa índole (Zapata et al., 2012) y como dato se tiene que de todos los residuos poliméricos convencionales producidos desde el año 2015 solo el 9% ha sido reciclado (Nava, 2018).

En los años 1930 y 1940, las resinas fueron las primeras en incursionar en la historia de los plásticos; más adelante hacia los años 70 ya se había sintetizado el primer plástico sintético y las bolsas plásticas de polietileno eran comercializadas (Jambeck et al., 2015). Desde este entonces se empezaron a visualizar problemáticas ambientales como la reportada por Charles Moore en el 1997, multitud de parches de basura que hoy en día ascienden a 5 islas ubicadas en el Océano Pacífico, Atlántico y océano Índico (Greenpeace, 2016; Nava, 2018).

Actualmente es necesaria la implementación de polímeros con menor impacto ambiental que apoyen la producción responsable y no sean producidos a partir del petróleo, estas iniciativas son denominadas como contaminación blanca (Salazar Sánchez et al., 2019; Sanz et al., 2016; Weng et al., 2013). Entre los polímeros sintéticos de mayor uso están el polietileno, polipropileno, poliestireno, polivinilo de cloruro y tereftalato de polietileno (Ruiz, Montoya, & Paniagua, 2009; Tokiwa et al., 2009); desde la incursión de estos plásticos convencionales se ha evaluado que anualmente el 79% es depositado en vertederos o en el medio ambiente (Greenpeace, 2018; Nava, 2018) de acuerdo a lo anterior, desde el año 1990 se ha buscado mejorar la estabilidad de nuevos biopolímeros como el PLA o el TPS (Muller, 2005), con el fin de disminuir la producción y uso de materiales plásticos derivados del petróleo (Caetanoa et al., 2018).

Recubrimientos como el TPS son el resultado del procesamiento de productos naturales y tecnologías de polimerización (Lörcks, 1998); este polímero se produce a partir de biomasa, siendo el resultado de mezclar almidón y glicerol como agente plastificante (Salazar Sánchez et al., 2019). Estudios adelantados con películas de almidón de yuca en la universidad EAFIT con el uso de microscopia, demuestran los efectos de degradación por diversas fuentes; entre estas, se ha descubierto que el papel de los microorganismos es producir enzimas extracelulares para degradar los polímeros en oligo polímeros, dímeros y monómeros de menor peso molecular (Ruiz et al., 2009; Tokiwa et al., 2009).

Tanto la organización de los gránulos de almidón (Buléon, Colonna, Planchot, & Ball, 1998) como los niveles de amilosa están relacionados con la fuente de extracción; algunos autores indican que esta última para el caso del almidón de yuca es de un 27.5% (Ewelina Basiak, Andrzej Lenart, 2017). Por otra parte, el PLA es una alternativa importante para la solución de problemáticas como la futura crisis energética ocasionada por el agotamiento del petróleo y se obtiene por medio de un proceso de polimerización de monómeros lácticos (Salazar Sánchez et al., 2019).

La aplicación de biología molecular y técnicas analíticas concluyó que la degradación microbiana produce extracelularmente enzimas como la depolimerasa; esta ocasiona un ataque a los enlaces intramoleculares del PLA, lo que genera oligómeros, dímeros y monómeros de menor peso molecular, posterior a ello estos productos son conducidos al interior celular donde se obtiene como residuo dióxido de carbono, agua o metano en procesos de tipo anaerobio; con lo cual se infiere un proceso de asimilación por agentes biológicos (Qi et al., 2017).

El empleo de organismos vivos para estudiar estos procesos permite comprobar que estas alternativas de polímeros son poco contaminantes, lo que logra ser un punto a favor para la validación de su uso; en el campo de los microorganismos,

se ha descubierto que los actinomicetos juegan un papel importante en estas actividades, en cuanto a ello algunos organismos pertenecientes al género *Amycolatopsis* eliminan películas de PLA en un lapso de 14 días; no obstante se reconoce la estabilidad del PLA a la hidrólisis y que su degradación se da cerca de los 53 °C y 59 °C (Pranamuda et al., 1997; Tokiwa et al., 2009).

En este campo los insectos también han sido usados para el manejo final de elementos sintéticos; en el orden lepidóptera la larva de *Galleria mellonella* ha demostrado que puede degradar 92 mg de polietileno en un lapso de 12 horas (Bombelli, Howe, & Bertocchini, 2017), en la familia Tenebrionidae (Orden Coleoptera) en etapa larvaria se tienen especies que han logrado desintegrar materiales como la espuma de poliestireno, caucho estireno butadieno vulcanizado (SBR) y miga de llanta, además de comprobar su ubicuidad para hacer estos procesos de manera efectiva (Aboelkheir et al., 2019; Y. Yang et al., 2015).

Otro estudio con el mismo ejemplar de la familia, evaluó la calidad dietaria con la ingesta de productos como el poliestireno (PS), policloruro de vinilo (PVC) y ácido poliláctico (PLA); demostrando que la cantidad proteica del insecto al someterlo a estos ensayos no varía significativamente con relación a las tres dietas; se destaca que la dieta administrada de PLA desarrolló mayor valor energético y mejor contenido lipídico con respecto a las otras variantes. Se concluyó que la capacidad de biodegradación de estos sustratos se debe a una predisposición adaptativa por parte de la micro biota presente en los intestinos del insecto (Božek et al., 2017).

En *Bradinopyga geminata* del orden Odonata se ha descrito histológica y morfológicamente estructuras digestivas como el recto y el íleon haciendo uso de la microscopia de luz con la finalidad de ampliar el conocimiento sobre estas estructuras en la especie; como resultado se evidenció de que el músculo circular

presenta mayor grosor y desarrollo que el longitudinal (Chaudhari, Bakare, & Dhamani, 2018). Otros estudios en el orden Hemiptera se han centrado en encontrar para la especie *Stenomacra marginella* como la anatomía y la histología de las vías digestivas tienen relación con la absorción y digestión de alimentos; estas investigaciones contribuyen al entendimiento de los procesos digestivos y también dan cuenta sobre la conformación morfológica e histológica del tracto digestivo en diferentes especies (Nava Gervasio, Ortiz Ordoñez, & Uría Galicia, 2007).

Curculionidos de la especie *Hypothenemus hampei* conocida por ser una de las plagas del café, se han descrito morfológicamente para identificar las adaptaciones desarrolladas a lo largo de las vías digestivas y así servir como apoyo al control de la especie a nivel agrícola (Rubio Gómez, Bustillo Pardey, Vallejo Espinosa, Benavides Machado, & Acuña Zornosa, 2007). También ejemplares como *Aegorhinus superciliosus* han corroborado que estos órganos presentan modificaciones con respecto a los hábitos alimenticios del insecto (Medel et al., 2013); este tipo de investigaciones sirven de apoyo para comprobar las variaciones que existen con respecto a estas estructuras entre organismos.

Concluyendo se puede evidenciar cambios en relación a la dieta con respecto a la longitud, morfología, proporción de tejido conjuntivo adiposo asociado y diferencias en el número de túbulos de Malpighi (Meyran, 1982; Villeda Callejas, Barrera Escorcía, Lara Vázquez, & Ruiz Puga, 2008; Zúñiga Bermúdez et al., 1994); como características comunes se evidencia la presencia de membrana peritrófica, además de capa muscular de tipo longitudinal y circular (Arruda & Cavasin Oliveira, Maria Gláucia Garcia da Silva, 2003; Chaudhari et al., 2018; Ekis & Gupta, 1971; Medel et al., 2013).

4. METODOLOGÍA

Se emplearon un total de 40 ejemplares pertenecientes a la familia Tenebrionidae de la misma especie, administrando las siguientes tres dietas de manera separada: **Avena, TPS** (*Manihot esculenta Crantz*) y película con una proporción de 28% de **PLA** y 72% de **TPS** elaborada empleando la metodología descrita en la patente **No. US9416275B2** (Salazar Sánchez et al., 2019).

4.1 Descripción morfológica vías digestivas de un coleóptero de la familia Tenebrionidae (Análisis macroscópico)

Con ayuda de un microscopio estereoscopio Nikon SMZ 800 al aumento que requiriera el tejido, se hizo la disección empleando pinzas entomológicas de punta fina y solución Buffer fosfato (PBS) con un pH básico de 7.2%; las fotografías de los órganos se tomaron con una cámara digital adaptada de marca SIGHT DS-2Mv.

Para aislar las vías digestivas del insecto se inició desprendiendo élitros y alas membranosas, además de realizar cortes dorso-laterales del tórax y abdomen; posteriormente se fracturó la cutícula del rostrum y cabeza (Rubio José David, 2006); por último se retiraron los fragmentos anexos de tejido, grasa y tegumento para posteriormente fijar las vías digestivas con una solución de formol tamponado al 10% a temperatura ambiente, con la finalidad de preservar los tejidos post mortem (Hartman, 2019).

4.2 Descripción histológica vías digestivas de un coleóptero de la familia Tenebrionidae

Para el cumplimiento de este objetivo se procedió a inducir a los insectos de las tres dietas evaluadas avena, TPS y película en procesos de desvitalización,

fijación, deshidratación, aclaramiento, inclusión, corte y tinción de la siguiente manera:

4.2.1 Desvitalización: Se debe producir el deceso de los organismos de manera rápida y efectiva con la finalidad de evitar el sufrimiento de los ejemplares empleados (Hartman, 2019; López Vásquez, 2007), para ello se procedió a inducir los organismos en aletargamiento al frío siguiendo el protocolo aplicado con el coleóptero *Aegorhinus superciliosus* (Medel et al., 2013).

4.2.2 Fijación: La importancia de este paso radica en el detenimiento del deterioro celular post mortem (Montalvo Arenas, 2010; Villalobos, Agudelo, & Arrieta, 2010); el procedimiento consistió en que después de retirar los tres pares de patas y las antenas del animal, se tomó por separado: cabeza, tórax, abdomen para después sumergirlos en formol tamponado al 10% en tubos eppendorf® debidamente rotulados (Barbosa, Berry, & Kary, 2015).

4.2.3 Deshidratación: Consiste en el remplazó del agua contenida en los tejidos por un líquido intermedio que permita la introducción del medio de inclusión en las muestras estudiadas (Villalobos et al., 2010); de manera que al culminar el proceso de fijación, en canastillas de plástico se introdujeron los segmentos en fenol al 4% por un lapso de 48 horas acompañado de alcohol al 80%. Es importante indicar que tanto el fenol como el ácido clorhídrico cumplen la función de disminuir la dureza en estructuras como el exoesqueleto y maximizan la permeación de la parafina posteriormente (Barbosa et al., 2015).

Seguidamente se hizo un cambio en alcohol al 5% por 30 minutos, y subsecuentemente se varió con alcohol al 10% y al 20% por el mismo lapso de tiempo; a continuación se aumentó la duración de proceso a una hora, en alcohol al 35% y al 50% agregando en esta última graduación 20 mililitros de n-propanol, con el fin de evitar el endurecimiento de los tejidos.

Culminado el paso anterior las muestras fueron puestas en una mezcla de alcohol al 50% más 35 mililitros de n- propanol y 2 mililitros de fenol al 4% por 1 hora; posteriormente se cambió la proporción a alcohol al 40% más 55 mililitros de n- propanol; a continuación se sumergieron las muestras en alcohol al 25% acompañado de 75 mililitros de n-propanol por el lapso de 1 hora; como paso final se realizaron dos cambios en alcohol n-propanol puro acompañado de fenol al 4% durante 60 minutos.

4.2.4 Diafanización o aclaramiento: En este paso es primordial el establecimiento de un paso intermedio entre el medio de inclusión y la eliminación del deshidratante, además de preparar al tejido para su posterior coloración (Sandoval, Tellez, Rivera, Moreno, & Moreno, 2017); para ello se empleó 50 ml de n-propanol más 50 ml de xilol por una hora, a continuación por un lapso de 30 minutos se depositaron las muestras en 25 ml de n-propanol y 75 ml de xilol. Como modificación en este paso se emplean variaciones con cristales de fenol o ácido clorhídrico (Barbosa et al., 2015).

4.2.5 Inclusión: Los tejidos fueron incluidos en parafina Paraplast®, en dos cambios de un tiempo de 1 hora con temperatura de 58 °C.

4.2.6 Corte y tinción: Se obtuvo cortes transversales y longitudinales; con el uso del micrótopo Leika® de un tamaño de 3 µm aproximadamente; los cortes obtenidos se desparafinaron y tiñeron con la técnica: Hematoxilina - Eosina para finalmente realizar el montaje permanente. Por último se hicieron las respectivas observaciones haciendo uso de la microscopia de luz y se tomaron las fotografías con dos cámaras digitales adaptadas de marca SIGHT DS-2Mv y 3 MP (AmScope, USA) para el análisis de vías digestivas por efecto de las dietas en el coleóptero.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS:



Figura 1. Ejemplar de coleóptero Tenebrionidae etapa Adulta. Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

Los coleopteros empleados en este estudio, tiene una coloración oscura y brillante en la etapa adulta (Fig. 1); el exoesqueleto que recubre sus cuerpos se forma mediante un proceso denominado esclerotización, en el cual se ligan moléculas de proteína y quinonas para dar la dureza correspondiente. En la (Fig. 2) se puede apreciar las tres capas principales de esa estructura: epicutícula, pro cutícula y epidermis (Bar, 2011; Barbosa et al., 2015), además de la disposición de las capas del exoesqueleto al formar los pliegues corporales que permiten la movilidad del organismo.

A continuación del tegumento se halla la epidermis, la membrana basal, un espacio rico en tejido adiposo semejante al multilocular (Fig. 3) y otros componentes celulares como células nerviosas, si el corte se realiza en la zona cefálica (Fig. 4); en este caso se evidenció sobresaliendo del exoesqueleto setas, unas prolongaciones epidérmicas sensitivas descritas con anterioridad en la

histología de *Apis mellifera* donde se buscó describir la conformación de las regiones corporales, la organización anatómica y el integumento de la especie (Villalobos et al., 2010).

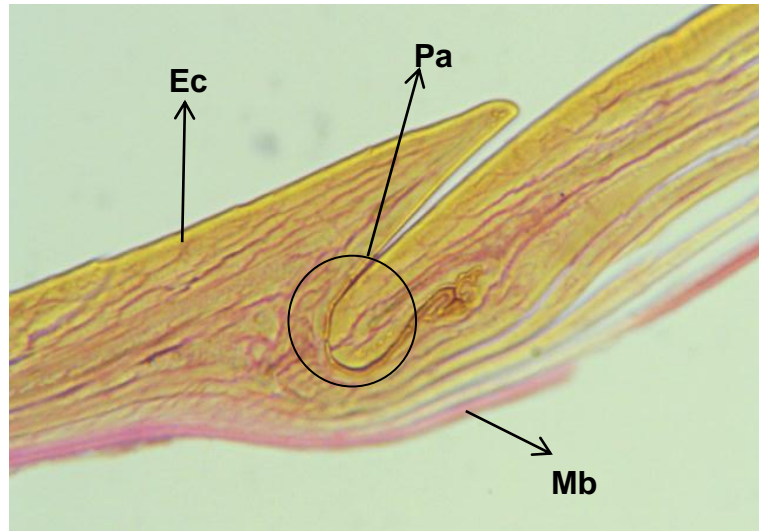


Figura 2. Exoesqueleto, pliegue de articulación. Se evidencia epicutícula (Ec), membrana basal (Mb), pliegue articulación (Pa). Técnica Hematoxilina - Eosina dieta Película **40X**. Fuente propia.

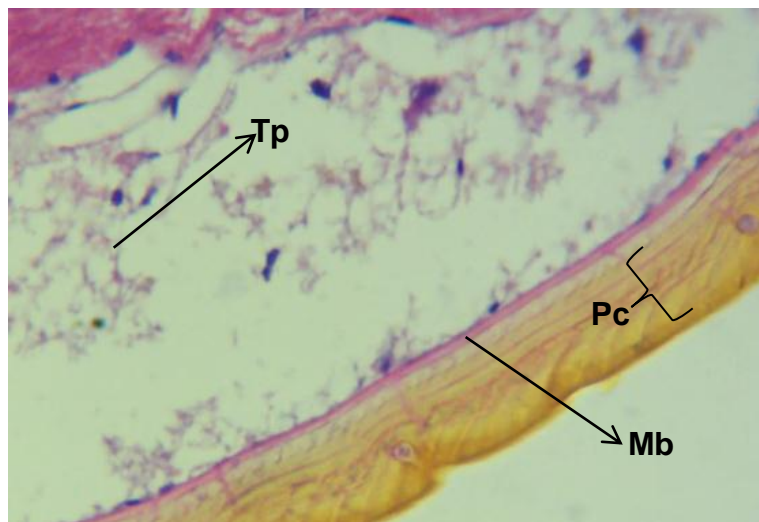


Figura 3. Tegumento y tejido adiposo. Se evidencia pro cutícula (Pc), membrana basal (Mb), semejante al tejido adiposo multilocular (Tp).Técnica Hematoxilina - Eosina, dieta Película **40X**. Fuente propia.

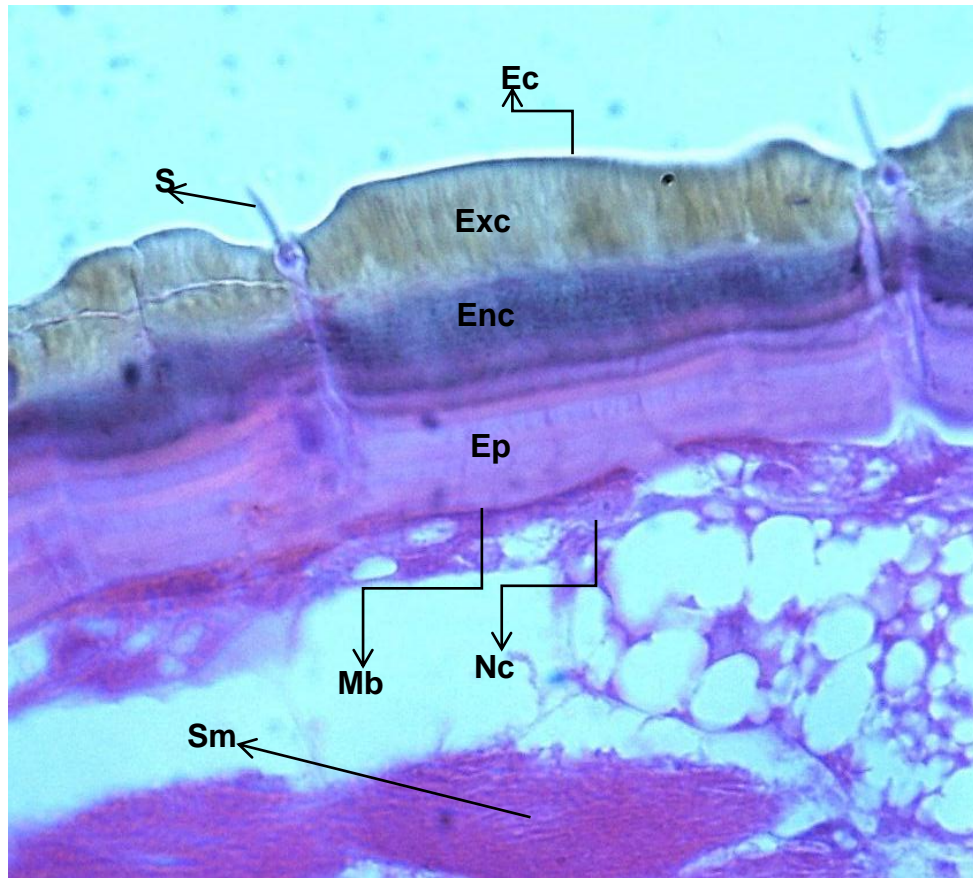


Figura 4. Tegumento en corte de cabeza. Se evidencia epicutícula (Ec), exocutícula (Exc), endocutícula (Enc), membrana basal (Mb), célula nerviosa (Nc) Semejante al músculo estriado (Sm), seta (S), epidermis (Ep). Técnica Hematoxilina - Eosina, dieta TPS **100x**. Fuente propia.

Los tenebrios empleados en etapa adulta miden aproximadamente 6 mm de largo y 3 mm de ancho (Rodríguez Palma, Pérez Torres, Aragón García, Cuate Mozo, & Patrón Ibarra, José Cinco Dionicio Juárez, 2014) (Fig. 1), su cuerpo se divide en tres partes principales: Cabeza, tórax, abdomen (Fig. 5); posee tres pares de patas distribuidos entre la zona torácica y abdominal (Fig.6), sobre su dorso tiene un par de élitros que cubren otro par de alas membranosas (Fig. 7). La parte inicial del tracto digestivo está equipado con un aparato bucal de tipo masticador que posee palpos labiales y maxilares, estructuras con los que inicia el proceso de adquisición alimenticia (Fig. 8) (Brusca & Brusca, 2005; Chapman, 1998).

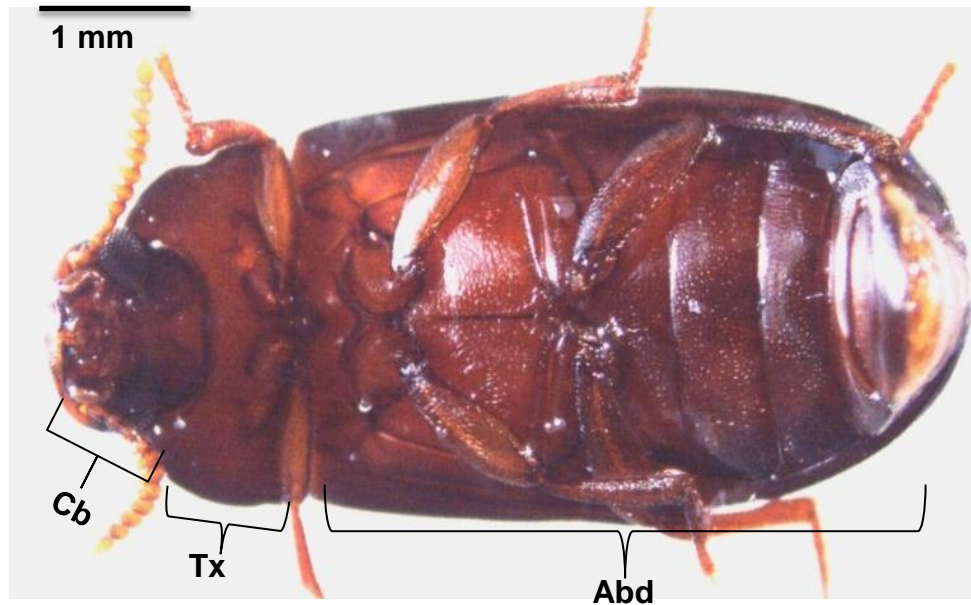


Figura 5. Vista ventral coleóptero Tenebrionidae. Se evidencia cabeza (Cb), tórax (Tx), abdomen (Abd). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

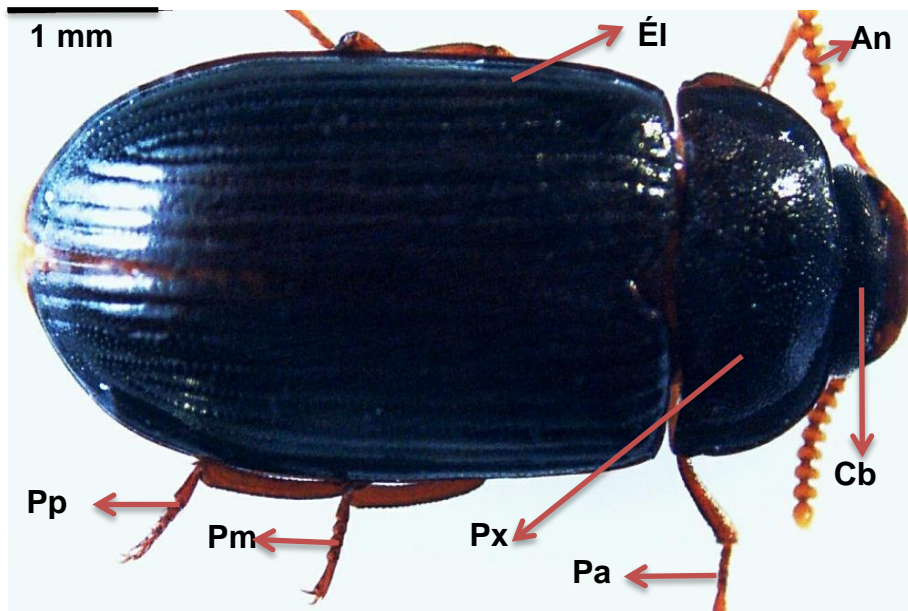


Figura 6. Parte dorsal coleóptero Tenebrionidae. Se evidencia élitros (Él), protórax (Px), cabeza (Cb), antena (An), patas anteriores (Pa), patas medias (Pm), patas posteriores (Pp). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

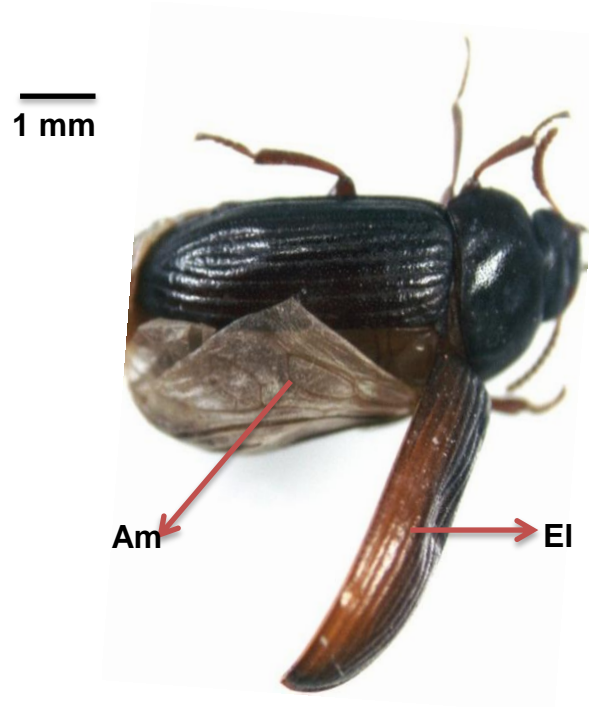


Figura 7. Parte dorsal del coleóptero Tenebrionidae. Se evidencia detalle de alas membranosas y élitros. Élitros (EI), alas membranosas (Am). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

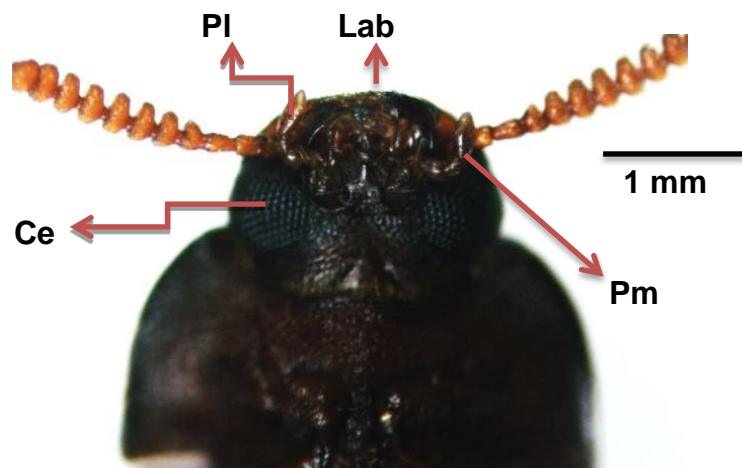


Figura 8. Aparato masticador del coleóptero Tenebrionidae. Ojo compuesto (Ce), labium (Lab), palpo maxilar (Pm), palpo labial (Pl). Fotografía tomada de estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

5.1 Descripción morfológica vías digestivas de un coleóptero de la familia Tenebrionidae (Análisis macroscópico)

El sistema digestivo se encarga de funciones tan importantes como la captura, digestión, absorción y expulsión de los desechos obtenidos a partir del alimento ingerido por el animal (Snodgrass, 1935). Las vías digestivas presentan forma tubular simple, visualizándose cambios notorios de tamaño y enroscamientos en la parte media; un patrón algo similar a la morfología presentada en *Alphitobius diaperinus* (Crippen & Esquivel, 2012). La coloración es blanquecina en casi toda su extensión a excepción de la zona posterior donde se puede observar la acumulación de heces con coloración café, además se finaliza con una estructura quitinosa color ámbar de la cual se adosan los órganos reproductores también (Chacón Cerdas, Villalba Velásquez, & Moreira González, 2009; Tschinkel & Doyen, 1980) (Fig. 9).

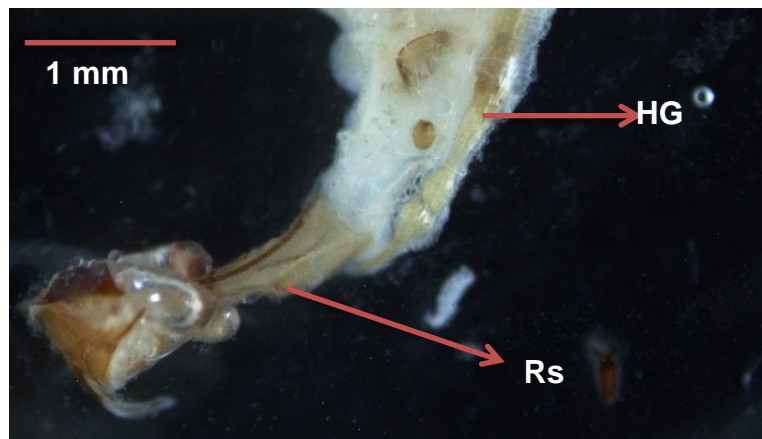


Figura 9. Disección del coleóptero Tenebrionidae. Se evidencia proctodeo (HG), estructuras del sistema reproductor (Rs). Fotografía tomada con estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

Este sistema digestivo se encuentra dividido en tres partes principales: Estomodeo, mesenterón y proctodeo; lo cual es un patrón que se repite en otros insectos como *Hypothenemus hampei*, *Bradinopyga geminata*, *Aedes Aegypti* y

Anticarsia gemmatilis (Arruda & Cavasin Oliveira , Maria Gláucia Garcia da Silva, 2003; Chaudhari et al., 2018; Fiaza et al., 2018; Rubio Gómez et al., 2007) (Fig. 10). En este estudio, al hacer la disección de los tenebrionidos se observaron numerosas tráqueas delgadas de color blanquecino que se unen a las vías digestivas y tejidos subyacentes; de acuerdo a la literatura se encontró que su función es favorecer el intercambio gaseoso en insectos (Brusca & Brusca, 2005), esta característica fue observada con anterioridad en *Cosmopolites sordidus*, *Metamasius hemipterus* y *Metamasius hebetatus*. (Rubio José David, 2006).

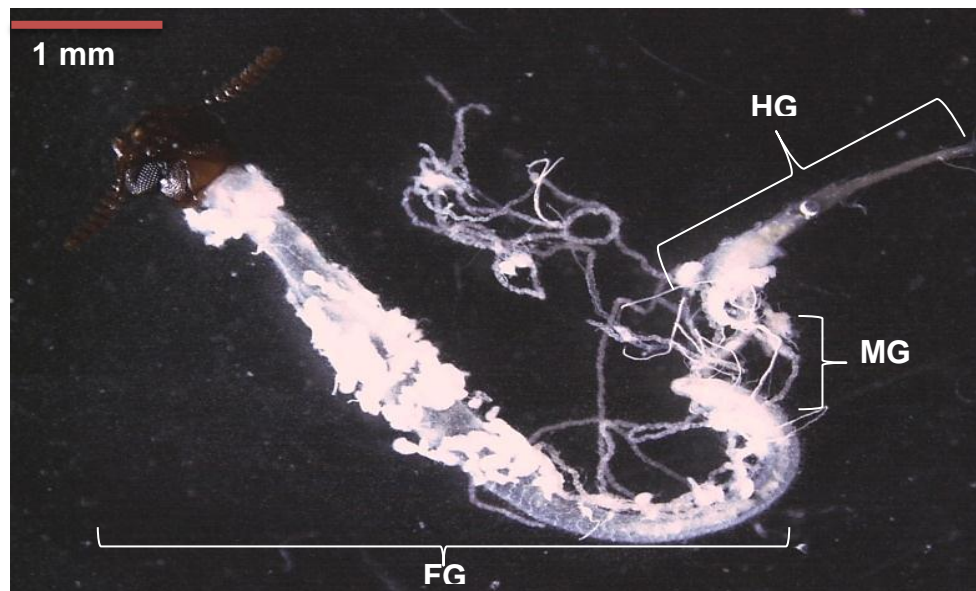


Figura 10. Vías digestivas expuestas. Se visualiza estomodeo (FG), mesenterón (MG) y proctodeo (HG). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

El estomodeo corresponde a la parte anterior del sistema digestivo e inicia con el aparato masticador del coleóptero, seguido de este se encuentra la faringe, y cercana a ella es común encontrar glándulas salivales; no obstante es importante recalcar que estas no están presentes en los coleópteros (Tait Caleffe, Rodrigues de Oliveira, Sinópolis Aparecida, Ruvolo-Takasusuki, & Conte, 2018). Con respecto a la faringe se encontró un aspecto similar al estudio realizado con otros coleópteros de la familia Curculionidae donde se determinó que este órgano se

extiende desde la cavidad oral hasta el final del área cefálica, justamente localizado hacia el centro de la misma (Fig.16) (Rubio José David, 2006) evidenciando un aspecto común con los especímenes usados para este trabajo.

Posteriormente es posible encontrar el esófago y túbulos de Malpighi donde se llevan a cabo los procesos de excreción (Meyran, 1982) (Fig. 11). En otros insectos como *Laetillia coccidiura* se evidencia la proyección de los túbulos de Malpighi desde la zona posterior (Torres, 2005). No obstante en este caso en particular se denota que los túbulos se conectan desde la zona anterior hacia la última porción digestiva, lo cual genera una conexión de la que se podría deducir una alta actividad excretora debido a que están involucrados en el transporte de solutos y agua entre la hemolinfa y el tracto digestivo (Brusca & Brusca, 2005).

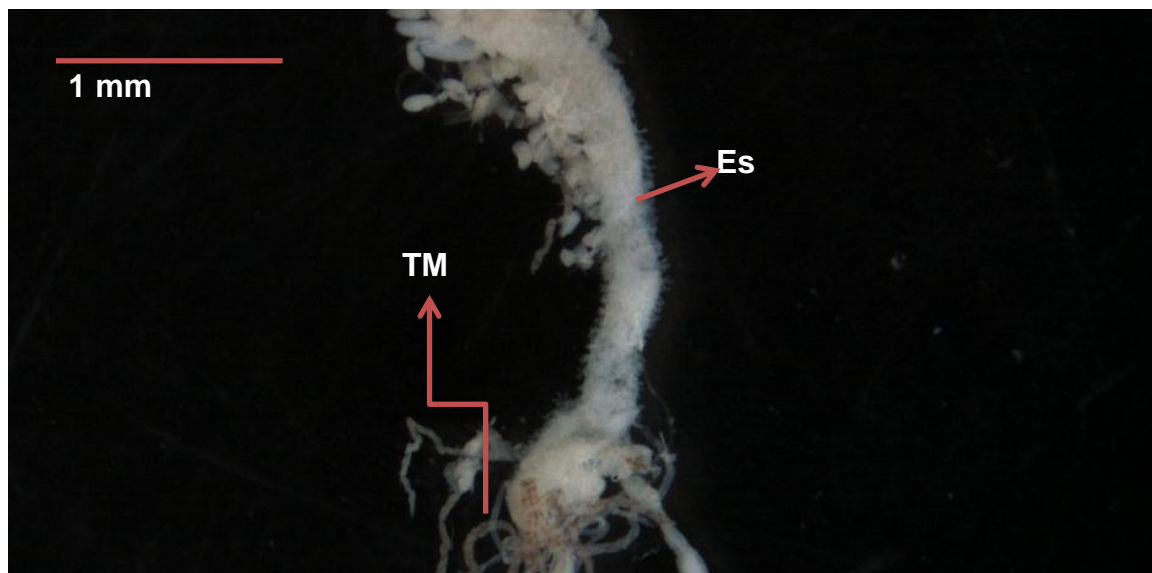


Figura 11. Estomodeo. Se evidencia esófago (Es), túbulos de Malpighi (TM). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

El estomodeo se visualiza como una porción tubular de tono claro que está involucrada en el primer proceso digestivo; en este caso particular el Tenebrionido empleado tiene predilección por dietas secas, donde predomina el consumo de

granos como el maíz, maní o avena (Garcés Molina et al., 2009; Morillo Garcia et al., 2016). A modo groso se pudo evidenciar inicialmente estructuras como la faringe, seguidamente el esófago en el cual se evidencian numerosas vellosidades externas (Fig. 12, 18), finalmente está el proventrículo con el cual se culmina la porción anterior; esta última estructura desemboca en el inicio del mesenterón (Fig. 17, Fig. 21) (Medel et al., 2013).

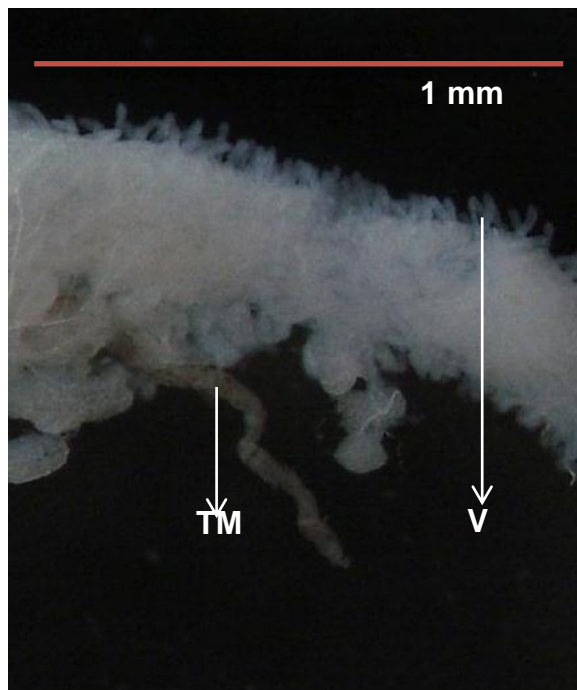


Figura 12. Estomodeo. Se evidencia vellosidades (V), túbulos de Malpighi (TM), tráqueas (T). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

A continuación la parte intermedia de las vías digestivas se compone por dos partes principales: Ventrículo anterior y posterior (Fig. 13). Al igual que estudios realizados en otros coleópteros de la familia curculionidae, esta sección inicia con una forma bulbosa y se va constituyendo en una morfología tubular conforme se llega a su parte posterior, adosado a esta estructura se pueden evidenciar tráqueas (Rubio José David, 2006).

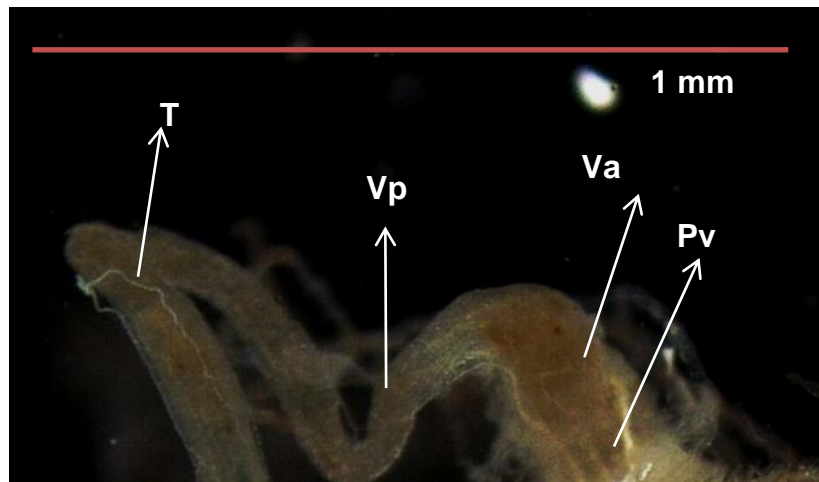


Figura 13. Proventriculo (Pv), ventrículo anterior (Va), ventrículo posterior (Vp) y tráqueas (T). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

El intestino medio presenta una disminución marcada en el diámetro intestinal, acompañado de enroscamiento y aglomeración de vías digestivas, por lo cual es un área frágil en cuanto al manejo en la disección; esta conformación es un patrón variable en hexápodos según la literatura (Figura 14) (Villeda Callejas et al., 2008).

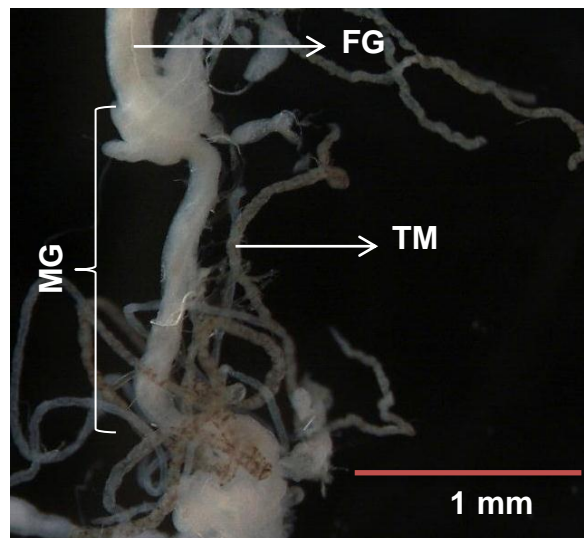


Figura 14. Mesenterón (MG). Túbulo de Malpighi (TM), mesenterón (MG), estomodeo (FG). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

Finalmente, está la zona posterior en la cual encontramos lo que es el píloro de donde se adosan los túbulos de Malpighi; seguido de esta estructura se halla el íleon, colon, recto (Snodgrass, 1935) y ano hacia donde se reduce considerablemente el diámetro intestinal. Sobre la longitud de los intestinos se ha descubierto que insectos con predilección a alimentos líquidos presentan mayor longitud en estas estructuras, mientras que los que se inclinan por dietas sólidas evidencian medidas más cortas para este parámetro (Sarwade & Bhawane, 2013; Torres, 2005) (Figura 15).

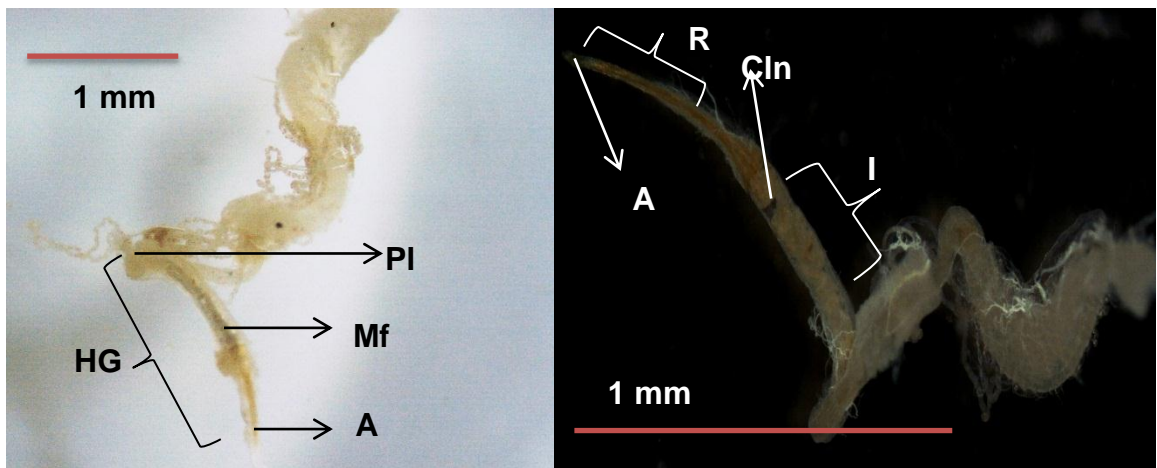


Figura 15. Proctodeo (HG). Se evidencia: Materia fecal (Mf), píloro (PI), íleon (I), colon (Cln), recto (R), ano (A). Fotografía tomada en estereoscopio Nikon SMZ 800. Fuente propia.

5.2 Descripción histológica vías digestivas de un coleóptero de la familia Tenebrionidae.

A continuación se describen los hallazgos observados con los cortes histológicos longitudinales y transversales, además de describir los posibles efectos causados por las dietas suministradas en este estudio:

5.2.1 Estomodeo

Este conducto inicial se encarga de la captura y trituración del alimento, es evidenciable tanto la musculatura circular como longitudinal que Snodgrass menciona para la conformación digestiva en insectos (Fig. 20) (Snodgrass, 1935), acompañado de un epitelio estratificado que se va engrosando a medida que se acerca hacia la zona posterior de este primer tramo digestivo; un patrón similar a lo observado en insectos como *Dythemis velox* (Villeda Callejas et al., 2008). Según Ekis et al. (1971) el estomodeo se compone de 5 capas dispuestas desde la parte interna hacia la externa: íntima, capa epitelial, capa de músculo longitudinal, músculo circular y una capa de tejido conectivo (Ekis & Gupta, 1971), la presencia de pliegues se atribuye a que en esta primer región digestiva se almacenan alimentos de manera temporal por lo cual esto facilita la ampliación del tracto (Snodgrass, 1935) (Fig. 16, Fig. 17).

Se atribuye que en insectos que consumen dietas con alimentos duros o ásperos suelen reunir las condiciones para desarrollar membrana peritrófica desde esta zona (Richards & Richards, 1977); en la especie empleada para este trabajo se logró visualizar elementos quitinosos en el área de la faringe (Fig. 17); además de ello también se evidenció íntima cuticular en la zona del esófago, acompañado de membrana peritrófica (Fig. 19), esta última se define como una capa compuesta por dos elementos principales: quitina y peritrófina que mediante su segregación logra envolver el alimento consumido por el insecto y desprenderse evitando tanto la abrasión ejercida por el bolo alimenticio como el contacto del mismo con el epitelio digestivo (Bolognesi, 2005).

Desde la zona del esófago es visible la aparición de células glandulares unicelulares, semejante a las células caliciformes; estas se hallan incluidas en el epitelio digestivo sin tincionar por la técnica de Hematoxilina- Eosina posiblemente por su contenido de mucus (Fig. 19); con ello se infiere que este epitelio comienza a tener desde esta área una dinámica de tipo glandular, además se evidencia que

la cantidad de membrana peritrófica producida se incrementa con relación al avance de los cortes histológicos hacia la zona distal del estomodeo; está se puede hallar en la parte baja del epitelio donde es teñida finamente de color morado oscuro debido a su naturaleza acidófila, condiciones similares han sido abordadas con anterioridad en *Aedes aegypti* un díptero que también produce esta membrana en el lumen de sus vías digestivas (Arruda & Cavasin Oliveira , Maria Gláucia Garcia da Silva, 2003). Por otra parte túbulos de Malpighi se adosan desde esta parte del intestino el proctodeo haciendo circunvoluciones finas entre las dos zonas (Fig. 19, Fig. 22), según lo observado se tiene un aproximado de 8 túbulos emergiendo de las vías digestivas, y concuerda con lo expresado por Snodgrass (1935) para insectos holometábolos (Snodgrass, 1935).

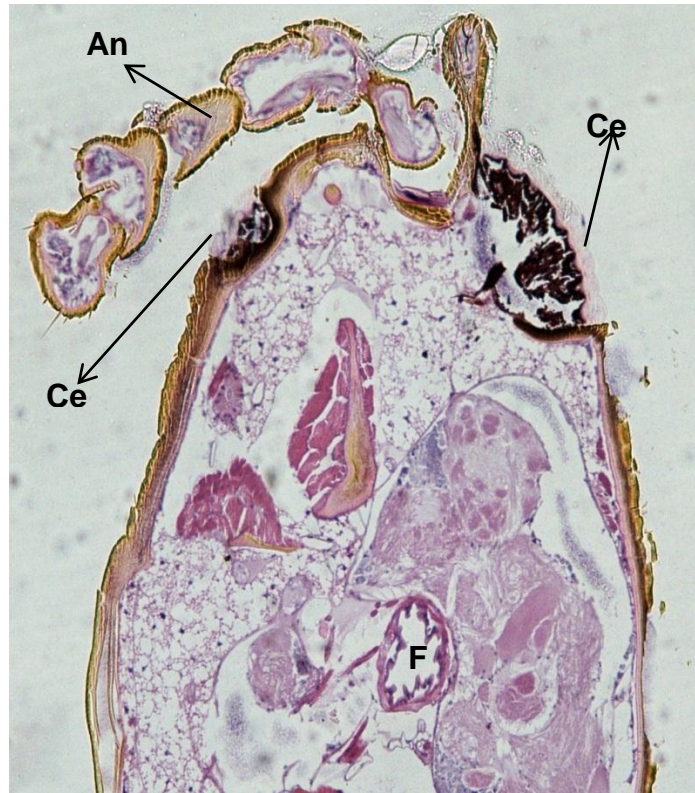


Figura 16. Corte trasversal de cabeza. Se visualiza faringe (F), ojo compuesto (Ce), antena (An). Técnica de Hematoxilina y Eosina, dieta Película 10x. Fuente propia.



Figura 17. Faringe. Se visualiza: Quitina (Q), epitelio (E), faringe (F). Técnica Hematoxilina - Eosina, dieta Película **40x**. Fuente propia.

En este punto se suman dos condiciones en funcionamiento para proteger el tracto digestivo: Poseer íntima cuticular y membrana peritrófica, de acuerdo a ello se puede inferir que los organismos de esta familia podrían adaptarse a nuevos ambientes o dietas diferentes debido a su dieta omnívora; además de ello el poseer vellosidades externas denota un posible desarrollo en cuanto a la capacidad de absorción de nutrientes; en estudios anteriores ejemplares de esta familia han sido estudiados para encontrar similitudes en el tracto digestivo entre especies diferentes y para ello también han sido empleadas dietas con harina o hojuelas de avena como fuente alimenticia (Sinha, 1958), al igual que lo aplicado en este estudio donde se empleó la avena como blanco de comparación con la dieta de TPS y película.

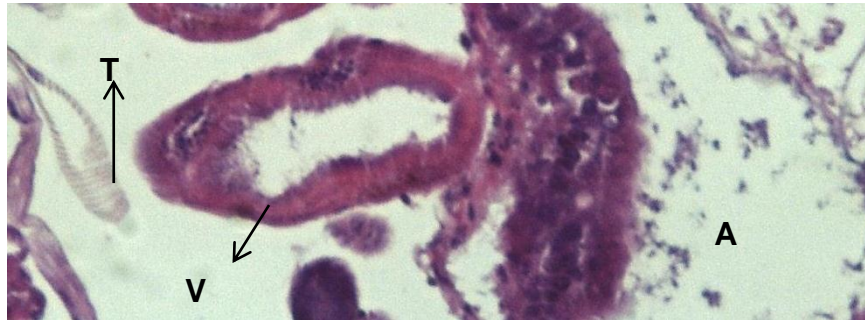


Figura 18. Estomodeo. Se visualiza vellosidades externas (V), tráquea (T), alimento (A). Técnica de Hematoxilina y Eosina, dieta Avena **40x**. Fuente propia.

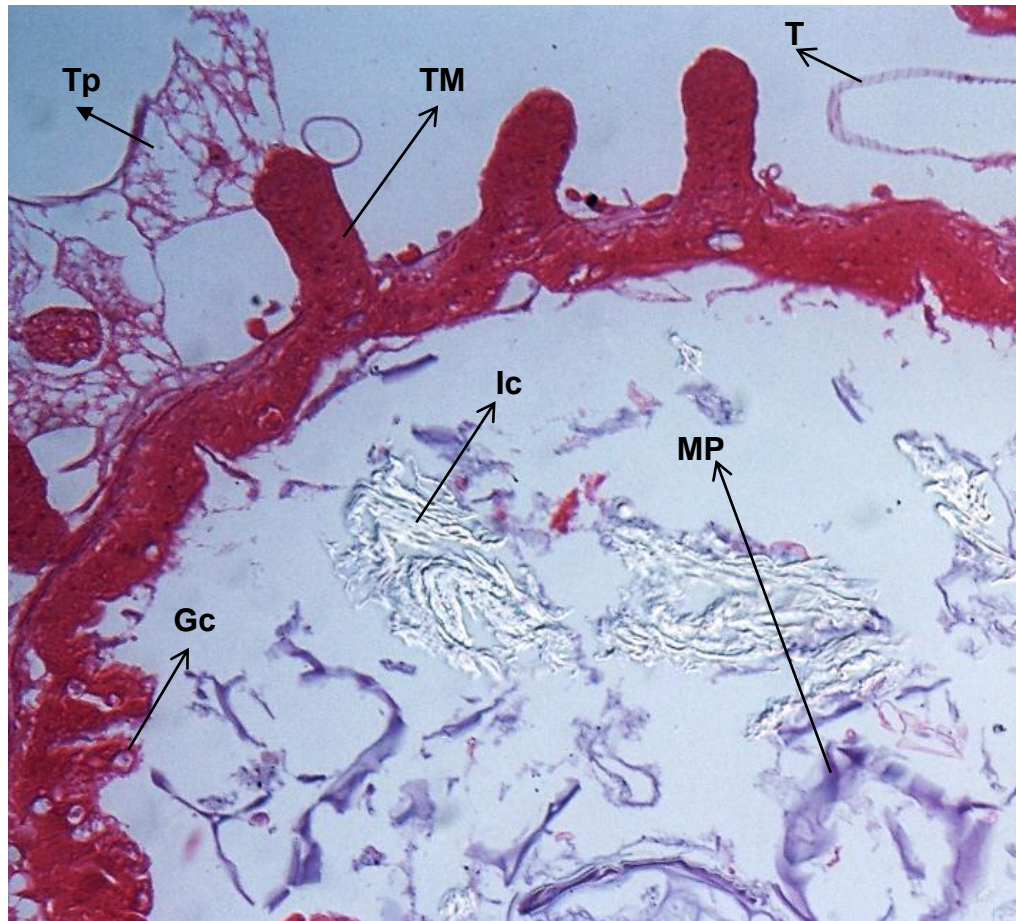


Figura 19. Esófago. Se evidencia Intima cuticular (Ic), células glandulares unicelulares (Gc), membrana peritrófica (MP), tráquea (T), semejante al tejido adiposo multilocular (Tp), túbulos de Malpighi (TM), pliegues (P). Técnica Hematoxilina - Eosina, dieta TPS **40x**. Fuente propia.

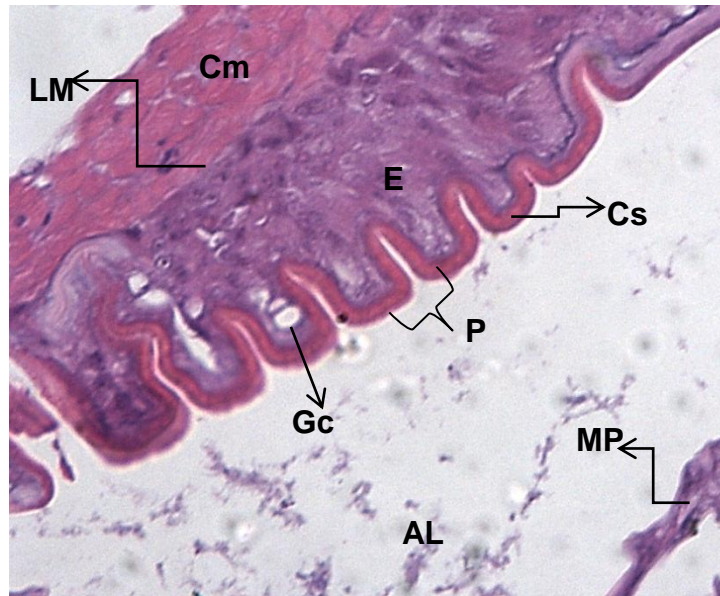


Figura 20. Proventrículo, corte transversal. Se visualiza células glandulares unicelulares (Gc), pliegues (P), alimento (AL), membrana peritrófica (MP), secreción citoplasmática (Cs), epitelio (E), músculo circular (Cm), músculo longitudinal (LM). Técnica de Hematoxilina y Eosina, dieta TPS **40x**. Fuente propia.

Después de evaluar los cortes histológicos en esta zona digestiva, se encontró para este estudio la producción continua de membrana peritrófica; de acuerdo a ello se deduce que este organismo la produce de manera progresiva y no en secuencia como algunos autores lo atribuyen para algunos casos del orden díptera (Richards & Richards, 1977), además de ello la secreción citoplasmática demuestra una alta actividad secretora para la dieta de TPS (Fig. 20).

5.2.2 Mesenterón

La zona media de las vías digestivas recibe el nombre de mesenterón, su origen embrionario es endodérmico, diferenciándose por este factor del estomodeo y proctodeo (Fiaza et al., 2018; Snodgrass, 1935). Según la literatura esta área posee un epitelio laminar o columnar muy bien desarrollado, que se dispone en

diferentes tamaños alrededor del lumen. En otros insectos como *Aedes aegypti* y *Anticarsia gemmatalis* se ha identificado la disposición de células glandulares revistiendo la zona media de las vías digestivas (Arruda & Cavasin Oliveira, Maria Gláucia Garcia da Silva, 2003; Fiaza et al., 2018); para este estudio se evidenciaron unas conformaciones similares a las células caliciformes desde la zona del estomodeo como se nombró anteriormente (Fig. 21), además es notable como la secreción de la membrana peritrófica se adhiere al bolo alimenticio para la dieta de avena contribuyendo a la disminución de la abrasión digestiva.

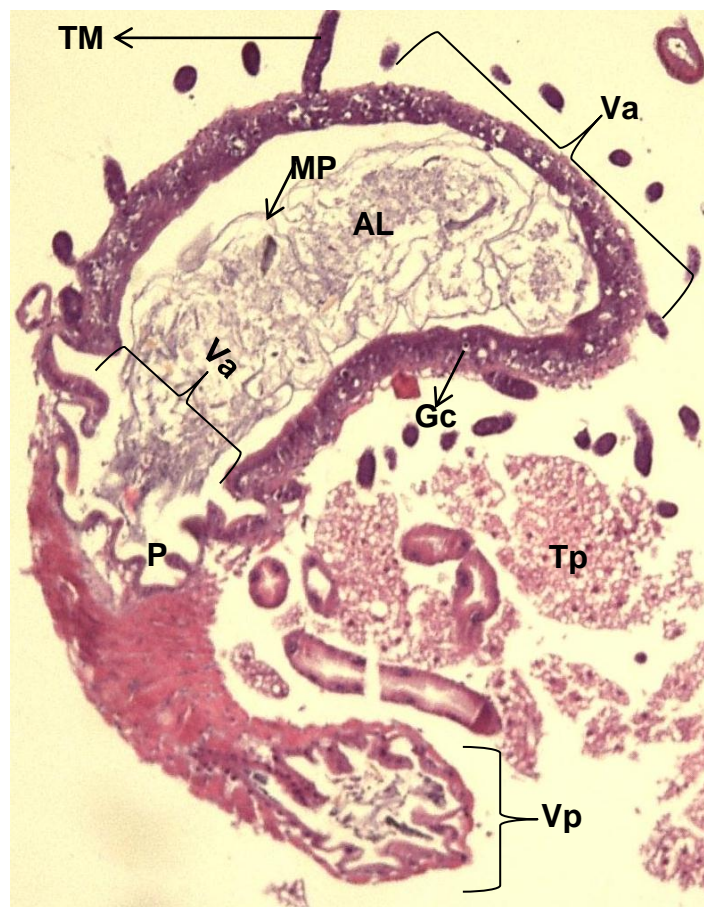


Figura 21. Mesenteron. Se evidencia porción del ventrículo anterior (Va), porción ventrículo posterior (Vp), túbulos de Malpighi (TM), semejante al tejido adiposo multilocular (Tp) membrana peritrófica (MP), semejante a las células caliciformes (Gc), pliegues (P), alimento (AL). Técnica de Hematoxilina y Eosina, dieta Avena **10x**. Fuente propia.

De acuerdo a la figura anterior, las criptas formadas en el ventrículo anterior, pueden indicar que en esta área hay un aumento considerable de la capacidad de absorción y limitación de paso del bolo alimenticio hacia la segunda porción intestinal, esto coincidiría con lo citado por Nava Gervasio et al. (2007) con respecto a que esta zona intermedia está capacitada para la absorción de agua, minerales, la secreción de enzimas y la digestión del alimento que el organismo consume (Nava Gervasio et al., 2007; Snodgrass, 1935). Hacia la zona del ventrículo posterior se visualiza un epitelio irregular con prolongaciones hacia el lumen, en el cual se evidencia rastros de membrana peritrófica, en menor proporción debido a la disminución del diámetro intestinal.

5.2.3 Proctodeo

Esta estructura digestiva se destaca por tener un epitelio plano simple, acompañado de musculatura estriada circundante (Fig. 23); en esta zona es posible la presencia o ausencia de membrana peritrófica, se afirma que está se encuentra ausente en artrópodos con dietas líquidas como los hemipteros (Nava Gervasio et al., 2007; Richards & Richards, 1977), sin embargo en insectos hematófagos como *Aedes aegypti* ha sido evidenciada con anterioridad en el mesenteron (Arruda & Cavasin Oliveira, Maria Gláucia Garcia da Silva, 2003); para este estudio se visualizó la presencia de esta capa en menor proporción para esta zona terminal del tracto digestivo, en cuanto a ello se destaca que la mayor producción de este elemento se lleva a cabo en la porción anterior e intermedia del intestino (Fig. 23). También fue posible visualizar la presencia de almohadillas alrededor de la porción posterior del proctodeo, muy similares a las halladas en el coleoptero *Dendroctonus adjunctus* (Snodgrass, 1935; Tschinkel & Doyen, 1980; Zúñiga Bermúdez et al., 1994) (Fig. 22).

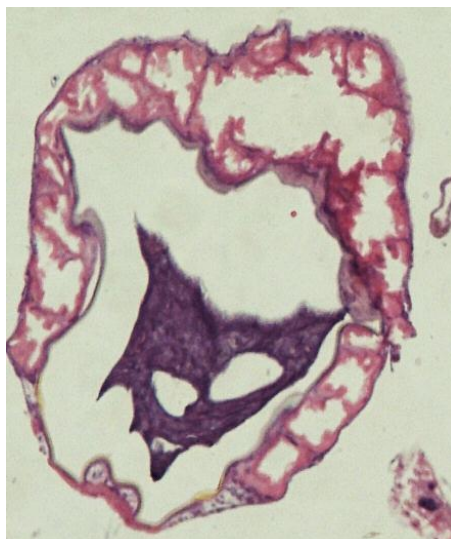


Figura 22. Compartimientos zona posterior del proctodeo. Dieta TPS 10X
Fuente propia.

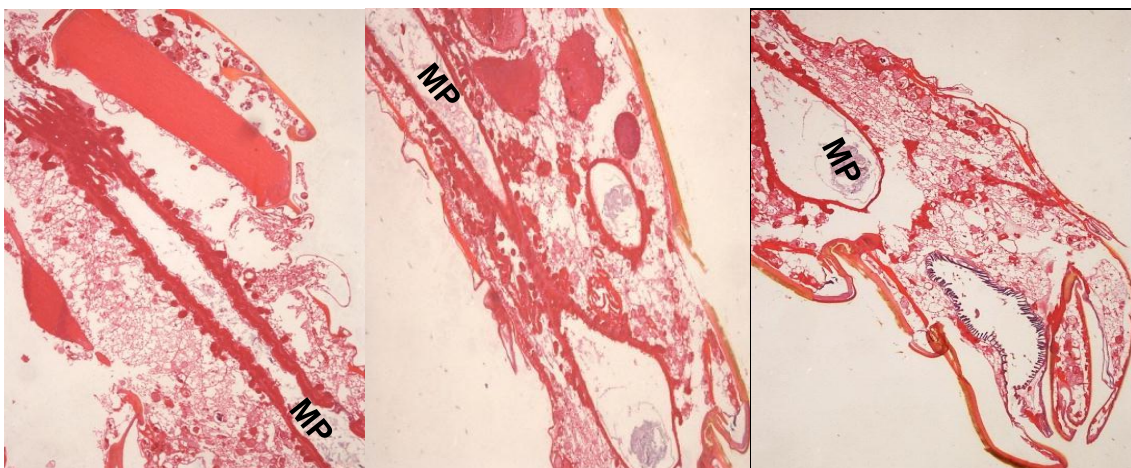


Figura 23. Corte longitudinal vías digestivas. Se evidencia membrana peritrófica (MP). Dieta TPS 10X. Fuente propia.

Toro, et al. (2003) afirma que la quitina se engrosa donde se presenta aumento en la cantidad de músculo; de acuerdo a ello en cuanto más cercanía al ano, se aumenta la presencia de músculo con características de tipo estriado y también el engrosamiento del tegumento en la parte ventral del insecto (Fig. 24) (G. H. Toro, Chiappa, & Tobar M, 2003); los mejores cortes se obtuvieron de manera

longitudinal hacia el área posterior de la zona abdominal y de manera transversal en el área torácica y cefálica.

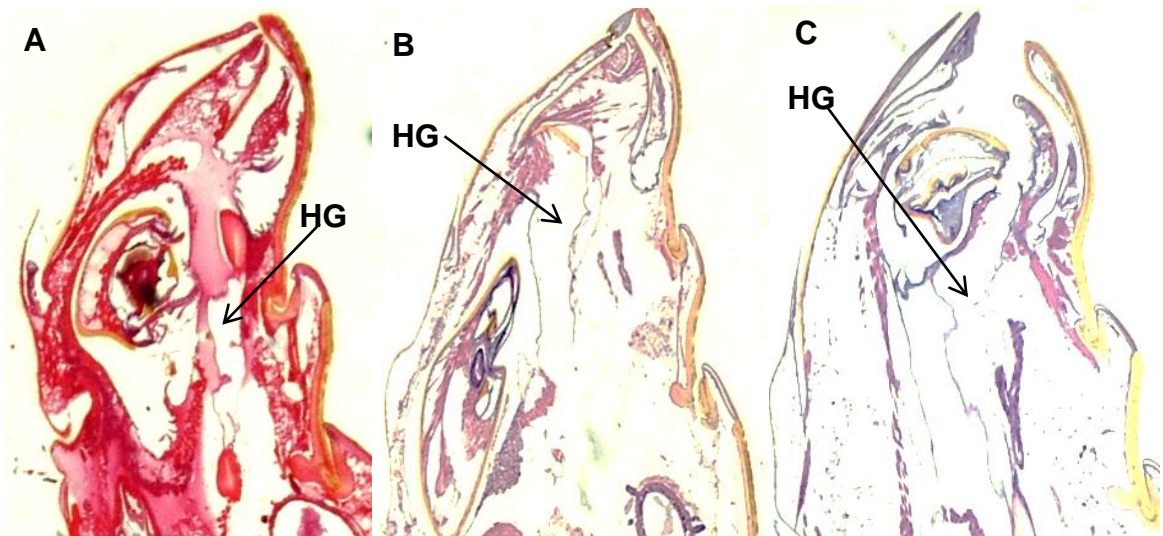


Figura 24. Corte longitudinal parte posterior del abdomen A) Dieta avena B) Dieta TPS C) Dieta película. Técnica Hematoxilina - Eosina **4X**. Fuente propia.

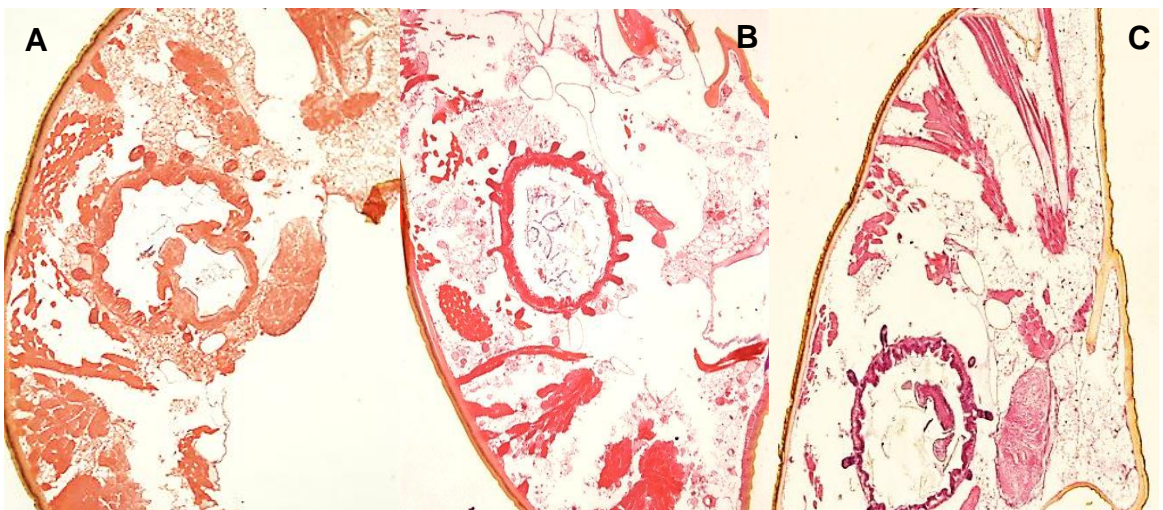


Figura 25. Corte trasversal tórax. A) Dieta avena B) Dieta TPS C) Dieta película. Técnica Hematoxilina - Eosina **10X**. Fuente propia.

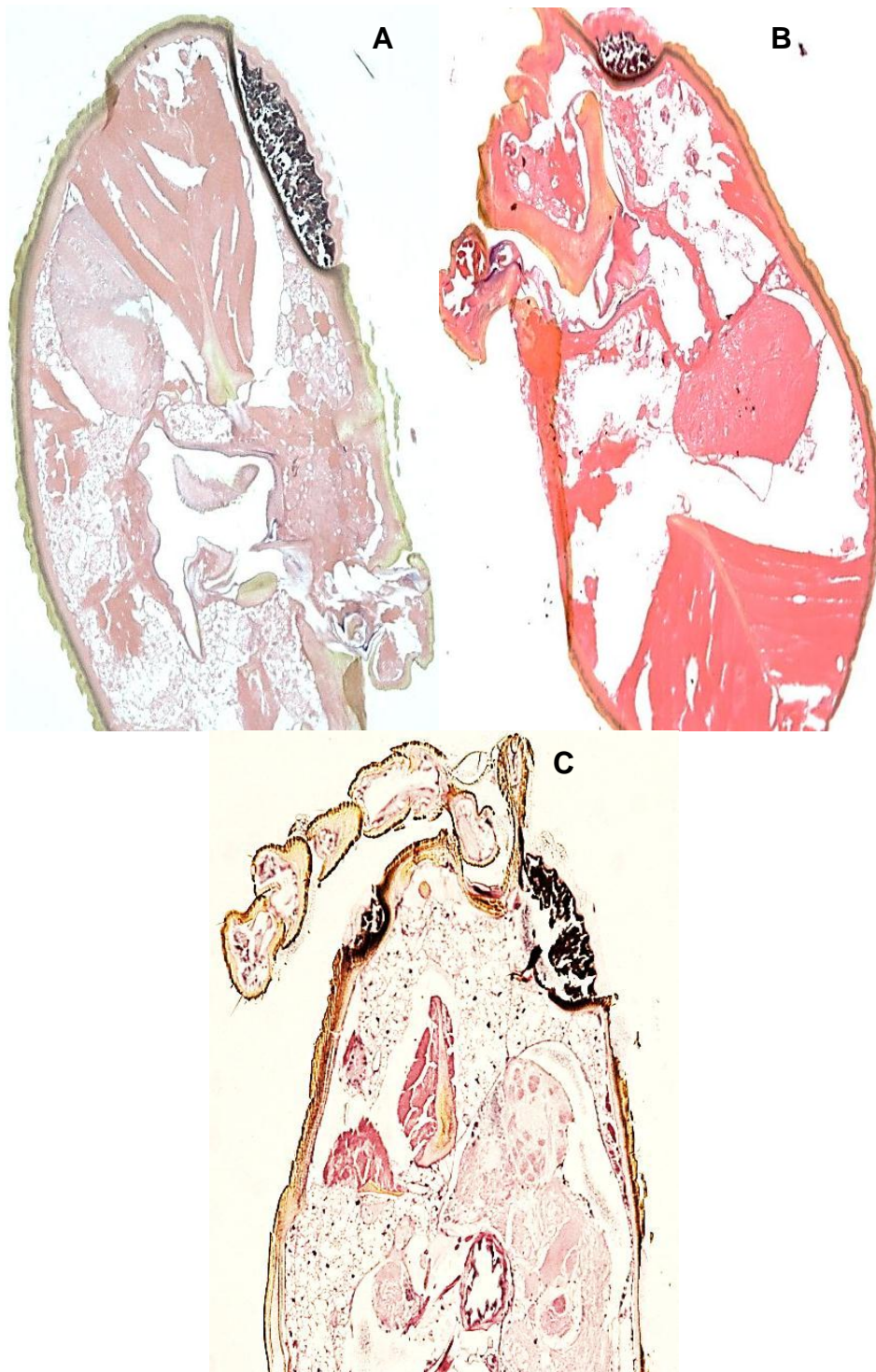


Figura 26. Corte trasversal cabeza A) Dieta avena B) Dieta TPS C) Dieta película. Técnica Hematoxilina - Eosina 10X. Fuente propia.

Se halla en (Fig. 24, 25 y 26) que son insectos con tejido semejante al muscular estriado y poseen tegumento sin índices aparentes de rotura, además la cantidad de tejido conjuntivo semejante al adiposo multilocular se distribuyó de manera diferente en las tres dietas suministradas para este estudio, siendo más disperso para la dieta de película.

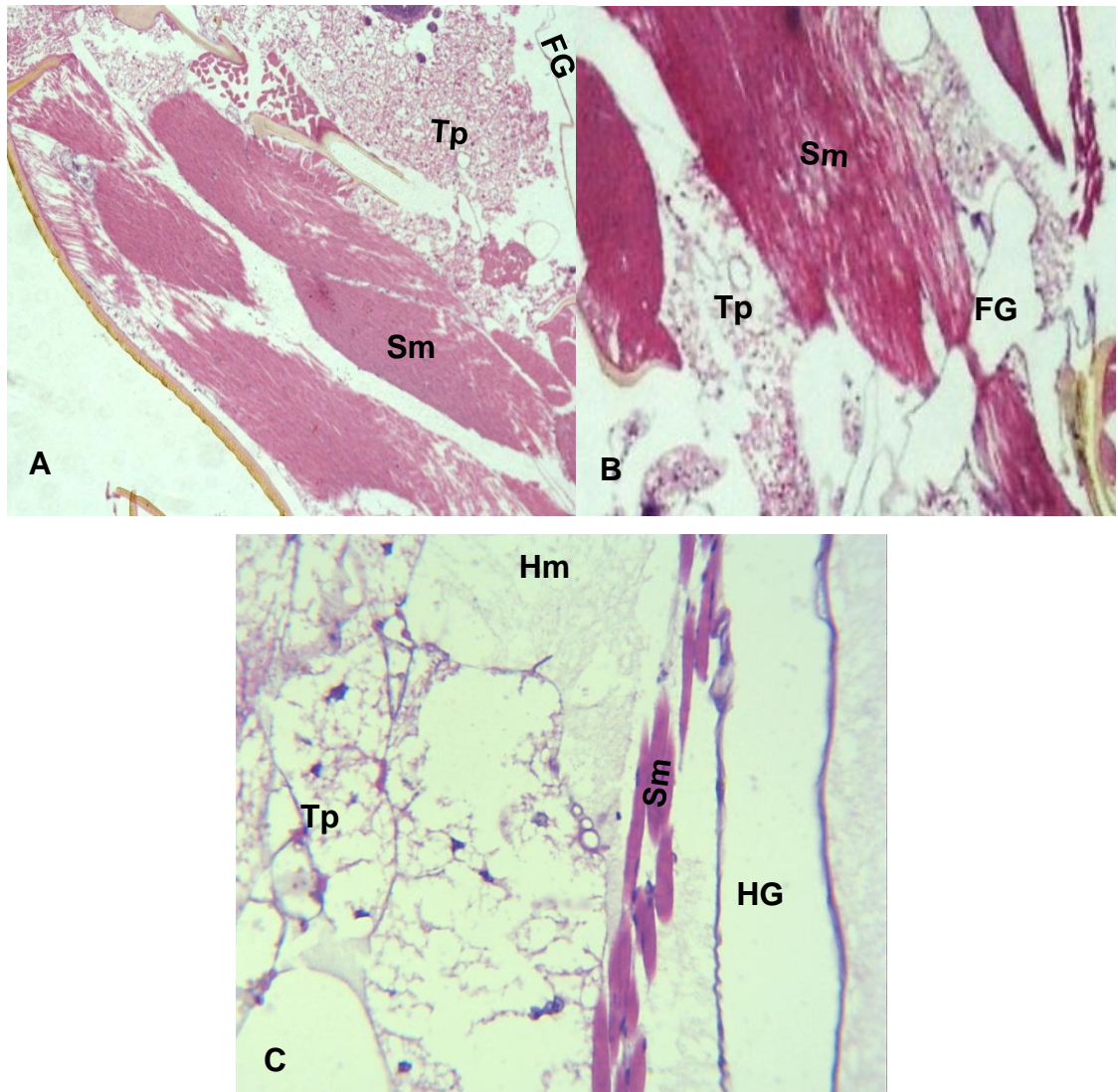


Figura 27. Tejido muscular, adiposo y tegumento. A) Dieta avena, músculo alar **10X** B) Dieta TPS **4X**, músculo alar **4X** C) Dieta película, músculo abdominal posterior **40X**. Se evidencia tejido adiposo semejante al multilocular (Tp), Semejante al músculo estriado (Sm), hemolinfa (Hm), estomodeo (FG), proctodeo (HG). Técnica Hematoxilina - Eosina. Fuente propia.

La cantidad de tejido adiposo semejante al multilocular se identificó formando agrupaciones densas en la dieta de avena y de manera decreciente en TPS y película; con respecto a esta última se puede decir que aunque la condición grasa fue en menor proporción y de manera más dispersa, se evidencio una buena condición en el músculo semejante al tipo estriado, sin condiciones de necrosis (Agudelo & López, 2010), ni signos de hipoxia resultantes de una mala nutrición celular (G. De Toro, 2006).

El consumo de la película y del TPS administrado en este estudio tiene un punto en común, el cual es su materia base de elaboración, para los dos casos se utiliza biomasa rica en carbohidratos (Weng et al., 2013); a grandes rasgos se puede describir que el almidón de Yuca posee un 24% de amilosa y un 76% de amilopectina, además de ello su pH es ligeramente ácido ubicado entre un 4.5 – 5.5 y contiene una humedad del 10% al 13% (Chero Angeles, 2015), esto es importante teniendo en cuenta que a las dietas suministradas no se les adiciono agua; según Salazar (2019) la película de TPS tiene un pH aproximado 6.8, por lo cual las dietas se les puede asignar como ligeramente ácidas.

Con relación al PLA las mezclas poliméricas pueden proveer una mejoría con relación a las propiedades de biodegradación final de la película; debido a que es posible que esta confiera características más atenuadas en cuanto a su higroscopicidad, mientras que lograría mejorar la condición mecánica del TPS (Tokiwa et al., 2009; H. S. Villada et al., 2008; Yu, Dean, & Li, 2006); al hacer un análisis de las condiciones evaluadas por todo el tracto digestivo, se infiere que existen mecanismos de protección del epitelio digestivo en los ejemplares empleados para este estudio, teniendo presente la secreción continua de membrana peritrófica en sectores de las vías digestivas. Con este trabajo se podría apoyar la idea de que estos tenebrionidos tienen capacidad para adaptarse a dietas diferentes como las evaluadas en este estudio TPS y película, a pesar de que esta última tiene una menor proporción de humedad.

6. CONCLUSIONES

Los polímeros biodegradables (TPS y película) fueron consumidos y degradados por los especímenes empleados en el estudio, evidenciando un consumo más abundante de TPS por los tenebrionidos que consumieron esta dieta; se podría inferir que las diferencias del porcentaje de agua en los materiales influyo de cierta manera en esta elección, teniendo en cuenta que la película contiene un 28% de PLA un material de tipo higroscópico con muy baja proporción de humedad.

Se deduce con los resultados obtenidos en este estudio que morfológicamente e histológicamente existe una mayor cantidad de grasa corporal en los tenebrionidos tratados con la dieta de avena, seguidamente de TPS y por último en los que consumieron película (PLA Y TPS); en cuanto a ello se ha encontrado la capacidad que tiene la amilosa para formar complejos con los ácidos grasos (Glenn, Orts, Wood, Imam, & Chiou, 2014) razón que pudo influir en este aspecto por la composición química de los almidones.

Por otra parte aunque el PLA es conocido porque en su etapa de biodegradación puede causar cambios de pH e inducir a reacciones inflamatorias (Gorrasi & Pantani, 2013), se podría decir que no hubo reacciones destacables a nivel morfológico e histológico, a restar del empleo de los mecanismos de protección digestiva anteriormente mencionados como la producción de membrana peritrófica, presencia de una íntima cuticular y estructuras de tipo quitinoso al interior de las vías digestivas.

Al igual que otros insectos las vías digestivas de este coleóptero se dividieron en tres partes principales estomodeo, mesenterón y proctodeo (Snodgrass, 1935; Villeda Callejas et al., 2008); no obstante se visualizan características distintivas en cuanto a la disposición de los túbulos de Malpighi, puesto que estos se ven adosados desde la parte posterior del estomodeo hasta la porción principal del

proctodeo, con ello se infiere una capacidad destacada para elaborar funciones excretoras puesto que este contribuye a el transporte de iones, y agua entre la hemolinfa y el tracto digestivo; estas condiciones pueden ser las que ocasionan que los tenebrios logren adaptarse a dietas con bajo índice de humedad (*xerofíticas*) como es el caso de este estudio en particular.

Al igual que Snodgrass (1935) deducimos para este estudio que la presencia de una íntima cuticular gruesa en el esófago denota una absorción selectiva para el alimento consumido por el insecto (Snodgrass, 1935); además de que la continua producción de membrana peritrófica sugiere una adaptación que este tipo de organismos pueden haber desarrollado para el consumo de alimentos rugosos y secos con el fin de evitar el daño o abrasión en el interior del tracto digestivo; esto podría dar cuenta de la producción constante de esta secreción en los tenebrios evaluados por este estudio con relación a las dietas de avena, película y TPS.

Este trabajo apoya la idea propuesta por Lörcks en el año 1998 donde afirmaba que la invención de estos polímeros tendría como beneficio la capacidad de tener una completa degradación biológica (Lörcks, 1998) donde primero los insectos fragmentan y disminuyen el peso molecular de los polímeros para su posterior mineralización por microorganismos al ser excretados. De tal forma es posible decir que para los ejemplares estudiados en esta investigación fue posible la alimentación con dietas no convencionales como los biopolímeros de TPS y película, sin presentar cambios morfológicos relevantes

7. RECOMENDACIONES

Si bien este trabajo logró deducir que la integridad digestiva de los tenebrionidos evaluados no se vio alterada notablemente a nivel morfológico e histológico y que además se evidencio el consumo de la dieta de película y su biodegradación a pesar de que esta poseía un porcentaje del 28% de PLA (material higroscópico); se recomienda tener en cuenta que el manejo de estos materiales biodegradables a gran escala exige apoyo en ámbitos políticos y económicos, debido a que entre mayor sea el peso molecular de estos polímeros tienden a tener una tasa de biodegradación más lenta, por consiguiente pueden generar problemáticas de acumulación si no son debidamente tratadas .

También se sugiere realizar estudios relacionados con el consumo de estos materiales y evaluar sus posibles efectos en otros organismos vivos, debido a que este tipo de investigaciones son un aliciente para validar alternativas poliméricas nuevas con menor tasa de degradación, con respecto a los plásticos convencionales derivados del petróleo.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aboelkheir, M. G., Visconte, L. Y., Oliveira, G. E., Romildo, T., & Souza, F. (2019). The biodegradative effect of *Tenebrio molitor* Linnaeus larvae on vulcanized SBR and tire crumb. *Science of the Total Environment*, 649, 1075–1082. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.228>
- Agudelo, M. E. R., & López, M. R. (2010). La necrosis, un mecanismo regulado de muerte celular. *Iatreia*, 23(2), 166–177.
- Angulo Rodriguez, A., Galindo Uriarte, A., Avendaño Palazuelos, R., & Perez Angulo, C. (2012). *Biología celular* (Primera ed). Sinaloa Mexico.
- Aronoff, M., & Fudeman, K. (2001). What is Morphology? *Morphology and Morphological Analysis*, 34(201), 31. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(88\)90021-9](https://doi.org/10.1016/0020-7322(88)90021-9)
- Arruda, W., & Cavasin Oliveira, Maria Gláucia Garcia da Silva, I. (2003). Toxicidade do extrato etanólico de *Magonia pubescens* sobre larvas de *Aedes aegypti* Toxicity of the ethanol extract of *Magonia pubescens* on larvae *Aedes aegypti*. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(1), 17–25. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822003000100004>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos. Química de los alimentos*.
- Bar, E. M. (2011). Definición de los Artrópodos. Retrieved from [http://exa.unne.edu.ar/biologia/artropodos/Definicion de Artropodos.pdf](http://exa.unne.edu.ar/biologia/artropodos/Definicion%20de%20Artropodos.pdf)
- Barbosa, P., Berry, D., & Kary, C. (2015). *Insect histology practical laboratory techniques*. (G. Road, Ed.) (primer edi). Reino Unido.
- Bolognesi, R. (2005). *Síntese, degradação e funções da membrana peritrófica dos insetos*. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, São Paulo. <https://doi.org/10.11606/T.46.2005.tde-23072007-111911>
- Bombelli, P., Howe, C., & Bertocchini, F. (2017). Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Current Biology*, 27(8), 292–293. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.060>
- Bouchard, P., Bousquet, Y., Davies, A., Alonso Zarazaga, M., Lawrence, J., Lyal,

- C. H. C., ... Smith, A. (2018). *Family-group names in Coleoptera (Insecta)*. *ZooKeys*. Pensoft Publishers. <https://doi.org/10.3897/zookeys.88.807>
- Bouchard, P., Lawrence, J., Davies, A., & Newton, A. F. (2005). Synoptic classification of the world Tenebrionidae (Insecta: Coleoptera) with a review of family group names. *Annales Zoologici*, 55(4), 499–530. <https://doi.org/10.1002/anie.201007098>
- Božek, M., Hanus Lorenz, B., & Rybak, J. (2017). The studies on waste biodegradation by *Tenebrio molitor*. *E3S Web of Conferences*, 17, 7. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20171700011>
- Brendell, M. J. D. (1975). Handbooks for the identification fo british insects Coleoptera Tenebrionidae. *Royal Entomological Society of London*, 5. <https://doi.org/10.1002/pros.20049>
- Brusca, R., & Brusca, G. (2005). *Invertebrados*. McGraw-Hill, Interamericana de España.
- Brusca, R., & Brusca, G. (2015). *Invertebrados*. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.12.005>
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23(2), 85–112. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00040-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00040-3)
- Cabrera, N., Lázaro, H., & Nasca, A. (2000). Caracterización morfológica y presencia de *Maecolaspis monrosi* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae: Eumolpinae) en el cultivo de soja en Tucumán. *Anais Da Sociedade Entomológica Do Brasil*, 29(2), 277–284. <https://doi.org/10.1590/S0301-80592000000200009>
- Caetanoa, K. dos S., Almeida Lopesa, N., Haas Costab, T. M., Brandellia, A., Rodriguesa, E., Hickmann Flôresa, S., & Cladera Oliveraa, F. (2018). Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. *Food Packaging and Shelf Life*, 138–147.
- Chacón Cerdas, R., Villalba Velásquez, V., & Moreira González, I. (2009). Descripción anatómica de los órganos genitales y glándulas secretoras

- abdominales del escarabajo Ulomoides dermestoides (Fairmare 1893) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Tecnología En Marcha*, 22(4), 45–65.
- Chapman, R. F. (1998). *The Insects structure and function* (4ta Edicio). New York: Cambridge university Press.
- Chaudhari, S., Bakare, S., & Dhamani, A. (2018). Histomorphology of the larval hindgut of the Dragonfly *Bradinopyga geminata* (Rambur) (Odonata: Libellulidae). *International Journal of Life Sciences*, 240–246. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-20198-1>
- Chero Angeles, P. P. (2015). *Diseño de un proceso industrial para obtener plastico biodegradable a partir de almidon de yuca Manihot sculenta* . Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Cifuentes Ruiz, P., & Zaragoza Caballero, S. (2014). Biodiversidad de Tenebrionidae (Insecta: Coleoptera) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 325–331. <https://doi.org/10.7550/rmb.31690>
- Crippen, T., & Esquivel, J. (2012). Improved visualization of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)-Part II: Alimentary canal components and measurements. *Psyche*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/607609>
- Crownson, R. A. (1981). The Biology of the Coleoptera. *The Biology of the Coleoptera*, 619–657. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-196050-6.50024-5>
- Damborsky, M., Sandrigo Ybran, T., Oscherov, E., & Bar, M. E. (2000). Ciclo de Vida de *Tenebrio molitor* (Coleoptera , Tenebrionidae) en Condiciones Experimentales. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. UNNE 6*, (UNNE 6), 35–38.
- De la Cruz Lozano, J. (2005). ENTOMOLOGÍA MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LOS INSECTOS. *UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA SEDE PALMIRA*.
- De Toro, G. (2006). MUERTE CELULAR PROGRAMADA. Revisión apoptosis y formas alternativas de muerte celular. *Actas Hispanoamericanas de Patología*, (3), 1–13.
- Diaz Grisales, V., Caicedo Vallejo, A. M., & Carabalí Muñoz, A. (2017). Ciclo De

- Vida Y Descripción Morfológica De Heilipus Lauri Boheman (Coleoptera : Curculionidae) En Colombia Life Cycle and Morphological De. *Acta Zoológica Mexicana*, 33(2), 231–242. <https://doi.org/10.21829/azm.2017.3321063>
- Ekis, G., & Gupta, A. P. (1971). Digestive system of Cleridae (Coleoptera). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 1(1), 51–86. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(71\)90008-0](https://doi.org/10.1016/0020-7322(71)90008-0)
- Erwin, T. L. (1982). Tropical Forests: Their Richness in Coleoptera and Other Arthropod Species. *The Coleopterist Bulletin*, 36(1), 74–75. <https://doi.org/10.2307/4007977>
- Esterhammer, A. (2002). *Romantic poetry*. John. Benjamins Pub. Co.
- Ewelina Basiak, Andrzej Lenart, F. D. (2017). Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 348–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.122>
- Fiaza, M., Martíneza, L. C., Da Silva Costa, M., Silva Cossolin, J. F., Plata-Rueda, A., Gonzaga Gonçalves, W., ... Serrão, J. E. (2018). Squamocin induce histological and ultrastructural changes in the midgut cells of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 1–8.
- Galiano, F., Briceño, K., Marino, T., Molino, A., Christensen, K. V., & Figoli, A. (2018). Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications. *Journal of Membrane Science*, 564(July), 562–586. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2018.07.059>
- Garcés Molina, A. M., Arango Gutiérrez, G. P., & Gómez Fernández, T. (2009). Cría de ulomoides dermestoides, coleoptera: tenebrionidae, en tres tipos de sustrato*. *Revista Lasallista de Investigación*, 6(2), 64–68.
- Glenn, G. M., Orts, W., Wood, D. F., Imam, S., & Chiou, B. (2014). Starch Plastic Packaging and Agriculture Applications. *USDA-ARS/UNL*, 33.
- Gorrasi, G., & Pantani, R. (2013). Effect of PLA grades and morphologies on hydrolytic degradation at composting temperature: Assessment of structural modification and kinetic parameters. *Polymer Degradation and Stability*, 98(5),

- 1006–1014. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2013.02.005>
- Granados, C., Guzman, L. E., Acevedo, D., Diaz, M., & Herrera, A. (2014). Propiedades funcionales del almidon de sagu (*Maranta arundinacea*). *Bioteconología En El Sector Agropecuario y Agroindustria*, 12(2), 90–96.
- Greenpeace. (2016). Plásticos en los océanos Datos, comparativas e impactos. *Dossier de Prensa*, 13.
- Greenpeace. (2018). *Un millon de acciones contra el plastico*. Greenpeace. [https://doi.org/10.1016/0921-5107\(92\)90006-U](https://doi.org/10.1016/0921-5107(92)90006-U)
- Hartman, T. P. V. (2019). Fluid preservation of zoological specimens. *Methods in Molecular Biology*, 1897, 135–148. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_14
- Hernández Medina, M., Torruco, J. G., Guerrero, L., & Betancur Ancona, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán , México. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 2008(002894), 718–726.
- Hoang Phuong Nguyen Vu, N. L. (2016). Starch behaviors and mechanical properties of starch blend films with different plasticizers. *Carbohydrate Polymers*, 112–120.
- Iglesias Ramírez, B., & Rodriguez Obaya, T. (2015). Métodos De Estudio En Histologia. *Sld.Cu*, 1–13.
- Jambeck, J., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T., Perryman, M., Andrady, A., ... Lavender Law, K. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Marine Polution*, 268–770. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
- Lagar, A., & Fresneda, J. (2014). STENOHELOPS BARCINENSIS SP. N. DE BARCELONA (ESPAÑA) (COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE, HELOPINI). *Boletin de La Sociedad Entomologica Aragonesa.*, 93–99.
- Langer, R., Basu, A., & Domb, A. J. (2016). Special issue: Polylactide (PLA) Based Biopolymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.11.002>
- Lenoir, T. (1984). The eternal laws of form: Morphotypes and the conditions of

- existence in Goethe's biological thought. *Journal of Social and Biological Systems*, 7(4), 317–324. [https://doi.org/10.1016/0140-1750\(84\)90005-8](https://doi.org/10.1016/0140-1750(84)90005-8)
- Li, F. J., Tan, L. C., Zhang, S. D., & Zhu, B. (2016). Compatibility, steady and dynamic rheological behaviors of polylactide/poly(ethylene glycol) blends. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(4), 1–10. <https://doi.org/10.1002/app.42919>
- López Vásquez, J. A. (2007). Pautas Básicas Para El Manejo De Animales De Experimentación En Investigación Biomédica. *Revista de La Facultad de Ciencias de La Salud*, (May), 1–8.
- Lörcks, J. (1998). Properties and applications of compostable starch-based plastic material. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 245–249.
- Luna, G., Villada, H., & Velasco, R. (2009). Fique's fiber reinforced thermoplastic starch of cassava: Preliminary. *DYNA (Colombia)*, 76(159), 145–151.
- Malagon Aldana, L. A. (2016). *Morfología, anatomía externa, y taxonomía de himenópteros basales (Hymenoptera:Symphyta) de Colombia*. Universidad Nacional de Colombia.
- Medel, V., Molina, B., Seguel, J., Rebolledo, R., & Quiroz, A. (2013). Morfología e histología del sistema digestivo del burrito del frambueso *Aegorhinus superciliosus* (Coleoptera: Curculionidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 39(2), 260–266.
- Mejía Verdial, D., Paredes Moreno, F., Licona Rivera, T., & Salinas Gómez, L. (2016). Histology: from its origin to actuality HISTOLOGÍA: DESDE SU ORIGEN HASTA LA ACTUALIDAD. *Revista Científica Escuela Universitaria de Las Ciencias de La Salud*, 3, 47–57.
- Meyran, J. C. (1982). Comparative study of the segmental specializations in the malpighian tubules of *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae) and *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 11(2), 79–98. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(82\)90027-7](https://doi.org/10.1016/0020-7322(82)90027-7)
- Montalvo Arenas, C. E. (2010). *TÉCNICA HISTOLÓGICA*.

- Morillo Garcia, Y., Olivero Verbel, J., & Caballero Gallardo, K. (2016). Life cycle of *Ulomoides dermestoides* (Fairmaire, 1893) (Coleoptera: Tenebrionidae) under laboratory conditions. *Journal of Stored Products Research*, 69, 272–275. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2016.09.007>
- Muller, R. (2005). Regulations and Methods for Testing. In *Biodegradability of Polymers* (pp. 365–374). <https://doi.org/10.1002/3527600035.bpola012>
- Nava Gervasio, S. M., Ortíz Ordoñez, E., & Uría Galicia, E. A. (2007). Estudio Anatómico-Histológico Del Sistema Digestivo De *Stenomacra Marginella* (Herrich-Schaeffer, 1850) (Hemiptera: Heteroptera: Largidae). *Acta Zoológica Mexicana*, 23(3), 49–57. <https://doi.org/https://doi.org/10.21829/azm.2007.233585>
- Nava, M. (2018). *Lucha contra la contaminación de los océanos por plásticos*.
- Niaounakis, M. (2019). Recycling of biopolymers – the patent perspective. *European Polymer Journal*, (February), 1–26. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.02.027>
- Özyurt, Koçakoğlu, N., Candan, S., & Suludere, Z. (2019). Notes on the morphology and histology of the ovarioles of *Gerris lacustris* (L.) (water strider) (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Gerridae). *Zoologischer Anzeiger*, 278, 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2018.12.001>
- Pizarro Araya, J., & Cepeda Pizarro, J. (2013). Taxonomic composition and abundance of epigeal tenebrionids (Coleóptera: Tenebrionidae) in the Chilean Coastal Matorral. *Idesia (Arica)*, 31(4), 111–118. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292013000400015>
- Pranamuda, H., Tokiwa, Y., & Tanaka, H. (1997). Polylactide degradation by an *Amycolatopsis* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(4), 1637–1640.
- Puchi, N. D. (2005). Caracterización morfológica de los Sesiidae (Insecta: Lepidoptera) perforadores del fruto del cacao (*Theobroma cacao* L.), presentes en la región costera del estado Aragua, Venezuela. *Entomotropica*, 20(August), 97–111.

- Qi, X., Ren, Y., & Wang, X. (2017). New advances in the biodegradation of Poly(lactic) acid. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 117, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.01.010>
- Ramos Elorduy, J., González, E. A., Hernández, A. R., & Pino, J. M. (2002). Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to Recycle Organic Wastes and as Feed for Broiler Chickens. *Journal of Economic Entomology*, 95(1), 214–220. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-95.1.214>
- Ren, J. (2010). Modification of PLA. In *Biodegradable poly (lactic acid): synthesis, modification, processing and applications* (pp. 38–141). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-17596-1>
- Richards, A. G., & Richards, P. a. (1977). The Peritrophic Membranes of Insects. *Annual Review of Entomology*, 22(1), 219–240. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.22.010177.001251>
- Rieppel, O. (2011). Wilhelm troll (1897 - 1978): Idealistic morphology, physics, and phylogenetics. *History and Philosophy of the Life Sciences*, 33(3), 321–342.
- Rodríguez Palma, E., Pérez Torres, B., Aragón García, A., Cuate Mozo, V. A., & Patrón Ibarra, José Cinco Dionicio Juárez, R. (2014). Ciclo de vida del *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae) en condiciones controladas de temperaturay humedad. *Entomologia Mexicana*.
- Roncarati, A., Gasco, L., Parisi, G., & Terova, G. (2015). Growth performance of common catfish (*Ameiurus melas* Raf.) fingerlings fed mealworm (*Tenebrio molitor*) diet. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(3), 233–240. <https://doi.org/10.3920/JIFF2014.0006>
- Rosell Puig, W., Paneque Ramos, E. R., & Gómez Martínez, M. (2005). *Evolución histórica de la Morfología*. *Educación Médica Superior* (Vol. 19). Centro Nacional de Informacion de Ciencias Medicas.
- Ross, M., & Wojciech, P. (1966). *histologia texto y atlas color con biologia celular y molecular*. *The British Journal of Psychiatry* (Vol. 112). <https://doi.org/10.1192/bjp.112.483.211-a>
- Rubio Gómez, J., Bustillo Pardey, Á., Vallejo Espinosa, L., Benavides Machado,

- P., & Acuña Zornosa, J. (2007). MORFOLOGÍA DEL SISTEMA DIGESTIVO DE *Hypothenemus hampei* (Ferrari). *Cenicafé*, 58(1), 66–74.
- Rubio José David, A. J. R. (2006). Anatomía comparada del tracto digestivo en imagos del complejo picudo (Coleoptera: Curculionidae) asociados al cultivo del plátano. *Revista Colombiana de Entomología*, 32, 1-67–72.
- Ruiz, G., Montoya, C., & Paniagua, M. (2009). Degradabilidad de un polímero de almidón de yuca. *Revista Escuela de Ingeniería de Antioquia*, 12, 67–78.
- Ruiz Montiel, C., Illescas Riquelme, C. P., Hernández, U. A., & Wallace, R. (2015). Nuevos Registros de Picudos (Coleoptera: Curculionidae) Afectando Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum* L.) en Veracruz, México. *Southwestern Entomologist*, 40(2), 427–432. <https://doi.org/10.3958/059.040.0216>
- Salazar Sánchez, M. del R., Campo Erazo, S. D., Villada Castillo, H. S., & Solanilla Duque, J. F. (2019). Structural changes of cassava starch and polylactic acid films submitted to biodegradation process. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 442–447. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.01.187>
- Sánchez, P., Sánchez, F., Caetano, F., & Jaffé, K. (2000). El tubo digestivo en adultos de *Rhynchophorus palmarum*. (Coleoptera:Curculionidae) Morfología y ultraestructura. *Boletín de Entomología Venezolana*, 15(2), 195–216.
- Sandoval, D., Tellez, J., Rivera, G., Moreno, S., & Moreno, F. (2017). Técnica de diafanización para describir el desarrollo embrionario del sistema óseo. Revisión de la literatura. *Universitas Médica*, 57(4), 488–501. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed57-4.tddd>
- Sanz, B., Wartenberg, L., Acosta, O. L., Araújo, F. H., Corredor, C., Wilches, G., ... Bernal, A. T. (2016). *Objetivos de desarrollo sostenible Colombia. Herramientas y una aproximacion al contexto local*. <https://doi.org/84-8476-266-1>
- Sarwade, A. ., & Bhawane, G. . (2013). Anatomical and Histological Structure of Digestive Tract of Adult *Platynotus belli* . F (Coleoptera : Tenebrionidae). *Biological Forum- An International Journal*, 5(2), 47–55.

- Sinha, R. N. (1958). Similarities in the Histology of the Gut of Some Species of *Tribolium* Macleay (Coleoptera, Tenebrionidae) and *Oryzaephilus* Ganglbauer (Col., Cucujidae). *The Canadian Entomologist*, *XC*(3), 17.
- Snodgrass, R. E. (1935). *Insect morphology*. McGRA W-HILL BOOK COMPANY (First edit). NEW YORK AND LONDON. <https://doi.org/0801428831>
- Tait Caleffe, R. R., Rodrigues de Oliveira, S., Sinópolis Aparecida, A., Ruvolo-Takasusuki, M. C., & Conte, H. (2018). Bioprospection of immature salivary glands of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae). *Micron*, *112*, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2018.06.007>
- Tokiwa, Y., Calabia, B., Ugwu, C., & Aiba, S. (2009). Biodegradability of plastics. *International Journal of Molecular Sciences*, *10*(9), 3722–3742. <https://doi.org/10.3390/ijms10093722>
- Toro, G. H., Chiappa, T. E., & Tobar M, C. (2003). *Biología de insectos*. Retrieved from http://redbio.una.edu.ni/sistema/redbio/ficheros/fichero_1.pdf
- Torres, C. K. (2005). Histología del tubo digestivo de *Laetillia coccidiura* (Lepidoptera : Pyralidae). *Investigacion Universitaria Multidisciplinaria*, 32–40.
- Tschinkel, W. R., & Doyen, J. T. (1980). Comparative anatomy of the defensive glands, ovipositors and female genital tubes of tenebrionid beetles (Coleoptera). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, *9*(5–6), 321–368. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(80\)90009-4](https://doi.org/10.1016/0020-7322(80)90009-4)
- Valero Valdivieso, M. F., Ortegon, Y., & Uscategui, Y. (2013). Biopolímeros: Avances Y Perspectivas. *SciELO Colombia*, 171–180.
- Villada, H., Acosta, H. A., & Velasco, R. J. (2007). Biopolymers naturals used in biodegradable packaging. *Journal of the American Chemical Society*, (4), 5–13. <https://doi.org/10.21897/rta.v12i2.652>
- Villada, H. S., Acosta, H. A., & Velasco, R. J. (2008). Investigación de Almidones Termoplásticos, Precursores de Productos Biodegradables. *Información Tecnológica*, *19*(2), 3–14. Retrieved from www.mater-bi.com],
- Villalobos, A., Agudelo, J. C., & Arrieta, D. M. (2010). Histología de APIS MELLIFERA linnaeus, 1758 (HymenoPtera) como aporte entomológico* Parte

- i: regiones corporales, organización anatómica e integumento. *Boletín Científico Centro de Museos Museo Historia Natural*, 14(2), 201–214. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2018.06.007>.
- Villeda Callejas, M. del P., Barrera Escorcía, H., Lara Vázquez, J. Á., & Ruiz Puga, P. (2008). *Histología del tubo digestivo de Dythemis velox (Libellulidae: Odonata)*. *Rev. Zool* (Vol. 19).
- Watt, J. C. (1974). A revised subfamily classification of tenebrionidae (Coleoptera). *New Zealand Journal of Zoology*, 1(4), 381–452. <https://doi.org/10.1080/03014223.1974.9517846>
- Weng, Y. X., Jin, Y. J., Meng, Q. Y., Wang, L., Zhang, M., & Wang, Y. Z. (2013). Biodegradation behavior of poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), poly(lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions. *Polymer Testing*, 32(5), 918–926. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2013.05.001>
- Yang, S. S., Wu, W. M., Brandon, A. M., Fan, H. Q., Receveur, J., Li, Y., ... Criddle, C. S. (2018). Ubiquity of polystyrene digestion and biodegradation within yellow mealworms, larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). *Chemosphere*, 212, 262–271. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.078>
- Yang, Y., Yang, J., Wu, W. M., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., ... Jiang, L. (2015). Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic eating mealworms: Part 1. chemical and physical characterization and isotopic tests. *Environmental Science and Technology*, 49(20), 12080–12086. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02661>
- Yates, M. R., & Barlow, C. Y. (2013). Life cycle assessments of biodegradable, commercial biopolymers - A critical review. *Resources, Conservation and Recycling*, 78, 54–66. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2013.06.010>
- Yu, L., Dean, K., & Li, L. (2006). Polymer blends and composites from renewable resources. *Progress in Polymer Science (Oxford)*. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.03.002>
- Zapata, D. A., Pujol, R. O., & Coda, F. E. (2012). Polímeros biodegradables: una

alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente. In *Tecnica industrial* (pp. 76–80).

Zúñiga Bermúdez, G., González Herrera, M., Fernández Arias, H., & Barrios, R. C. (1994). Estudio de la anatomía e histología del tubo digestivo de *Dendroctonus adjunctus blanford* (COLEOPTERA: SCOLYTIDAEI). *Acta Zoológica Mexicana*, 35, 23–35.

Zúñiga Reinoso, Á., Pinto, P., & Larrea, S. (2017). Una nueva especie de *Callyntra* (Coleoptera: Tenebrionidae) para la costa de Chile central. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(2), 307–311. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.03.024>