

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологий
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ В.А. Кратасюк
«___» _____ 2021 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Оценка эффективности насекомых в биодegradации лигнифицированной
биомассы и пенополистирола

06.04.01 Биология
06.04.01.03 Биофизика

Научный руководитель _____	с.н.с лаб УБФ ИБФ СО РАН, к.б.н., доцент <u>С.В. Трифонов</u>
подпись, дата	должность, ученая степень инициалы, фамилия
Выпускник _____	<u>Я.В. Колесников</u>
подпись, дата	инициалы, фамилия
Рецензент _____	канд. физ.-мат. наук, доцент <u>М.Ю. Салтыков</u>
подпись, дата	должность, ученая степень инициалы, фамилия

Красноярск 2021

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Оценка эффективности насекомых в биодеградациии лигнифицированной биомассы и пенополистирола» содержит 43 страницы текстового документа, 46 использованных источников, 7 иллюстраций, 10 таблиц.

Объектами исследования являются личинки и имаго тараканов вида *Blattella germanica* и жуков-чернотелок *Zophobas morio*.

Ключевые слова: ТАРАКАНЫ, ЖЕСТКОКРЫЛЫЕ, BLATTELLA GERMANICA, ZOPHOBAS MORIO, ЦЕЛЛЮЛОЗА, ЛИГНИН, ПЕНОПОЛИСТИРОЛ

Цель работы – оценка возможности использования насекомых, в качестве звена утилизации лигнифицированных растительных отходов и пенополистирола.

Задачи:

1. Освоить методики разведения и сформировать колонии испытуемых насекомых;
2. Сформировать кормовые субстраты, согласуя их с данными по отходам Биос-3 и оценить жизнеспособность колоний насекомых на каждом типе субстрата;
3. Оценить изменение содержания элементов кормовых субстратов по основным элементам в процессе формирования сообществ редуцентов на субстратах;
4. Оценить скорость утилизации пенополистирола с помощью насекомых.

В 21 веке активно развивается направление создания замкнутых систем жизнеобеспечения для планетарных баз, в рамках таких систем осваиваются методы культивирования высших растений, которые пригодны для употребления в пищу человеком. Важным звеном ЗСЖО является звено утилизации несъедобной растительной биомассы, остающейся после культивации растений. Эксперименты, проведённые в ходе настоящей работы были проведены в рамках этого звена. Помимо растительной биомассы, существует проблема накопления пластика в ЗСЖО. Данная работа рассматривает один из многих путей решения этой задачи.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
1. ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Особенности замкнутых СЖО	6
1.2 Проблема накопления растительных и синтетических отходов и известные способы их переработки в рамках БТСЖО	7
1.3 Участие насекомых надотряда <i>Dictyoptera</i> в биодegradации лигнина и целлюлозы	9
2. ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	11
2.1 Объекты исследования	11
2.2 Методы исследования	11
2.2.1. Метод биодegradации пенополистирола.....	11
2.2.2. Метод биодegradации пенополистирола.....	13
2.2.3. Метод биодegradации пенополистирола.....	15
2.2.4 Методы культивации насекомых	16
2.2.5 Метод биодegradации растительно-белковых субстратов	18
2.2.6 Метод биодegradации пенополистирола.....	20
3. ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	22
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	37
5. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	38

ВВЕДЕНИЕ

В последние двадцать лет снова набирают популярность исследования, касающиеся замкнутых систем жизнеобеспечения (ЗСЖО или иначе биотехнических систем жизнеобеспечения (БТСЖО), способных к регенерации компонентов среды, необходимых человеку. Такие системы являются важной конструкционной составляющей будущих космических станций и планетарных колоний, где главной задачей ЗСЖО является обеспечение людей восполняемыми жизненно необходимыми ресурсами, такими, как кислород, пища и вода.

БТСЖО многокомпонентна и состоит из ряда функциональных звеньев и одним из важнейших звеньев является звено утилизации несъедобной растительной биомассы, поскольку при выращивании растительных и животных культур неизбежно остаётся большое количество таких составляющих растений и животных, которые человек употребить не способен в связи с особенностями пищеварительной системы нашего вида. Кроме этого, в 21 веке большую популярность получило использование различных типов пластика, ряд изделий из которого используются и в рамках БТСЖО. Многие изделия из пластика подлежат износу, что требует проработки возможности утилизации разных типов пластика, не выходя за рамки системы.

Всего в рамках звена утилизации разработано и освоено два основных способа утилизации отходов: физико-химический, с помощью реактора мокрого сжигания и биологический – с помощью сообществ живых организмов-редуцентов. В настоящей работе были продолжены исследования возможности использования в звене утилизации насекомых *Pycnoscelus nigra*, представителей семейства *Blaberidae* из Вьетнама, в природе обитающих в подстилочном и почвенном слоях, где они играют важную роль в биодеградации сложных органических соединений, таких, как лигнин и целлюлоза. Помимо них для настоящего исследования были отобраны личинки жуков-чернотелок (Семейство *Tenebrionidae*) *Zophobas morio*, во внеучном

наблюдении замеченные за поеданием нескольких типов пластика, а именно: полипропилена, полиэтилентерефталата и пенополистирола. Упомянутые жесткокрылые должны были быть использованы в эксперименте с биодegradацией пластика, однако введение в систему подобного организма поставило задачу освоения известных методик содержания колонии этих насекомых.

Целью данной работы является оценка возможности использования насекомых, в качестве звена утилизации лигнифицированных растительных отходов и пенополистирола.

Задачи исследования:

1. Освоить методики разведения и сформировать колонии испытуемых насекомых;
2. Сформировать кормовые субстраты, согласуя их с данными по отходам Биос-3 и оценить жизнеспособность колоний насекомых на каждом типе субстрата;
3. Оценить изменение содержания элементов кормовых субстратов по основным элементам в процессе формирования сообществ редуцентов на субстратах;
4. Оценить скорость утилизации пенополистирола с помощью насекомых.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Особенности замкнутых СЖО

Каждая замкнутая система жизнеобеспечения является комплексом биологических и технических элементов, которые находятся в постоянном взаимодействии друг с другом с целью обеспечения круговорота твёрдых, жидких и газообразных веществ внутри системы. Необходимость в конструировании и совершенствовании таких систем, а так же их дальнейшее внедрение в конструкции связанные с исследованием космоса и космических объектов напрямую связана с невозможностью обеспечения экипажа достаточным запасом провизии на всё время длительного перелёта, а тем более при колонизации планетарных спутников и самих планет.

Ключевыми особенностями ЗСЖО являются:

- Способность сохранять стационарное состояние, обеспечиваемое герметичностью конструкции и замкнутостью внутреннего массообмена, длительное время (на данный момент рекордом является 180 суток, принадлежит проекту Биос-3);
- Возможность обеспечения условий, необходимых для нормальной жизнедеятельности человека, которые не оказывают негативного влияния на состояние здоровья людей, как на всём протяжении периода проведения экспериментов, так и на протяжении последующей жизни человека;
- Возможность долговременного управления процессами изнутри БТСЖО непосредственно членами экипажа при минимальном вмешательстве снаружи и с требуемым уровнем поддержания герметичности всей системы.

Поскольку практически весь список условий был удовлетворён, из всех на данный момент созданных искусственных биологических систем, наиболее успешным являются проект Биос-3, который позволил экипажу эконавтов из 3 человека прожить 6 месяцев внутри БТСЖО, которая работала в автономном

режиме с замкнутостью цикла по воде и газу почти на 100%, а так же более 50% по пище.

1.2 Проблема накопления растительных и синтетических отходов и известные способы их переработки в рамках БТСЖО

Концепция установки Биос-3 подразумевала получение замкнутой экологической СЖО с полностью автономным управлением и самым длительным экспериментом стал эксперимент, проведённый с 24 декабря 1972 по 22 июня 1973 года (180 суток в целом). Биос-3 дал необходимый опыт для дальнейших разработок замкнутых СЖО и стал надёжной опорой для разработок будущего, однако наиболее острыми и на тот момент нерешёнными проблемами остались: проблема утилизации биомассы растений и возвращения во внутрисистемный массообмен выводимой из организма человека соли. К этим проблемам на текущий момент также добавилась проблема утилизации несъедобных частей карповых рыб, таких, как чешуя, кости, некоторые внутренние органы и плотные ткани. В данный момент, за рамками настоящей работы, активно исследуется возможность включения карповых рыб в качестве основного источника белка для экипажа будущих эконоавтов Биоса и экипажей планетарных станций.

Звено культивации растений в Биос-3 было основано на гидропонном методе выращивания растительных культур на общей посевной площади в 40,8 м². Наиболее высокая доля площадей в рамках эксперимента приходилась на пшеницу, после выращивания которой оставалось достаточно большое количество несъедобной биомассы в виде соломы и половы. Такого рода отходы содержат в своём составе до 32% целлюлозы и до 18% лигнина [3], которые являются достаточно сложными органическими соединениями и могут перерабатываться в течение продолжительного времени, из-за чего скорость в системе возникает угроза превышения скорости накопления биомассы над скоростью её утилизации.

Один из способов повышения замкнутости массообменных процессов был предложен Н.С. Мануковским с соавторами [17]. В основе этого метода лежит использование почвоподобного субстрата (ППС) в качестве корнеобитаемой среды для выращивания растений и одновременно как биореактора для «биологической» минерализации растительных отходов.

Почвоподобный субстрат получают путём биологической переработки несъедобной части растений при помощи красных калифорнийских червей, а также сообществ бактерий и грибов, которые неминуемо самозаселяются на субстраты в нестерильных условиях среды. Приготовление ППС происходит следующим образом: измельчённые до порошкообразного состояния растительные отходы ферментируются в анаэробных условиях при 60 °С в течение 24 ч, а затем, при 45 °С в течение 48 ч, далее полученная масса перерабатывается червями и грибами в течение 3-х месяцев, разложение целлюлозы и лигнина достигает при этом 98,6 и 93,12 % соответственно (Wenting et al., 2009; Manukovsky, 1997). В дальнейшем молотые растительные отходы могут добавляться в уже приготовленный и «биологически активный» ППС без любого рода предварительной подготовки и обработки.

Ключевым недостатком почвоподобного субстрата является то, что он требует постоянной поддержки структуры субстрата, из-за чего возникает необходимость отслеживать его состав, своевременно добавляя несъедобную растительную биомассу. В дополнение к этому, биологическое сообщество такого субстрата конкурирует с человеком за кислород, непрерывно потребляя его из воздуха замкнутой системы жизнеобеспечения.

Другой проблемой при использовании технологии ППС является возможное проявление аллелопатии при включении в субстрат остатков несъедобной растительной биомассы и выращиваемых растений. Так, при выращивании чуфы, салата и редиса на ППС, в который в значимых количествах вносилась несъедобная биомасса из двнных растений, была выявлена следующая

проблема: выделения из несъедобной биомассы чужды негативно влияют на другие виды растений, что, по-видимому, связано с аллелопатией (Tikhomirov et al., 2009). Тем не менее, аллелопатия не является критической проблемой, так как это явление вызывается не всеми культурами и не все виды растений одинаково чувствительны к этому в рамках БТСЖО. Например, при выращивании растительных культур на почвоподобном субстрате, приготовленном из соломы пшеницы и риса, у пшеницы и салата снижаются такие показатели, как содержание хлорофилла, сухой вес и индекс сельскохозяйственной продуктивности, однако при этом совсем не оказывается отрицательного действия на тыкву (Wenting et al., 2009).

Интересной проблемой является накопление синтетических отходов внутри контура БТСЖО. Такими отходами являются пришедшие в негодность части подвижных элементов системы, а также расходные материалы, созданные из разных типов пластмасс. Попытки встраивания таких отходов в естественный цикл переработки невозможна ввиду необходимости тотальных корректировок технологии формирования ППС и неизбежного риска загрязнения субстратов и поливных растворов микрочастицами пластика. В настоящей работе впервые рассматривается данная проблема и предлагается один из потенциальных элементов её решения.

1.3 Участие насекомых надотряда *Dictyoptera* в биодеградации лигнина и целлюлозы

Проблема накопления растительных остатков с высоким содержанием лигнина и целлюлозы является неотъемлемой частью природных экосистем. Наиболее эффективно подобную биомассу в экосистемах перерабатывают такие организмы-редуценты, как бактерии и грибы, некоторые из которых вошли в симбиоз с рядом членистоногих, что существенно повысило эффективность переработки биомассы, ввиду предварительного измельчения частей растений челюстями насекомых. Наиболее продвинутой группой насекомых в плане

симбиоза с микроорганизмами являются тараканообразные (*Dictyoptera*). К примеру такая группа тараканообразных, как термиты (инфраотряд *Termitoidae*) достигла особенного уровня взаимодействия с грибами. Многие виды термитов внутри своих гнёзд имеют жизненно-необходимую культивационную камеру, которая используется для выращивания термитофильных грибов, они служат единственной пищей для термитов, при этом термиты оберегают грибы, занимаясь их кормлением, разведением и защитой. Термитофильные грибы питаются растительной биомассой с высоким содержанием целлюлозы, которую термиты доставляют в гнездо, пережёвывают и укладывают в компост. Кроме того, термиты также способствуют расселению грибов в пределах своего ареала обитания, поскольку сформированная репродуктивная пара («королева» и «король») также транспортирует с собой фрагмент мицелия, который в дальнейшем проращивается на пережёванных растительных остатках, на месте будущей культивационной камеры молодой колонии.

В кишечниках практически всех видов таракановых (Отряд *Blattodea*) также присутствуют симбиотические бактерии, активно участвующие в пищеварении насекомых. Из-за способности таких бактерий перерабатывать лигнин и целлюлозу, в более раннем исследовании нами были отобраны тараканы *Rucnoscelus nigra*, которые во Вьетнаме обитают преимущественно в подстилочной зоне, где высокую долю их рациона составляют живые и отмершие части растений и, как свежий, так и ферментированный лиственный опад. Данный вид тараканов имеет способность к партеногенезу, что существенно облегчает разведение в неволе. В случае *P. nigra*, способность к перевариванию целлюлозы и лигнина осуществляется с помощью симбиотических организмов-жгутиконосцев отряда *Hypermastigida*.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Объектами исследования являлись тараканы вида *Pycnoscelus nigr*a и личинки жуков-чернотелок *Zophobas morio*.

Исследования при выполнении настоящей работы были выполнены в Институте биофизики СО РАН (ФИЦ КНЦ СО РАН).

2.2 Методы исследования

2.2.1 Метод видового отбора

В основе методики выполнения работы лежит подбор биологического объекта по четырём основным критериям:

- 1) Значительная доля лигнина и целлюлозы в диете тараканов;
- 2) Желательный партеногенез, исключаящий проблему инбридинга в колонии;
- 3) Максимально низкий выброс токсичных веществ и веществ-аллергенов в среду;
- 4) Неприхотливость к условиям содержания и возможность искусственно контролировать рост колонии.

Среди всего многообразия видов тараканов, которых насчитывается 4641 вид [Beccaloni, G.W. (2007)], мы обратили внимание на семейство *Blaberidae*, в процессе эволюции выработавшее способность к вынашиванию оотек («сумки» для компактного хранения яиц, кладки) внутри брюшка, такой способ имеет название «яйцеживорождение». Явным преимуществом яйцеживорождения является то, что оно полностью исключает повреждение или гибель оотек при попадании во внешнюю среду, то есть тараканы самостоятельно решают проблему инкубации яиц.

Причины, по которым были исключены тараканы других семейств лежат в их неспособности выжить в условиях замкнутой СЖО. Так, например,

семейство *Nocticolidae* это маленькие тараканы, размером менее 5 мм, приспособленные к жизни в пещерах и имеющие довольно узкий рацион питания. Представители крупнейшего семейства *Ectobiidae* (в которое входят и известные космополиты - рыжие тараканы *Blatella germanica*) были исключены из-за синантропности большинства представителей семейства, то есть возможности выжить вне бокса для переработки отходов системы в случае побега, а так же из-за наличия едкого секрета, он является потенциально опасным для использования, поскольку наряду с высокой концентрацией мочевой кислоты, содержит высокую концентрацию аммиака [López-Sánchez, M.J. et al. 2009], которые при высокой концентрации в системе могут нанести вред здоровью эконавтов. Семейство *Corydiidae* не имеет едкого секрета, и его представители ведут в основном роющий образ жизни, однако это достаточно прихотливые тараканы, которым требуется инкубация оотек вне их тел и при определённом уровне влажности, который необходимо чётко контролировать, а так же они имеют достаточно долгий срок развития, что воспрепятствует быстрой наработке колонии в нужном количестве.

Остановившись на семействе *Blaberidae* мы начали поиск вида, подходящего под все необходимые параметры. Первым выбранным родом стал род *Blaberus*, тараканы-кандидаты, отобранные из этого рода это: *B. craniifer*, *B. giganteus*, *B. boliviensis*, однако эксперименты с ними были прекращены, поскольку данный вид достаточно медленно и неохотно поедает сухую солому – основной компонент общей смеси растительных отходов. Вторым видом стали тараканы вида *Nauphoeta cinerea*, которые подходили по неприхотливости и поеданию, но были исключены из-за своих токсичных выделений, имевших сильный неприятный запах. Третьим и финальным видом в подборе стали тараканы *Pycnoscelus nigra* и *Pycnoscelus surinamensis*, в ходе эволюции приспособившиеся к партеногенетическому размножению и высокой доле лигнина и целлюлозы в рационе.

В нашем исследовании тараканы должны были стать звеном в цепи переработки соломы для добавления её в почвоподобный субстрат (ППС), на котором выращиваются растения. Для исследования на первом этапе мы использовали колонию тараканов вида *P. nigra*. Главное преимущество тараканов перед червями в системе в том, что тараканы способны перерабатывать лишь объекты, основательно подвергшиеся гниению, но никак не особо твёрдые структуры из которых состоят стебли, колоски и листья пшеницы. Первичная обработка грибом (*Pleurotus ostreatus*) так же имеет свои недостатки, такие, как медленный рост грибницы и высокая вероятность поражения субстрата плесневыми грибами.

Среди всего многообразия видов тараканов, которых насчитывается 4641 вид [Beccaloni, G.W. (2007)], мы обратили внимание на семейство *Blaberidae*, в процессе эволюции выработавшее способность к вынашиванию оотек («сумки» для компактного хранения яиц, кладки) внутри брюшка, такой способ имеет название «яйцеживорождение». Явным преимуществом яйцеживорождения является то, что оно полностью исключает повреждение или гибель оотек при попадании во внешнюю среду, то есть тараканы самостоятельно решают проблему инкубации яиц.

2.2.2 Предпочтения в рационе питания и скорость утилизации растительной биомассы разными возрастными группами тараканов

Несмотря на общие сведения по пищевым предпочтениям определённых видов тараканов, было решено провести ряд экспериментов для получения достоверной информации о рационе питания испытуемых насекомых.

На основе данных по культивированию растений в Биосе было выведено оптимальное соотношение продуктов питания для опытной группы из 10 тараканов. Специальная сухая кормовая смесь (ССКС) имеет следующие соотношения: 1 г соломы, 0.66 г чуфы, 0.32 г растительной ботвы моркови и

свеклы и 0.66 г мёртвых тараканов, общая масса смеси: 2.64 г. Все компоненты были перемолоты до полупорошкового вида, а мёртвые тараканы (того же вида) были использованы, как единственный источник белка для тараканов. Примечательно также, что белковая составляющая может служить лимитирующим фактором для роста колонии, что значительно упростит контроль над колонией в будущем.



Рис. 1. Контейнер с пищевыми ячейками и установленными чашками Петри для выращивания хлореллы

Для оценки того, на какой возраст приходится наиболее эффективная поедаемость ССКС, тараканы были разделены на 3 основные группы, в которую входило по 2 возраста. Собственные наблюдения показали, что вид *Rucnoscelus nigra* имеет достаточно быстрый рост и за всю жизнь преодолевает в среднем 5 личиночных возрастов, 6 возрастом является состояние имаго, т.е. жизнь в виде репродуктивной взрослой особи. Дополнительная личиночная

стадия возникает лишь при недостатке питательных веществ, но такого явления в ходе эксперимента не наблюдалось.

В первую группу вошли тараканы 1 и 2 линьки, во вторую тараканы 3 и 4 линьки и в третью группу тараканы 5 и 6 линек. Каждая группа поедала растительные отходы независимо друг от друга, что позволило достоверно отследить скорость поедания биомассы тараканами-кандидатами.

2.2.3. Процесс обеднения ППС и фитотестирование

Оценку влияния экзометаболитов тараканов было решено выполнить методом фитотестирования, т.е. с помощью посева пшеницы на почвоподобный субстрат, в который были вмешаны метаболиты тараканов согласно количеству недостающих микроэлементов. Для удаления части микроэлементов было проведено обеднение ППС с помощью единоразового посева пшеницы.

Для качественной оценки влияния экзометаболитов на рост, развитие и здоровье пшеницы было решено взять три типа субстрата: чистый ППС, ППС с добавлением сухой соломы, чтобы имитировать естественное ферментирование растительной биомассы и ППС с добавлением тараканьих экзометаболитов. Субстраты были заложены в два металлических бака с площадью 576 см² (ППС и ППС+солома) и один бак немного большего объёма с площадью 832,5 см² (ППС без экспериментальных добавок).

К каждому из трёх баков была подключена система полива, представляющая собой силиконовые шланги с насосами, опущенные в специальные поливные баки. Количество поливного раствора в каждом баке соответствовало необходимому уровню для успешного кратковременного затопливания почвоподобного субстрата в каждом из трёх контейнеров во время ежедневного полива.

Перед посевом зерно было обработано фунгицидом и двое суток проращивалось в автоклаве.

После посева для растений поддерживалось круглосуточное освещение и температура в диапазоне от 20 до 26 градусов Цельсия. Эксперимент был проведён в двух повторностях, без герметизирования фитотрона и кипячения растворов, с целью сохранения естественной микробиоты.

2.2.4 Методы культивации насекомых

Ввиду комплексности исследования было решено выделить три основных направления экспериментов: освоение методик содержания испытуемых животных, эксперимент по влиянию диеты на тараканов и эксперимент с поеданием пенополистирола с помощью личинок жуков-чернотелок.

Для культивирования тараканов *Blattella germanica* был выбран уже разработанный и освоенный нами ранее метод культивации в вентилируемых полипропиленовых контейнерах на смеси из кокосового субстрата мелкой фракции, листьев дуба и трухлявой древесины берёзы, с еженедельным кормлением морковью, листовым салатом, мякотью яблок и томатов, рукколой и высушенными рачками-гаммаридами. Температура содержания

поддерживалась на уровне 28 ± 1 градус при влажности воздуха в 70%.

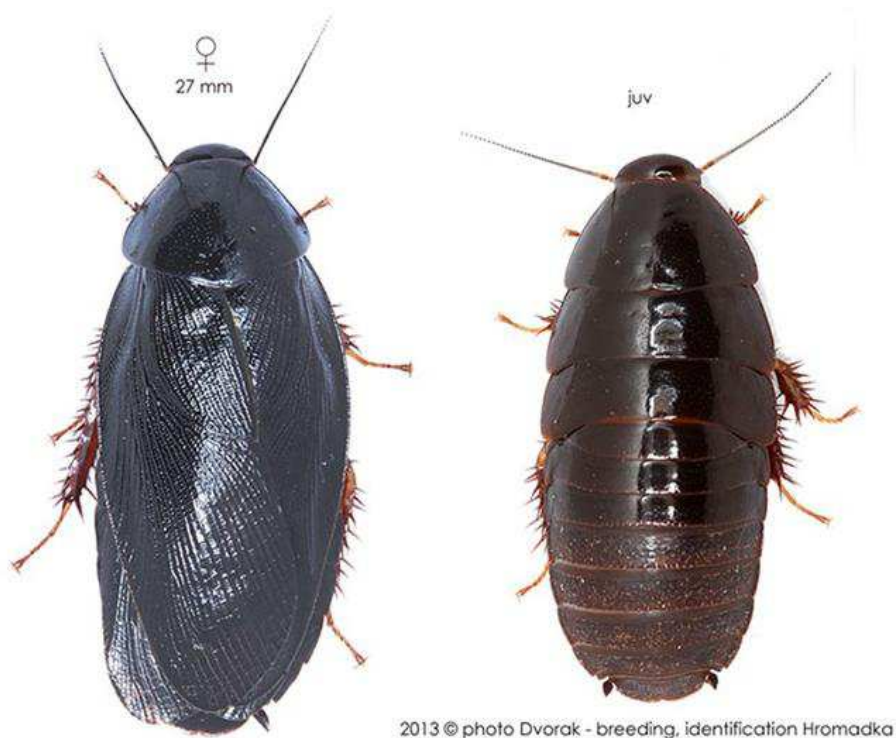


Рис. 2. Тараканы *Blattella germanica*. Имаго (слева) и личинка последнего возраста – предимаго (справа)

В основу методологии выращивания колонии *Zorhobas morio* лёг способ культивации, описанный в статье "Особенности полупромышленного выращивания *Zorhobas morio*" Андрея Ашотовича Нагдаляна и коллег, однако указанный метод несущественно скорректирован с целью удешевления содержания. Личинки зофобаса содержались и выращивались в плоских вентилируемых контейнерах на 20 литров прямо в кормовой смеси, состоящей из пшеничных и ячменных отрубей, овсяных хлопьев, мясокостной муки и рачков-гаммарид. Температура содержания была 28 ± 1 градусов при влажности воздуха 30%. Личинки последнего, субадультного возраста спустя 1 месяц после линьки изымались в пустые контейнеры на 250 мл, где, оставшись без пищи, они в течении 5-10 дней окукливались и развивались в имаго в течении следующих 15-22 дней. Имаго отсаживались в отдельные ёмкости на 5 литров с расчётом 1 самец и 5 самок, спустя 30 дней субстраты в ёмкостях с

имаго полностью заменялись с целью сбора яиц и молодых личинок первого возраста. Каждая ёмкость с жуками имела плоскую поилку из чашки Петри, проложенной смоченными ватными дисками с целью увеличения срока жизни имаго до 8-12 месяцев.

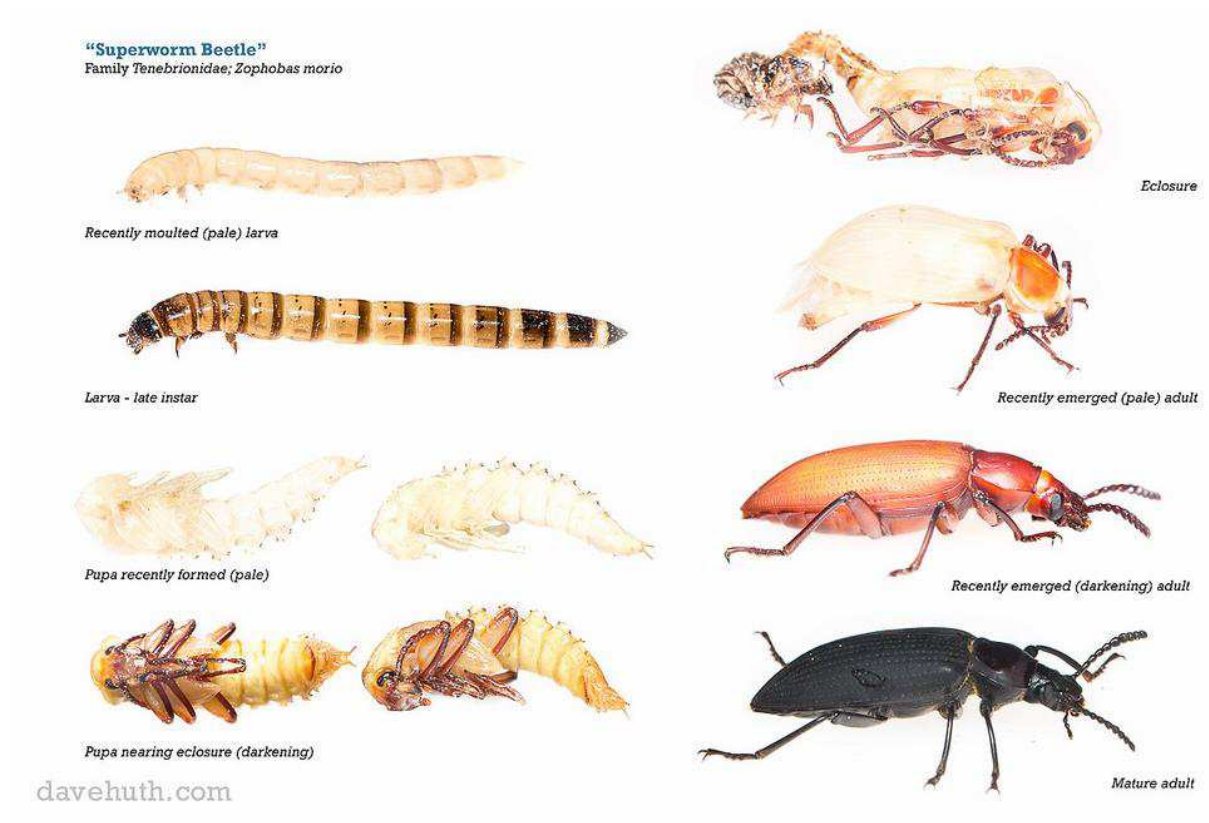


Рис. 3. Стадии развития жука-чернотелки *Zophobas morio*

В случае если у личинок отмечалось стремление к окукливанию, личинки отсаживались в отдельные ёмкости без субстрата, где в течение нескольких дней личинка сворачивалась и трансформировалась в куколку.

2.2.5 Метод биодegradации растительно-белковых субстратов

В случае второй стадии эксперимента также было необходимо учесть то, насколько обеднились кормовые субстраты в ходе эксперимента, для чего образцы субстратов были отданы на анализ на минеральный состав, в том числе на нитратный и общий (органический) азот. Анализы были необходимы для оценки изменения количества химических элементов в мг\кг.

Всего было подготовлено 4 варианта кормовых субстратов:

Чистая пшеничная солома (С);

Солома в смеси с несъедобными частями овощных культур и чуфы (С+Б);

Солома в смеси с костями и тканями карповых рыб (С+Р);

Солома в смеси с несъедобными частями овощных культур и чуфы и с костями и тканями карповых рыб (С+Б+Р).

Пропорции были согласованы с пропорциями из Биос-3: масса соломы 64,2%, масса чуфы 19,8%, масса листьев моркови 12,6%, масса листьев свёклы 3,4%.

Получилось, что в расчёте на 200г одной загрузки растительной массы необходимо:

Для смешанного варианта:

1. Масса соломы: 128,4 г
2. Масса чуфы: 39,6 г
3. Масса листьев моркови: 25,2 г
4. Масса листьев свёклы: 6,8 г
5. Масса рыбных остатков: 11,8 г

Общая итоговая масса: 211,8 г

Для оскуднённого варианта:

1. Масса соломы: 128,4 г
2. Масса рыбных остатков: 11,8 г

Общая итоговая масса: 140,2 г

Условия содержания были отрегулированы в соответствии с разработанной нами ранее методикой содержания. Температура поддерживалась в диапазоне 28 градусов Цельсия, при влажности воздуха 70%. По мере просыхания субстратов производилось опрыскивание отстоянной водой из пульверизатора.

Для заселения было отобрано всего 30 особей тараканов трёх возрастных групп (по 10 особей на возрастную группу), в соответствии с ранним исследованием.

Поскольку условия содержания животных во время экспериментов с субстратами никогда не являются стерильными с целью сохранения полезной для ферментации биоты, необходимо брать во внимание аллелопатический эффект, поскольку все организмы-редуценты, соседствующие друг с другом на субстратах способны оказывать друг на друга позитивное или негативное влияние за счёт метаболитов, которые могут содержать антибиотики, фитонциды, маразмины и колины, выделяемые различными организмами в системе. В особенности, нас интересовало влияние, которое способны оказать такие вещества на микробиоту кишечника тараканов *Rucnoscelus nigra*, которые в рамках эксперимента возглавляли список организмов-редуцентов и именно их благополучие являлось ключевой частью эксперимента и в случае угнетения тараканов необходимо было проанализировать составы субстратов.

2.2.6 Метод биодеградации пенополистирола

Для экспериментов по переработке пластика был выбран вспененный пенополистирол (EPS), как наиболее дешёвый и доступный мягкий тип пластика, при этом широко использующийся в качестве упаковочного материала и, как следствие, достаточно часто попадающий в окружающую среду.

Для эксперимента из двух колоний насекомых было набрано по 30 особей разных возрастов.

В случае группы тараканов мы сохраняли деление из ранних экспериментов, разделяя тараканов на три возрастные группы: 1-2 линька, 3-4 и 5-6 соответственно. В случае зофобаса мы решили взять 15 особей субадульного возраста, практически готовых к окукливанию и 15 особей семиадульного возраста, чтобы попутно оценить степень и скорость их угнетения на исключительно бедном пенополистироловом кормовом субстрате, которым личинки были вынуждены питаться следующие 28

суток. Температура содержания поддерживалась на уровне 28 градусов Цельсия, при влажности воздуха 70%.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поскольку любая замкнутая СЖО не допускает попадание в систему лишнего для неё биологических объектов и органических соединений, нашей задачей стояло, в первую очередь доказать безопасность использования тараканов, поскольку эти существа могли оказаться, потенциально опасными для системы из-за возможного выделения токсичных летучих соединений.

Так на первом этапе мы собрали две холостые пробы, подключив газовую камеру к газоанализатору и прогнав через него газовую смесь в течении трёх часов, после отбора холостых проб, поместили под купол газовой установки тараканов вида *Blaberus craniifer* и сделали три забора газа из тестовой камеры с тараканами. Каждая повторность высадки тараканов в камеру проходила по 3 дня, в которые 5 тараканов успевали надыхать от 2 до 4 тыс. ppm углекислого газа. Слежка за уровнем CO₂ важна была для того, чтобы не допустить гибели тараканов от недостатка кислорода.

После отбора видов тараканов, которые имеют лигнин и целлюлозу в своём природном рационе в достаточных количествах (не менее 20%), был составлен список из 29 видов тараканов, потенциально подходящих для дальнейших экспериментов, его можно увидеть в таблице 1:

Сем-во <i>Blaberidae</i>	Сем-во <i>Blattidae</i>	Сем-во <i>Ectobiidae</i>	Сем-во <i>Corydidae</i>
<i>Blaberus craniifer</i>	<i>Blatta orientalis</i>	<i>Paratemnopteryx coulouiana</i>	<i>Therea olegrandgeani</i>
<i>Blaberus giganteus</i>	<i>Blatta lateralis</i>	<i>Symploce pallens</i>	<i>Therea bernhardti</i>
<i>Panchlora nivea</i>	<i>Deropeltis paulinoi</i>		<i>Ergaula capucina</i>
<i>Eublaberus distanti</i>	<i>Periplaneta americana</i>		<i>Polyphaga aegyptica</i>
<i>Pycnoscelus nigra</i>	<i>Periplaneta australasiae</i>		<i>Polyphaga saussurei</i>
<i>Pycnoscelus surinamensis</i>	<i>Periplaneta brunnea</i>		<i>Therea petiveriana</i>
<i>Gromphadorhina portentosa</i>	<i>Periplaneta japonica</i>		<i>Therea regularis</i>
<i>Princisia vanwaerebeki</i>	<i>Periplaneta fuliginosa</i>		
<i>Lucihormetica verrucosa</i>	<i>Neostylopyga rhombifolia</i>		
<i>Nauphoeta cinerea</i>	<i>Blattella germanica</i>		

Таблица 1. Виды тараканов, прошедшие отбор

Ряд видов был исключён из-за повышенного содержания в газовой смеси токсических веществ с неприятным запахом, эти виды отмечены оранжевым цветом. Среди таких веществ в наибольшей концентрации присутствовали: тетрадекан, гексаналь и декан. Белым цветом выделены виды, которые не удовлетворили нас из-за общей прихотливости к условиям содержания или из-за достаточно долгого периода роста личинок, как, например, практически у всех представителей тараканов-черепашек (Сем-во *Corydidae*) личиночный рост может длиться более года. Зелёным же цветом выделены два вида, отобранные, как наиболее подходящие по причине довольно быстрого роста (от яйца до стадии имаго примерно за 4-6 месяцев) и в связи с тем, что выбросы токсичных веществ в газовую среду данными видами тараканов не превышали ПДК.

Из двух видов мы выбрали *P. nigra*, в связи с его немного более быстрым ростом в сравнении с *P. surinamensis*.

Помимо безопасности для газовой среды СЖО, общей неприхотливости вида к условиям содержания, быстрого роста и высокой доле содержания лигнина и

целлюлозы в рационе (до 80%), *P. nigra* оказались видом, сильно зависящим от уровня влажности, что не даст особям выжить вне субстрата. Также *P. nigra* перестают активно размножаться, полностью заполняя доступный им объём субстрата, а это является важным фактором контроля колонии. Последним преимуществом данного вида является наличие партеногенеза, который воспрепятствует вырождению колонии.

Следующим шагом мы выяснили пищевые предпочтения отобранных тараканов. Среди отходов от основных растительных культур Биос-3.

По результатам двух повторностей удалось выяснить, что отобранный вид действительно крайне эффективно поедает целлюлозосодержащую пищу (солому). Смещения в предпочтениях могут происходить в сторону продуктов с высоким содержанием жидкости, что в потенциале позволит нам увеличивать скорость поедания соломы методом её перемалывания и смачивания, чтобы тараканы отдавали ей ещё большее предпочтение. Важным моментом является то, что тараканы *P. nigra* также отдают высокое предпочтение своим мёртвым сородичам, это объясняется потребностью вида в белковой пище и хитине, которые идут на формирование мышц и покровов, соответственно.

Название компонента	Исходная масса (г)	Не съеденное количество компонента за 7 дней (г)	Съеденное количество компонента за 7 дней (г)
Солома	1.0	0.65	0.35
Чуфа	0.66	0.57	0.09
Морковь (листья)	0.16	0.12	0.04
Свекла (листья)	0.16	0.12	0.04
Тараканы (молотые)	0.66	0.54	0.12
Общая масса	2.64	2.0	0.64

Таблица 2. Данные по съеденным отходам за время эксперимента для вида *P.nigra*

Также в ходе двух повторностей было выяснено, что нет существенной разницы для системы в необходимом количестве тараканов определённой возрастной группы. Каждая возрастная группа поедала растительные отходы с одинаковыми предпочтениями и примерно с одинаковой скоростью, несмотря на размер и фактор того, что тараканы первых двух линек должны питаться более интенсивно. Молодые особи первых линек действительно питаются чаще, однако отсутствие существенной разницы в скорости поедания объясняется тем, что крупные особи за раз поглощают значительно большее количество пищи, тем самым потребление по возрастным группам естественным образом уравнивается.

Возрастная группа	Скорость поедания Г (таракан/сутки)	Необходимая численность для Биос (шт)
1 (1-2 линька)	0.019	49 327
2 (3-4 линька)	0.020	47 490
3 (5-6 линька)	0.021	45 552

Таблица 3. Эксперименты по поедаемости с разными возрастными группами тараканов *P. nigra*

Состав субстратов перед началом эксперимента можно увидеть из таблицы 4:

Состав субстратов, г				
Вариант	С	С+Б	С+Р	С+Б+Р
Солома, г	45,4536	45,4536	45,4536	45,4536
Чуфа, г	0	17,1072	0	17,1072
Морковь, г	0	17,136	0	17,136
Свёкла, г	0	5,168	0	5,168
Рыба, г	0	0	9,9828	9,9828
Общая масса, г	45,4536	84,8648	55,4364	94,8476
Са, г	0,08737091	0,77155447	1,120919444	1,805103007
К, г	0,145946964	3,38782117	0,165132408	3,407006613
Na, г	0,005475795	0,57733538	0,020665164	0,42989296
Р, г	0,026293999	0,28299507	0,510778549	0,767479619
S, г	0,018272802	0,17877316	0,051713185	0,212213546
Mg, г	0,035126542	0,27160342	0,054793157	0,291270033
Fe, г	0,0057017	0,04927883	0,006649467	0,0502266
N (общ.), г	0,358174368	1,4579567	0,969620868	2,069403204
NO ₃ , г	0,006224944	0,18255057	0,00917792	0,185503549

Таблица 4. Состав субстратов перед началом эксперимента

Процентное содержание элементов в составе субстратов перед началом эксперимента видно из таблицы 5:

%				
	С	С+Б	С+Р	С+Б+Р
Ca	0,19222	0,90915724	2,02199177	1,903161501
K	0,32109	3,992021626	0,29787722	0,002978772
Na	0,012047	0,680300174	0,03727725	0,453246007
P	0,057848	0,333465782	0,92137756	0,809171365
S	0,040201	0,210656436	0,09328381	0,223741609
Mg	0,07728	0,320042489	0,09883967	0,307092676
Fe	0,012544	0,05806746	0,01199477	0,052955057
N (общ.)	0,788	1,717975773	1,74906897	2,18181926
NO3	0,013695161	0,215107527	0,21510753	0,195580646

Таблица 5. Состав субстратов перед началом эксперимента

Абсолютно сухие массы субстратов до и после эксперимента видно из таблицы 6:

	m исх сух расч, г	m после сух расчёт, г	Разница (после-исх), г
Суб С	45,4536	39,7917	-5,6619
Суб С+Б	84,8648	33,5892	-51,2756
Суб С+Р	55,4364	33,7818	-21,6546
Суб С+Б+Р	94,8476	68,0712	-26,7764

Таблица 6. Абсолютно сухие массы субстратов (до и после эксперимента)

Состав субстратов после эксперимента после эксперимента можно увидеть в таблице 7:

Состав субстратов после эксперимента, %				
	С	С+Б	С+Р	С+Б+Р
Ca	0,320209	1,6793	3,042052	2,558885
K	0,5	4,2658	0,521145	4,940069
Na	0,014559	0,47495	0,041546	0,372473
P	0,124965	0,61418	1,26258	1,019512
S	0,103006	0,54901	0,205989	0,586968
Mg	0,150979	0,44653	0,2085	0,480418
Fe	0,017405	0,037121	0,030894	0,027616
N (общ.)	1,175	3,038	2,625	3,8
NO3	0,0032741935483 871	0,203225806451 613	0,191935483870 968	0,237096774193 548

Таблица 7. Состав субстратов после эксперимента

Изменение в массе элемента (разность) доступного в субстрате видно из таблицы 8:

изменение в массе элемента (разность) доступного в субстрате , г				
	С	С+Б	С+Р	С+Б+Р
Ca	0,040045695	-0,207491038	-0,093259521	-0,063239281
K	0,053011536	-1,954973075	0,010919753	3,359938955
Na	0,000317478	-0,417803477	-0,006630178	-0,176346119
P	0,023431699	-0,07669692	-0,084256299	-0,073485567
S	0,022715	0,005635	0,017874	0,187343
Mg	0,024950569	-0,121617563	0,015641896	0,035756264
Fe	0,001224	-0,03681	0,003787	-0,03143
N (общ.)	0,109378107	-0,437516808	-0,082848618	0,517302396
NO3	-0,004922087	-0,11428865	-0,054408608	-0,02410893

Таблица 8. Изменение в массе элемента (разность) доступного в субстрате

Изменение в массе элемента (разность) доступного в субстрате видно из таблицы 9:

Изменение в массе элемента (разность) доступного в субстрате , г				
	С	С+Б	С+Р	С+Б+Р
Ca	46	-27	-8	-4
K	36	-58	-72	118924
Na	6	-72	-32	-41
P	89	-27	-16	-10
S	124	3	35	88
Mg	71	-45	29	12
Fe	21	-75	57	-63
N (общ.)	31	-30	-9	25
NO3	-79	-63	-46	-13

Таблица 9. Изменение в массе элемента (разность) доступного в субстрате

По результатам двух повторностей выращивания пшеницы на трёх разных типах субстрата, было выявлено, как метаболиты тараканов влияют на рост одной из главных растительных культур в ЗСЖО.

В качестве дополнительных субстратов были взяты: почвоподобный субстрат (ППС), состоящий из растительных отходов, переработанных ранее красными калифорнийскими червями и аналогичный субстрат, в состав которого входит свежая солома, которая должна подвергнуться процессу ферментации в ходе выращивания пшеницы.

Пшеница, выросшая на ППС с добавлением тараканьих экзометаболитов показала лучший результат по количеству зерна в обеих повторностях, что видно на гистограмме:

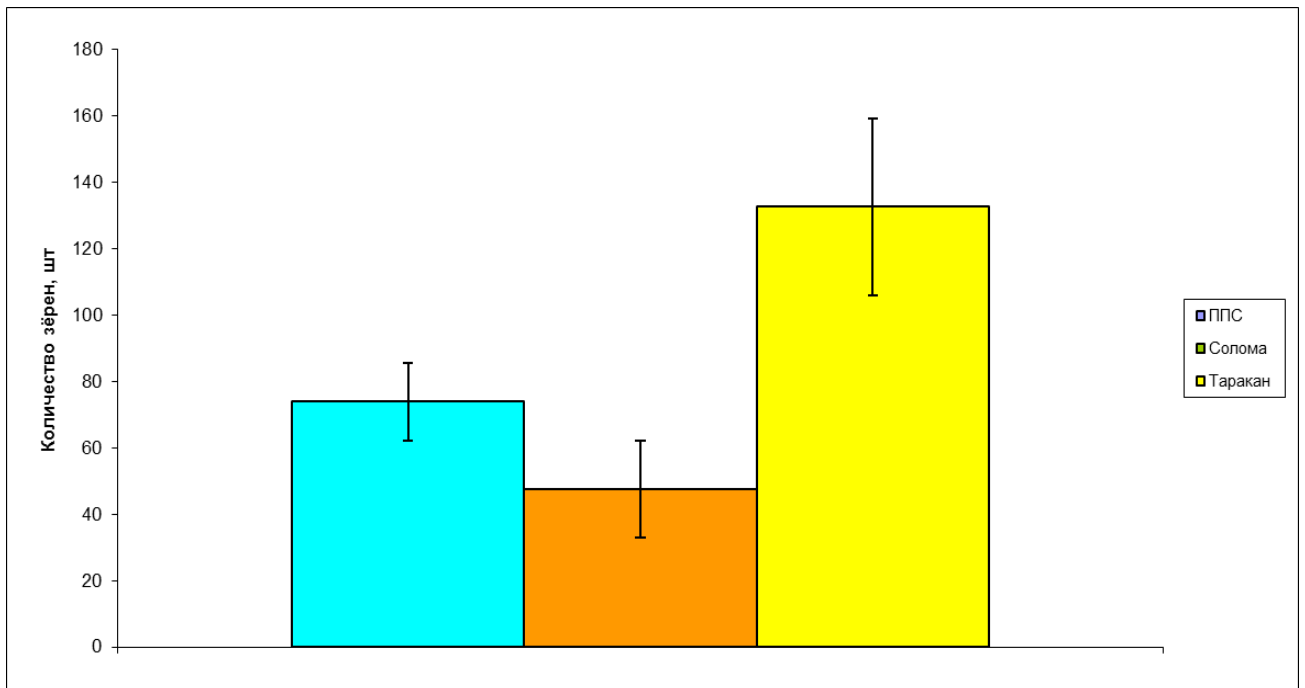


Рис. 4. Гистограмма: количество зерна всех растений, полученное с выборки из 10 колосьев

Однако размеры побегов у всех растений каждого бокса были сходной высоты в обеих повторностях, что можно увидеть на гистограмме:

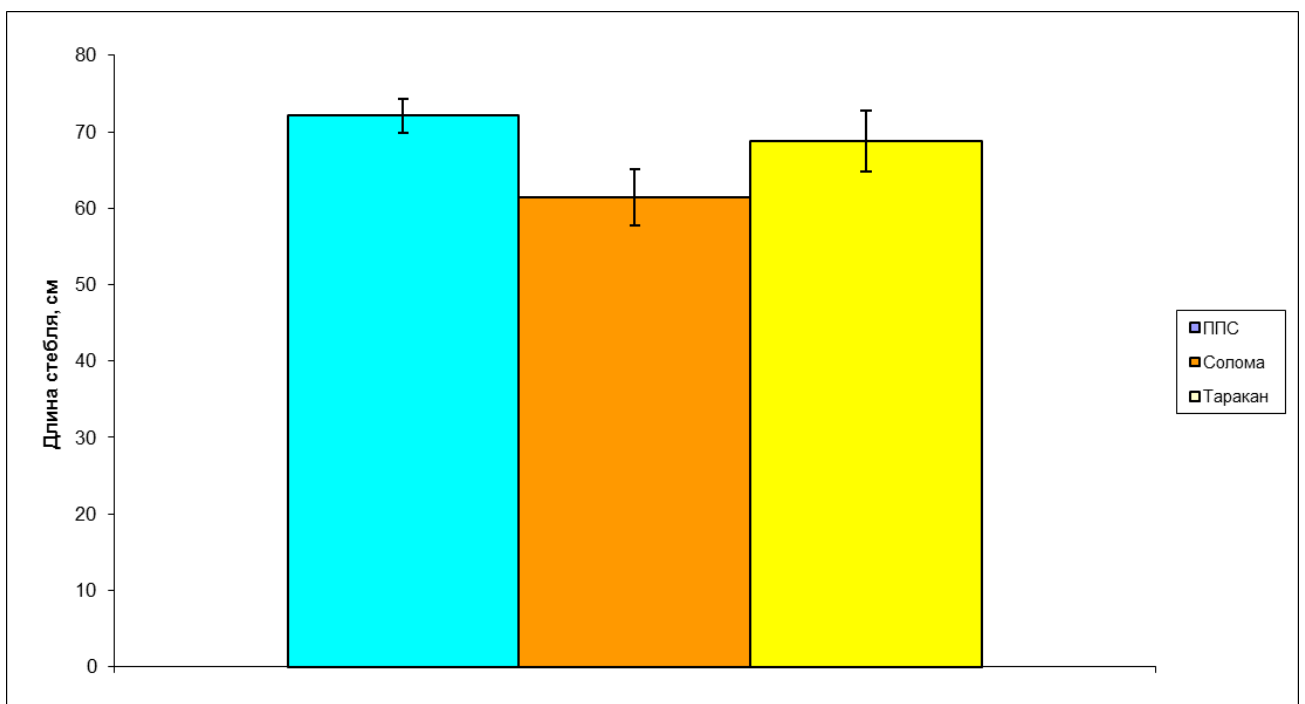


Рис. 5. Гистограмма: средняя высота побегов пшеницы, см

	ППС	Солома	Таракан
Масса 1000 зёрен	23	14	22

Таблица 10. Сравнение массы зерна с трёх типов субстрата

Разработанный метод нацеленный на быструю и эффективную переработку растительных отходов с помощью симбиотических организмов, живущих в кишечниках тараканов вида *Rucnoscelus nigra*, показал положительный результат, при этом переработка осуществляется с исключением гнилостных процессов в ЗСЖО.

К концу эксперимента удалось подобрать оптимальный вид тараканов и провести с этим видом ряд успешных экспериментов по поеданию растительных отходов. Получены и проанализированы данные по минеральному составу кормовой и газовой смесям, а также метаболитов тараканов и экспериментального субстрата.

Проведённое исследование показало, что переработка действительно осуществляется быстрее, чем в существовавших ранее методах, при этом гнилостные процессы полностью исключаются, а уровень содержания токсичных веществ, по результатам анализа газовой смеси, водных растворов и субстратов, не превышает ПДК. Это означает, что данный метод подходит для использования в ЗСЖО и имеет ряд важных перспектив

Наработка колоний испытуемых насекомых заняла всего 13 месяцев, из которых в случае тараканов, ввиду исходного отсутствия имаго первый расплод удалось получить только на четвёртый месяц. В последующем рост колонии значительно ускорился, поскольку увеличивалось количество имаго в колониях. Экспоненциальный рост начался, как только численность имаго

пересекла отметку в 50 особей, поскольку первая оотека каждой самки включает в себя от 10 до 20 новорождённых тараканов (и до 35 в последующих оотеках).

В ранних экспериментах было выявлено, что объём субстрата является существенным фактором сдерживания численности особей, ввиду чего, достигнув количества в 9 тысяч особей на 6 литров субстрата, колония перестала существенно прибавлять и терять в численности, выйдя тем самым на плато. В этом же состоянии колонии находятся и по сей день.

В случае с зофобасом рост колоний шёл заметно быстрее, несмотря на значительно меньшее исходное число особей. В данный момент взрослые самки на стадии откладки третьей партии яиц, результатом первых двух откладок стало увеличение численности особей в колониях до 4 000 особей на 10 литров субстрата. В ходе наращивания объёмов колоний было также отмечено, что, несмотря на обязательную белковую составляющую в рационе личинок, всё равно периодически наблюдается каннибализм, преимущественно на ранних возрастах личинок. Динамику численности колоний можно увидеть на графике:

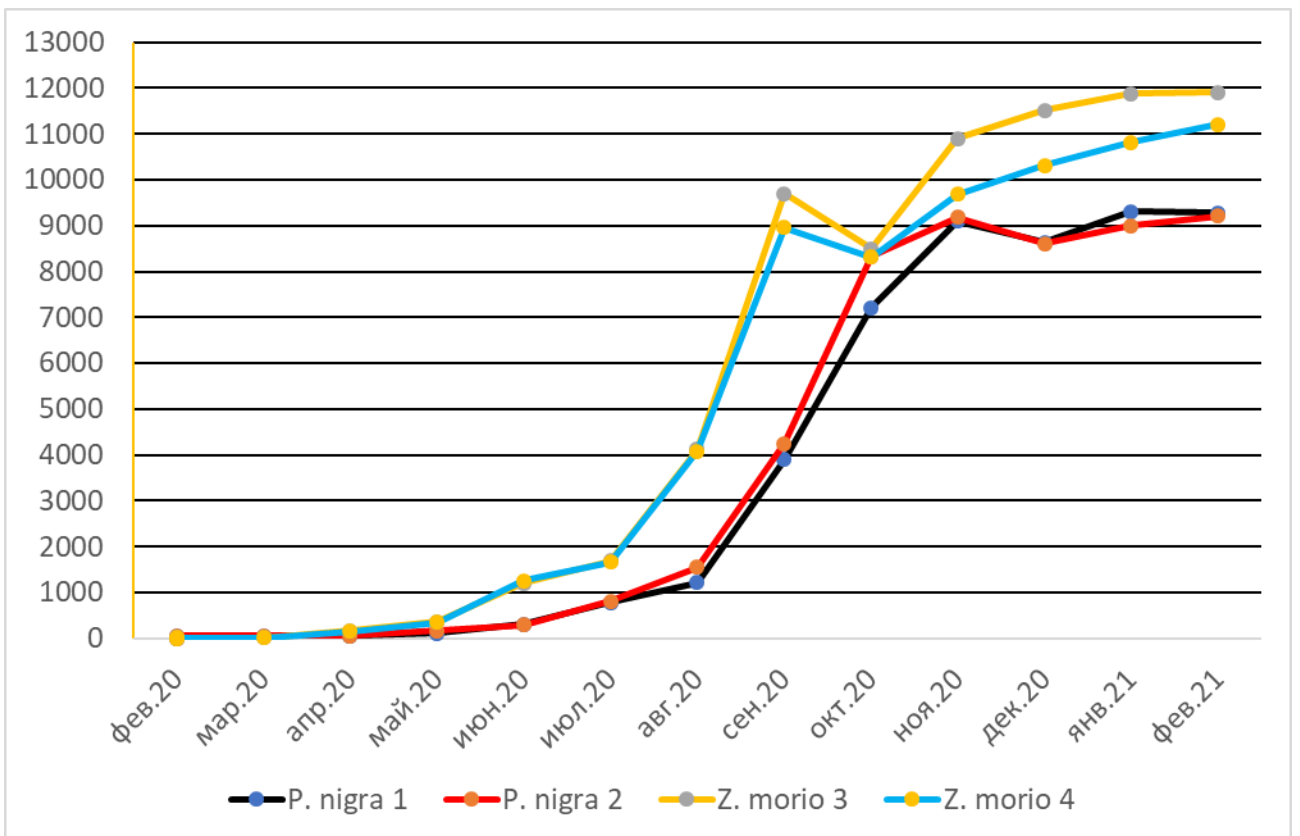


Рис. 6. График увеличения роста численности особей в колониях

В каждый из четырёх вариантов было запущено по 30 особей трёх возрастных групп. Не включены в эксперимент были только взрослые особи, чтобы возможно было достоверно оценить угнетённость особей за период в 28 суток и избежать увеличение численности тараканов в колониях в начале эксперимента. Температура и влажность поддерживались на том же уровне, что и при разведении.

Существенным итогом первой недели эксперимента стала вспышка плесневых грибов, охвативших весь объём субстрата. Также была отмечена гибель единственной особи в варианте с соломой и листьями, однако, гибель таракана наиболее вероятно была обусловлена индивидуальными ошибками развития, поскольку в дальнейшем в ходе эксперимента гибель тараканов не наблюдалась.

составляющих имеют немного более высокую температуру, в отличие от 1- и

2-составных субстратов.

Нагрев свидетельствует о наличии в субстрате окислительно-восстановительных реакций с участием углерода. Это даёт понять о том, что компост сформирован правильно и к биодegradации активно подключены несимбиотические микроорганизмы.

По итогам второй недели было отмечено, что тараканы начали успешно линять, переходя на новые стадии роста. Также плесневые грибы перешли в стадию спорообразования и начали отмирать. У дна, среди экзометаболитов тараканов и соломы были отмечены плёнки мицелия нового для системы вида плесневых грибов.

Итогом третьей недели стала резкая вспышка роста клещей-сопрофагов, до этой недели совсем не отмечавшихся в субстратах. Наибольшее их количество пришлось на варианты с наиболее насыщенными субстратами, однако после трёх суток активного размножения клещи также быстро исчезли и свидетельством их присутствия остались только мёртвые особи, запертые в каплях конденсата и редкие живые одиночные особи, обитающие среди экзометаболитов тараканов.

И итогом последней, четвёртой недели стало появление особей в стадии имаго, что в дальнейшем приведёт к увеличению численности колонии, поскольку все запущенные на субстраты особи, кроме одной, выжили к концу эксперимента.

Ни одна особь в колонии тараканов не была угнетена за время активной переработки и решено было не учитывать аллелопатию в субстратах, поскольку никаких отклонений от нормального развития отмечено не было

Из всех субстратов были взяты образцы биомассы для дальнейшего химического анализа, с целью выявления уменьшения концентраций химических элементов, результаты видно из таблицы 1:

Для биодegradации пенополистирола было сформировано две группы насекомых, разделённых по биологическим видам. Группа номер 1 - это тараканы *Blattella germanica*, группа номер 2 - личинки жука *Zophobas morio*. Обе группы были одновременно выпущены в свои контейнеры и содержались при температуре 28 градусов Цельсия. Для поддержания необходимого уровня влажности для тараканов раз в неделю производилось опрыскивание стенок контейнера свежей водой из пульверизатора, поскольку при низком уровне влажности тараканы данного вида выжить не способны.

Результаты по численности особей в группах можете увидеть на слайде, к сожалению, пикноцеллюсы не показали положительного результата в плане биодegradации пластика, на 26 день эксперимента все особи в группе номер 1 оказались мертвы, ввиду невозможности питаться. При этом на протяжении всего эксперимента наблюдался высокий уровень каннибализма - молодые особи первой возрастной группы были пойманы и съедены особями из более старших групп в течение второй недели эксперимента.

Результат группы номер 2 оказался положительным, личинки жуков успешно заселили блок пенополистирола и к концу эксперимента масса блока пенополистирола уменьшилась до 8,42 г при 11,60 г изначальных. Как и ожидалось, семиадультные особи были значительно угнетены скудным рационом, их развитие существенно замедлилось и к концу эксперимента несколько личинок погибло. Однако личинки последнего возраста, готовые к окукливанию, напротив выглядели здоровыми к концу эксперимента, и одна особь успела успешно перейти в стадию имаго. Жук также сформировался без каких-либо заметных отклонений и будет в дальнейшем пущен в разведение лабораторной группы насекомых этого вида.



Рис. 7. Блок пенополистирола в конце эксперимента, на фото видно ходы, проделанные личинками внутри блока

По истечению эксперимента личинки были отсажены в просторный бокс без субстрата, где провели трое суток, после чего оставленные экзосметаболиты были изъяты для будущих экспериментов и анализа.

По итогам эксперимента было показано, что личинки *Z.morio* рассматривают пенополистирол в качестве источника пищи за неимением альтернатив. При этом личинки семиадульного возраста испытывают более сильное угнетение в ходе питания такой диетой. При этом ровно треть всех личинок – 10 особей или иначе $\frac{2}{3}$ всех особей субадульного возраста успешно достигли окукливания и смогли совершить трансформацию в имагинальную стадию развития без видимых отклонений. Спустя 3 недели от конца эксперимента жуки всё ещё живы и получили первое потомство. У молодых личинок первой стадии также не наблюдается видимых отклонений. По результатам вскрытия 20 личинок видимых патологий выявлено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Эксперимент с кормовыми субстратами показал, что на всех вариантах личинки тараканов развиваются быстро и без отклонений, при этом субстраты заметно обедняются ввиду потери элементов, поскольку кормовые субстраты населены сообществом организмов-редуцентов. Стабильное и успешное развитие насекомых свидетельствует о позитивном влиянии кормовых субстратов на их здоровье и сожительство с другими организмами-редуцентами (плесневые грибы, клещи-сапрофаги, колемболы и двукрылые семейства *Sciaridae*) не оказывает на них угнетающего влияния, поэтому от более детальной оценки аллелопатии в кормовых субстратах было решено отказаться.
2. Было также показано, что тараканы успешно встраиваются на место красных калифорнийских червей при формировании почвободного субстрата. Эксперименты по выращиванию растений показали, что добавление экзометаболитов тараканов в ППС улучшает характеристики урожая.
3. Выявить тенденции в изменении содержания минеральных макроэлементов в кормовых субстратах в процессе формирования сообществ редуцентов на субстратах не удалось. Добавление экзометаболитов тараканов не привело угнетению растений, червей и снижению урожайности пшеницы.
4. Также тараканы вида *Pyrenococcus nigra* оказались неэффективны в биодegradации пенополистирола, но личинки *Zophobas morio* показали положительный результат, как минимум восприняв пенополистирол, как источник пищи. Оценить КПД переработки пенополистирола в полной мере будет возможно в дальнейших экспериментах.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

[1] A.A. Tikhomirov, S.A. Ushakova, Construction of experimental models of closed biotechnical systems for space applications for a rated “fraction of a human”, *Pilotiruyemyye polety v kosmos (Manned space flights)*. 2 (19) (2016) 82 – 90 (in Russian).

[2] Yu.A. Kudenko, I.A. Gribovskaya, R.A. Pavlenko, Mineralization of wastes of human vital activity and plants to be used in a life support system, *Acta Astronautica*. 41 (3) (1997) 193–196.

[3] Yu.A. Kudenko, I.A. Gribovskaya, I.G. Zolotukhin, Physical-chemical treatment of wastes: a way to close turnover of elements in LSS, *Acta Astronautica*. 46 (2000) 585–589.

[4] N.S. Manukovsky, G.M. Lisovsky, Yu.A. Kudenko, V.S. Kovalev, V.G. Gubanov, Yu.V. Barkhatov, I.V. Gribovskaya, I.G. Zolotukhin, J.B Gros, Ch. Lasseu, Mass exchange in an experimental new-generation life support system model based on biological regeneration of environment, *Adv. Space Res.* 31 (2003) 1711–1720.

[5] J.I. Gitelson, G.M. Lisovsky, R. MacElroy, *Manmade Closed Ecological Systems*, Taylor & Francis Inc., 2003.

[6] E.F. Sutormina, S.V. Trifonov, Yu.A. Kudenko, Yu.A. Ivanova, L.G. Pinaeva, A.A. Tikhomirov, L.A. Isupova, Physicochemical Processing of Human Exometabolites for Closed Life Support Systems, *Chemistry for Sustainable Development*. 19 (2011) 375–382.

[7] Standard Test Methods for Ammonia Nitrogen In Water. Designation: D1426 – 08. Copyright © ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959. United States.

[8] D.F. Putnam, Composition and Concentrative Properties of Human Urine, NASA contract report, 1971.

[9] S. Denga, B. Xiea, H. Liu, The recycle of water and nitrogen from urine in bioregenerative life support system, *Acta Astronautica*. 123 (2016) 86–90.

[10] F.J. Cadete Santos Aires, I. Kurzina, G. Garcia Cervantes, J.C. Bertolini, Pd catalysts supported on silicon nitride for the combustion of methane: Influence of the crystalline and amorphous phases of the support and of the preparation method on the catalytic performances, *Catalysis Today*. 117 (2006) 518–524.

[11] I. Kurzina, F.J. Cadete Santos Aires, G. Bergeret, J.C. Bertolini, Total oxidation of methane over Pd catalysts supported on silicon nitride: Influence of support nature, *Chemical Engineering Journal*. 107 (2005) 45–53.

[12] G.P. Bespamyatnov, Yu.A. Krotov, Maximum allowable concentrations of chemicals in the environment, Himiya, Leningrad, 1985. (in Russian)

[13] A. Tikhomirov, Y. Kudenko, S. Trifonov, S. Ushakova, Assessing the feasibility of involving gaseous products resulting from physicochemical oxidation of human liquid and solid wastes in the cycling of a bio-technical life support system, *Advances in Space Research*. 49 (2012) 249–253.

[14] S.V. Trifonov, Yu.A. Kudenko, A.A. Tikhomirov, Bioassay of products of organic waste mineralization: An approach for closed ecosystems, *Ecological Engineering*. 91 (2016) 139–142.

[15] A.A. Tikhomirov, Yu.A. Kudenko, Corresponding Member of the RAS A.G. Degermendzhi, S.V. Trifonov, E.F. Sutormina, Yu.A. Ivanova, Assessment of Composition and Toxicity for Plants of Gases Produced during Physicochemical Processing of Human Exometabolites as Applied to Biotechnical Life Support Systems, *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 441 (2011) 252–254.

[16] G.A. Kolyagin, V.L. Kornienko, Yu.A. Kudenko, A.A. Tikhomirov, S.V. Trifonov, Electrosynthesis of Hydrogen Peroxide from Oxygen in a Gas Diffusion Electrode in Solutions of Mineralized Exometabolites, *Russian Journal of Electrochemistry*. 49 (10) (2013) 1004–1007.

[17] Waste Bioregeneration in life support CES: development of soil organic substrate / N.S. Manukovsky, V.S. Kovalev, V.Ye. Rygalov[et al.] // *Adv. Space Res.* - 1997. - V. 10. - P. 1827-1832.

[18] Алтынова А.Е., Саркенов Б.Б. Исследование количественных показателей выделения лигнина в процессе получения твердого топлива

- (пеллет) // Современные научные исследования и инновации. 2015. № 2. Ч. 2
[Электронный ресурс].
- [19] Nagdalian, AA; Pushkin, SV; Rzhepakovsky, IV; Povetkin, SN; Simonov, AN; Verevkina, MN; Ziruk, IV. Zophobas Morio Semiindustrial Cultivation Peculiarities // ENTOMOLOGY AND APPLIED SCIENCE LETTERS. - 2019. - Том: 6. - Выпуск: 1. - Стр.: 1-7
- [20] Peng, B.-Y., Li, Y., Fan, R., Chen, Z., Chen, J., Brandon, A. M., ... Wu, W.-M. (2020). *Biodegradation of low-density polyethylene and polystyrene in superworms, larvae of Zophobas atratus (Coleoptera: Tenebrionidae): Broad and limited extent depolymerization. Environmental Pollution, 115206.* doi:10.1016/j.envpol.2020.115206
- [21] N.S. Manukovsky, G.M. Lisovsky, Yu.A. Kudenko, V.S. Kovalev, et. al. Mass exchange in an experimental new-generation life support system model based on biological regeneration of environment // Adv. Space Res. 31 (2003) 1711–1720.
- [22] J.I. Gitelson, G.M. Lisovsky, R. MacElroy. Manmade Closed Ecological Systems // Taylor & Francis Inc., 2003, 88-95
- [23] H. Liu, C.Y. Yu, N.S. Manukovsky, V.S. Kovalev, et. al. A conceptual configuration of the lunar base bioregenerative life support system including soil-like substrate for growing plants, 2008, 120-124
- [24] F. Engelmann, G. A. Kerkut. PARTHENOGENESIS // The Physiology of Insect Reproduction, 1970, 25-35
- [25] H. E. Hinton. Number of Eggs // BIOLOGY OF INSECT EGGS, 1981, 11-50.
- [26] Normark, B. B., & Kirkendall, L. R. (2009). *Parthenogenesis in Insects and Mites. Encyclopedia of Insects, 753–757.* doi:10.1016/b978-0-12-374144-8.00201-0
- [27] ENGELMANN, F. (1970). *PARTHENOGENESIS. The Physiology of Insect Reproduction, 25–35.* doi:10.1016/b978-0-08-015559-3.50006-1

- [28] Keng Hong Tan. (1973). *A study of lipids in the cave-roach, Pycnoscelus striatus Kirby (Dictyoptera: Blattidae)—II. Effects of ageing and prolonged starvation on phospholipids, total cholesterol and triglycerides. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 46(1), 9–14. doi:10.1016/0305-0491(73)90041-2
- [29] GILBY A. R. (1965) Lipids and their metabolism in insects. *A. Rev. Ent.* 10, 141-160. ICHIDA T. & MINE N. (1969) Improvement of Baginski's method for phosphorus determination. *Clin. chim. Acta* 23, 378-379.
- [30] KARLSON P. & HOFFMEISTER H. (1963) Zur Biogenese des Ecdysons--I. Umwandlung von Cholesterin in Ecdyson. *Hoppe Seyler' s Z. physiol. Chem.* 331, 298-300.
- [31] KENNEDY E. P. (1963) The biosynthesis of complex lipids. *Fifth Int. Congr. Biochem.* 7, 113-133.
- [32] KILBY B. A. (1963) The biochemistry of the insect fat body. *Adv. Insect Physiol.* 1, 112- 174.
- [33] TAN K. H. (1970) Reproduction of the cave-roach, *Pycnoscelus striatus*. *IVIalay. Nat.* 23, 168-170. TAN K. H. (1973a) Scraper for thin-layer chromatograms. *Lab. Pract.* 22, 190. TAN K. H. (1973b) A study of lipids in the cave-roach, *Pycnoscelus striatus Kirby (Dictyoptera: Blattidae)--I. Lipid composition in the haemolymph, fat body and whole roach. Comp. Biochem. Physiol.* 46B, 1-7.
- [34] Stay, B., & Gelperin, A. (1966). *Physiological basis of ovipositional behaviour in the false ovoviviparous cockroach, Pycnoscelus surinamensis (L.). Journal of Insect Physiology*, 12(10), 1217–1226. doi:10.1016/0022-1910(66)90013-8
- [35] ROTH L. M. (1964) Control of reproduction in female cockroaches with special reference to *Nauphoeta cinerea*-I. First pre-oviposition period. *J. Insect Physiol.* 10, 915-945.

- [36] ROTH L. M. Personal communication. ROTH L. M. and STAY B. (1961) Oocyte development in *LXpZoptera punctata* (Eschscholtz) (Blattaria). *J. Insect Physiol.* 7, 186-202.
- [37] ROTH L. M. and STAY B. (1962) A comparative study of oocyte development in false ovoviviparous cockroaches. *Psyche, Camb.* 69, 165-208.
- [38] ROTH L. M. and WILLIS E. R. (1954) The reproduction of cockroaches. *Smithson. misc. Coil.* 122, 1-49.
- [39] ROTH L. M. and WILLIS E. R. (1961) A study of bisexual and parthenogenetic strains of *Pycnoscelus swinamensis* (Blattaria: Epilamprinae). *Ann. ent. Sot. Am.* 54, 12-25.
- [40] Soares Araújo, R. R., dos Santos Benfica, T. A. R., Ferraz, V. P., & Moreira Santos, E. (2018). NUTRITIONAL COMPOSITION OF INSECTS *GRYLLUS ASSIMILIS* AND *ZOPHOBAS MORIO*: POTENTIAL FOODS HARVESTED IN BRAZIL. *Journal of Food Composition and Analysis.* doi:10.1016/j.jfca.2018.11.005
- [41] Benzertiha, A., Kierończyk, B., Kołodziejcki, P., Pruszyńska–Oszmałek, E., Rawski, M., Józefiak, D., & Józefiak, A. (2019). *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* full-fat meals as functional feed additives affect broiler chickens' growth performance and immune system traits. *Poultry Science.* doi:10.3382/ps/pez450
- [42] Xia, X., L. Cheng, S. Zhang, L. Wang, and J. Hu. 2018. The role of natural antimicrobial peptides during infection and chronic inflammation. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 111:5–26.
- [43] Xu, Y., B. Shi, S. Yan, T. Li, Y. Guo, and J. Li. 2013. Effects of chitosan on body weight gain, growth hormone and intestinal morphology in weaned pigs. *Asian Austral. J. Anim.* 26:1484– 1489.
- [44] Zhu, W., D. Li, J. Wang, H. Wu, X. Xia, W. Bi, H. Guan, and L. Zhang. 2015. Effects of polymannuronate on performance, antioxidant capacity, immune status, cecal microflora, and volatile fatty acids in broiler chickens. *Poult. Sci.* 94:345–352.

- [45] Scholliers, J., Steen, L., & Fraeye, I. (2020). *Structure and physical stability of hybrid model systems containing pork meat and superworm (Zophobas morio larvae): The influence of heating regime and insect: meat ratio*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 65, 102452. doi:10.1016/j.ifset.2020.102452
- [46] Peng, B.-Y., Li, Y., Fan, R., Chen, Z., Chen, J., Brandon, A. M., ... Wu, W.-M. (2020). *Biodegradation of low-density polyethylene and polystyrene in superworms, larvae of Zophobas atratus (Coleoptera: Tenebrionidae): Broad and limited extent depolymerization*. *Environmental Pollution*, 115206. doi:10.1016/j.envpol.2020.115206

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологий
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
В.А. Кратасюк
«15» июня 2021 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Оценка эффективности насекомых в биодegradации лигнифицированной
биомассы и пенополистирола

06.04.01 Биология
06.04.01.03 Биофизика

Научный руководитель *[подпись]*
подпись, дата

с.н.с лаб УБФ ИБФ СО РАН,
к.б.н., доцент С.В. Трифонов
должность, ученая степень инициалы, фамилия

Выпускник *[подпись]*
подпись, дата

Я.В. Колесников
инициалы, фамилия

Рецензент *[подпись]*
подпись, дата

канд. физ.-мат. наук,
доцент М.Ю. Салтыков
должность, ученая степень инициалы, фамилия

Красноярск 2021