

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

В. А. Кратасюк

\_\_\_\_\_

подпись

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 – Биология  
06.03.01.07 – Биофизика

Создание действующей модели ускоренного биологического разложения  
растительных отходов

Руководитель \_\_\_\_\_ с.н.с. лаб. УБФ С. В. Трифонов  
подпись, дата ИБФ СО РАН, к.б.н., доцент

Выпускник \_\_\_\_\_ Я. В. Колесников  
подпись, дата

Красноярск 2019

## РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Создание действующей модели ускоренного биологического разложения растительных отходов» состоит из введения, 3 глав, заключения и списка цитируемой литературы, включает 26 страниц текста, 5 рисунков и 3 таблицы. Библиографический список содержит 25 наименований.

Во **введении** обоснована актуальность выбранной темы, сформулирована цель и указаны задачи исследования.

В **первой главе** представлен обзор литературных данных, по исследованиям замкнутых СЖО и биологии исследуемых тараканов.

Во **второй главе** рассмотрены используемые в работе методы отбора вида таракана, оценки скорости утилизации растительных отходов и фитоиндикации.

В **третьей главе** представлены результаты исследования.

Завершается работа **заключением**.

Ключевые слова: ТАРАКАНЫ, PYCNOSCELUS NIGRA, СОЛОМА, ЗАМКНУТАЯ СИСТЕМА ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ.

Цель работы: оценка возможности включения тараканов в ЗСЖО, как звена утилизации растительных отходов.

Задачи:

1. Подобрать вида таракана, подходящего по всем параметрам;
2. Определить скорость утилизации растительных отходов;
3. Определить скорость роста концентраций определенных соединений в ЗСЖО и оценить возможность их снижения разработанными ранее методами;
4. Оценить влияние переработанных тараканами растительных отходов на рост растительных культур в ЗСЖО.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	6
1.1 Особенности замкнутых СЖО.....	6
1.2. Основные мировые проекты замкнутых СЖО .....	7
1.3. Почвоподобный субстрат, как биологический метод переработки растительных отходов .....	11
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	15
2.1. Объекты исследования .....	15
2.2. Методы исследования.....	15
2.2.1. Метод подбора вида.....	15
2.2.2. Метод оценки скорости переработки несъедобной растительной биомассы.....	19
2.2.3. Метод фитотестирования.....	20
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	22
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	28
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	29

## ВВЕДЕНИЕ

Когда речь идёт о длительных космических перелётах или делаются прогнозы на возможную колонизацию планет и их спутников, обязательно учитывается один из важнейших элементов общей конструкции космической, либо планетарной станции, корабля – это замкнутая система жизнеобеспечения (ЗСЖО), способная к регенерации компонентов среды, необходимых человеку. Главной задачей ЗСЖО является обеспечение космонавтов восполняемыми жизненно необходимыми ресурсами, а именно: кислородом, пищей и водой. Но, так же не менее важной задачей ЗСЖО является утилизация отходов жизнедеятельности человека и соседствующих с ним животных, ликвидация летучих органических соединений, которые могут быть токсичны, а так же переработка несъедобной растительной биомассы, производимой в процессе культивирования внутрисистемных сортов культурных растений.

Всего в системе существует два основных способа утилизации растительных отходов – это физико-химический, с помощью реактора мокрого сжигания и биологический, с помощью переработки биологическими объектами. В своём исследовании я сконцентрировался именно на биоразложении растительных остатков, попытавшись найти более быстрый способ утилизации, поскольку текущий полный цикл биологического разложения в системе занимает 2-3 месяца. Оптимальным объектом мы посчитали представителей семейства *Blaberidae*, это яйцеживородящие крупные тараканы, в природный рацион которых входят лигнин и целлюлоза.

Целью настоящей работы является оценка возможности включения тараканов в ЗСЖО, как звена утилизации растительных отходов.

**Задачи исследования:**

1. Подобрать вида таракана, подходящего по всем параметрам;
2. Определить скорость утилизации растительных отходов;
3. Определить скорость роста концентраций определенных соединений в ЗСЖО и оценить возможность их снижения разработанными ранее методами;
4. Оценить влияние переработанных тараканами растительных отходов на рост растительных культур в ЗСЖО.

# ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Особенности замкнутых СЖО

Любая замкнутая система жизнеобеспечения представляет собой комплекс биологических и технических систем, которые находятся в постоянном взаимодействии друг с другом с целью обеспечения круговорота твёрдых, жидких и газообразных веществ внутри самой себя. Необходимость создания и развития 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 планет и, возможно, их спутников.

К основным особенностям каждой ЗСЖО можно отнести:

- 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 обеспечить необходимые условия для жизни человека, которые отрицательно не влияют на состояние его здоровья, как в период проведения экспериментов, так и на протяжении его последующей жизни;
- Возможность длительного управления процессами изнутри ЗСЖО самим экипажем при минимальном вмешательстве снаружи и с требуемым уровнем поддержания герметичности системы.

Благодаря тому, что практически все условия были соблюдены, из всех искусственно созданных биологических систем жизнеобеспечения, созданных на планете, только Биос-3 позволила экипажу эконавтов (3 человека) прожить 6 месяцев внутри ЗСЖО, работающей в автономном режиме и замкнутостью цикла по воде и газу почти на 100%, а так же более 50% по пище.

## 1.2. Основные мировые проекты замкнутых СЖО

Прежде чем эксперимент с Биос был подготовлен и успешно проведён, у системы были предшественники: Биос-1 и Биос-2.

Родоначальниками Биоса являются Сергей Павлович Королёв и Леонид Васильевич Киренский. В 1961 году по заданию Королёва в отделении биофизики, Института физики Сибирского отделения АН СССР, которое возглавлял Иван Александрович Терсков, были начаты эксперименты по культивированию одноклеточной водоросли хлореллы. Эти работы положили начало масштабному и долгоживущему эксперименту по созданию ЗСЖО для перспективных лунных и планетарных баз.

Сама же установка Биос-1 была создана в 1964 году и представляла собой просто культиватор с водорослями. Культиватор был присоединён с помощью воздуховода к герметичной кабине, объёмом 12 м<sup>3</sup>. Важным моментом являлось то, что человеческая урина успешно использовалась для прикормки водорослей.

Далее, в 1966 году система была усовершенствована и доведена до трёх ключевых звеньев: «человек – микроводоросли – высшие растения», по этой схеме были начаты эксперименты на установке Биос-2. Для полного технического усовершенствования к упомянутой ранее камере Биос-1 пристроили новое помещение, называемое фитотроном, размеры которого были 2.0x2.5x1.7 м. В фитотроне были размещены высшие растения. В начале внутрь поместили овощные культуры, вроде свёклы, моркови и прочих необходимых продуктов затем поместили и пшеницу. Все эти культурные растения рассматривались не только, как пища для испытателей-эконавтов, но и, как эффективное средства для достижения регенерации атмосферы.

К началу 1972 года установка была оснащена для новой череды экспериментов и получила название Биос-3, на тот момент это была самая продвинутая и инновационная модель ЗСЖО.

Главной целью Биос-3 было получение замкнутой экологической СЖО с полностью автономным управлением. Активным участником в создании Биос-3 был первый руководитель проекта и по совместительству заведующий лабораторией фотобиологии профессор Иосиф Исаевич Гительзон вместе со своими сотрудниками. Большой вклад в работу сделали главный конструктор всех трёх установок Борис Григорьевич Ковров и ответственный за Биосистему интенсивного культивирования растений Генрих Михайлович Лисовский.

Самым длительным экспериментом стал эксперимент, проведённый с 24 декабря 1972 по 22 июня 1973 года, всего 180 суток. Биос-3 дал необходимый опыт для дальнейших разработок замкнутых СЖО и стал надёжной опорой для разработок будущего. Самыми острыми и нерешёнными проблемами остались: проблема утилизации биомассы растений и возвращения во внутрисистемный массообмен выводимой из организма человека соли.

Одним из путей биологического способа переработки органических отходов в замкнутой БТСЖО являются бактериальные культиваторы (реакторы), в которых образуется активный ил, представляющий собой смесь бактериальной массы и продуктов жизнедеятельности человека и самих бактерий. Было проведено множество работ по разработке данного метода (Проблемы создания ..., 1975; Closed Habitation Experiments ..., 2004; Application of a Closed ..., 2007; Roughton et al., 2009) создавались и создаются реакторы на основе как бактериального (с применением грибов и дрожжей или без них), так и альго-бактериального сообщества. Тем не менее, нельзя утверждать, что был достигнут значительный успех в этой области. Например, бактериальные культиваторы, разрабатывавшиеся в нашей стране,



были способны за 8-ми часовой цикл переработать органические отходы, снизив при этом уровень ХПК лишь до 20 % (Рерберг и др., 1975), более глубокое окисление требует времени порядка месяцев.

Главным недостатком данного способа является накапливаемая масса в активном иле, которая требует периодического извлечения из культиватора и дальнейшего процессинга, иначе, возможно отравление бактериального сообщества своими же метаболитами и сбой работы культиватора (Курапова, 1975). Также проблемой при переработке отходов человека является накопление NaCl, который при определенных концентрациях оказывает отрицательное влияние на активный ил. Кроме того, биологическими методами не удастся в достаточной степени окислить органические отходы и требуется более глубокая минерализация органики дополнительными физико-химическими методами. С такой проблемой, например, столкнулись исследователи при работе с европейским прототипом БТСЖО MELiSSA, где бактериальный реактор, предназначенный для разрушения органических волокон, не может полностью разложить лигнин (эффективность достигает лишь 75 %), и для его полного разложения используется перекись водорода (Vieira da Silva, Lasseur, 2004). При давлении в 25 МПа и температуре 300 °С в течение 20 секунд удается окислить до 90 % остаточного лигнина.

Еще одной проблемой в построении бактериальных культиваторов является тот факт, что в процессе его работы в нем могут начать развиваться посторонние штаммы бактерий, которые попадают туда с органическими отходами (Vieira da Silva, Lasseur, 2004). При этом возникает риск того, что могут развиваться штаммы патогенные для человека, либо штаммы ингибирующие развитие «нужных» бактерий. Данное обстоятельство вынуждает применять дополнительные физико-химические методы обработки органических отходов, как перед вводом реактор, так и на выходе из него (Vieira da Silva, Lasseur, 2004).

К тому же, учитывая тот факт, что в процессе разложения органических отходов метаболитами многих бактериальных культур являются опять же органические соединения, для полной минерализации органических отходов необходимо выстраивать сложные цепи микрокультураторов, в которых продукты работы одних реакторов являлись бы субстратом для других. К настоящему времени значительного успеха в этом направлении добились европейские ученые (Lasseur, 1995; Vieira da Silva, Lasseur, 2004).

Помимо использования бактериальных культураторов возможна утилизация жидких выделений человека непосредственно с помощью микроводорослевой культуры хлореллы. В Китае были проведены опыты по выращиванию хлореллы в моче человека, при этом она фотосинтезировала и очищала мочу, поглотив, например, азот и фосфор практически на 100 % (Ming, Hong, 2009). Тем не менее, она не способна в больших количествах поглощать NaCl, который, накапливаясь в среде, начинает оказывать негативное действие на микроводоросли [14]. В ряде экспериментов в БИОС-3 моча использовалась в нативном виде в питательной среде культивирования пшеницы [5].

Помимо Биос-3 был создан новый проект под названием Lunar P.A.L.A.S.E. 1 (Юэгун-1). Создание китайского комплекса осуществлялось при активном участии красноярских и московских специалистов. Процесс передачи опыта был задокументирован серией совместных статей 2008–2013 гг. по элементам замкнутых СЖО. С российской стороны в числе авторов были С. И. Барцев, Ю. А. Беркович, Ю. Л. Гуревич, А. Г. Дегерменджи, А. Н. Ерохин, В. С. Ковалёв, В. А. Козлов, Н. С. Мануковский, Е. В. Нестеренко, В. И. Полонский, С. В. Хижняк. С китайской стороны в группу Ли Хун входит в общей сложности 26 человек.

В течение двух месяцев, до 23 января, продолжался этап подготовки установки к эксперименту – опробование систем, высадка растений. 23–30

января 2014 г. два студента Ли Хун неделю пробно провели в «Лунном дворце», а 3 февраля стартовал уже первый полномасштабный эксперимент. В этом эксперименте участвовали трое добровольцев: командир экипажа и заместитель главного конструктора установки Се Бэйчжэнь (谢倍珍), Дун Чэн (董琛) и Ван Миньцзюань (王敏娟).

В начале 90-ых годов, в американской пустыне Аризона был запущен масштабный проект, получивший название "Биосфера-2" ("Биосферой-1" является наша планета Земля). Эта искусственно-созданная замкнутая Биосфера была первой масштабной попыткой экспериментального моделирования процессов, происходящих в естественных экосистемах Земли. По мнению авторов проекта, полученные в ходе эксперимента результаты могли бы очень пригодиться во время длительных космических перелётов. Однако элементарные просчёты, вроде отсутствия ветра, загрязнения воды, утечки воздуха и самое главное – появившийся дисбаланс в отношении между насекомыми и растениями (насекомые уничтожили целый ряд видов растений), привели эксперимент к провалу.

### **1.3. Почвоподобный субстрат, как биологический метод переработки растительных отходов**

Один из способов повышения замкнутости массообменных процессов был предложен Н.С. Мануковским с соавторами [17]. В основе этого метода лежит использование почвоподобного субстрата (ППС) как корнеобитаемой среды для выращивания культурных растений и одновременно как биологического реактора для минерализации растительных отходов (несъедобной растительной биомассы).

Почвоподобный субстрат получается в результате биологической переработки несъедобной части растений при помощи красных калифорнийских червей, грибов и бактерий. Приготовление почвоподобного

субстрата осуществляется следующим образом: сперва измельченные растительные отходы (очистки, ботва, солома, мульча и т.п.) ферментируются в анаэробных условиях при 60 °С в течение 24 ч и, затем, при 45 °С в течение 48 ч, далее полученная биомасса перерабатывалась калифорнийскими червями и грибами в течение 3-х месяцев, разложение целлюлозы и лигнина достигает при этом 98,6 и 93,12 % соответственно [18]. Затем измельченная растительная биомасса добавляется в уже приготовленный ППС без какой-либо дополнительной переработки.

Одним из явных недостатков использования почвоподобного субстрата является требование постоянной поддержки структуры субстрата, в связи с чем необходимо регулярно отслеживать его состав и своевременно вносить несъедобную растительную биомассу, к тому же такой субстрат является конкурентом человека за кислород, непрерывно поглощая его из атмосферы ЗСЖО.

Другой важной проблемой при использовании технологии ППС является возможное проявление аллелопатии при включении в субстрат остатков несъедобной растительной биомассы и выращиваемых растений. При выращивании чуфы, салата и редиса на ППС, в который вносилась несъедобная биомасса этих растений, была выявлена проблема: выделения из несъедобной биомассы чуфы негативно влияют на другие виды растений, что, наиболее вероятно, связано с аллелопатией [22]. Однако же, это не всегда является критической проблемой, так как данное явление вызывается не всеми культурами и далеко не все виды растительных культур одинаково чувствительны к этому. Например, при выращивании на ППС, 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 не оказывается негативного влияния на тыкву [20].

Также был проведён эксперимент по выращиванию пшеницы на ППС, который был приготовлен из несъедобной биомассы пшеницы и риса, в котором было зафиксировано снижение веса 1000 зерен и коэффициента сельскохозяйственной продуктивности в сравнении с контролем, выращенным гидропонным методом. При этом содержание белков, углеводов, клетчатки и витаминов находилось более-менее на том же уровне, что и в контрольном варианте [20]. Однако, включая в ППС только солому пшеницы, возможно получение достаточно успешного урожая салата без существенных колебаний отслеживаемых параметров [21].

### **1.2.2. Особенности биологии и рациона питания тараканов**

В природных экологических системах важную роль в переработке растительной биомассы играют представители отряда «таракановые» (*Blattodea*). В ходе эволюции тараканы вошли в симбиоз с рядом простейших микроорганизмов, которые и обуславливают достаточно широкий спектр пищевых предпочтений многих видов тараканов и в частности таких опасных инвазивных видов, как *Periplaneta Americana*, *Blatta orientalis* и *Blattella germanica*. Важным моментом в формировании рациона тараканов является их природная способность к переработке лигнина и целлюлозы, эффективно и быстро разлагать которые им и помогают симбиотические микроорганизмы [23]. Важной особенностью кишечника тараканов является наличие в них богатой микробиоты, представленной различными видами бактерий, конкурентные отношения которых регулируются разными предпочтениями в рационе питания. Не мене важным также является способность микробиоты мигрировать от одной особи к другой, что регулярно происходит с новорождёнными особями, которые намеренно поедают экзометаболиты взрослых особей для обогащения микробиотой собственных кишечников. [23].

Ряд тараканов также выработал удобный партеногенетический способ размножения, то есть это означает, что в процессе размножения участвуют

исключительно самки, которые в процессе размножения фактически «клонировать» самих себя [24]. Самцы при этом могут появляться в партеногенетических колониях, однако это скорее способ распространения генов в другие колонии и от того самцы не возникают у партеногенетических видов на постоянной основе. Появление самцов не является регулярным событием и наиболее вероятно, что данный механизм является хаотичным. Явный плюс наличия партеногенеза у тараканов это фактическое исключение инбридинга, то есть близкородственных скрещиваний, которые приводят к вырождению колоний у ряда видов тараканов [25].

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объекты исследования

Объектами являлись тараканы, принадлежащие к нескольким биологическим видам.

Исследования при выполнении бакалаврской работы проводились в Институте биофизики СО РАН (ФИЦ КНЦ СО РАН).

### 2.2. Методы исследования

#### 2.2.1. Метод отбора вида

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, исключающий 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* был начат 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 настоящем 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 использовалась колония тараканов вида *Pycnoscelus nigra*. Именно вид *P. nigra* был выбран для эксперимента, поскольку в их кишечнике живёт группа симбиотических организмов-жгутиконосцев отряда *Hypermastigida*, помогающих тараканам переваривать целлюлозу, что могло бы помочь решить проблему с накоплением в системе соломы после переработки пшеницы. В этом преимущество тараканов перед червями, которые в свою очередь 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.

Поскольку любая замкнутая СЖО не допускает попадание в систему лишних 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 надышать от 2 до 4 тыс. ppm углекислого газа. Слежка за уровнем CO<sub>2</sub> важна была для того, чтобы не допустить гибели тараканов от недостатка кислорода.

Динамика углекислого газа в камере с тараканами так же выводилась на графике, благодаря этому можно было наблюдать за процессом в режиме онлайн. В камере с тараканами были установлены чашка Петри с ватным диском, смоченным водой, и солома, камеру и подопытных тараканов можно увидеть на рисунке 1:



Рисунок 1. Тараканы *P. nigra* в камере для сбора газовой смеси

Доказательством обеспечения достаточно комфортных условий для тараканов являлась успешная линька двух самцов в состояние имаго, то есть личинки достигли полового созревания без каких-либо внешних дефектов покровов, размеры насекомых тоже не были отклонены от нормы.

Аналогичный эксперимент был проведён и для двух последующих видов *Nauphoeta cinerea* и *Pyrenocelus nigra*. Во время экспериментов оба вида проявляли активность и ни один таракан не погиб. Однако, химический анализ газовой смеси ещё будет осуществлён в ближайшем будущем.

### **2.2.2. Метод оценки скорости переработки несъедобной растительной биомассы**

Для оценки скорости поедания несъедобной растительной биомассы тараканами был использован полипропиленовый контейнер с источником воды и лотками с растительными отходами в перемолотом виде. Тараканы выдерживались на такой диете с выявлением суточной скорости поедания определённого количества биомассы. Тараканы были разбиты на три возрастные группы: 1-2 линька, 3-4 линька и 5-6 линьки, оценка поедаемости для каждой группы рассчитывалась отдельно.

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 [2] 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. Экспериментальный контейнер можно увидеть на рисунке 2:



Рисунок 2. 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.

### **2.2.3. Метод фитотестирования**

В данном методе один из главных компонентов несхедобной растительной биомассы – солома пшеницы, была использована для скормливания колонии тараканов и образовавшиеся экзометаболиты были использованы для добавления к обеднённому ППС. Обеднение ППС входило

в этапы подготовки к дальнейшему эксперименту. Следующим шагом были приготовлены три типа субстрата, которые после обеднения были дополнены а) непереработанной соломой б) экзометаболитами тараканов для восполнения микроэлементов. 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 см<sup>2</sup> (ППС и ППС+солома) и один бак немного большего объёма с площадью 832,5 см<sup>2</sup> (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 затапливания 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.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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. Таблица отбора видов тараканов

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*.

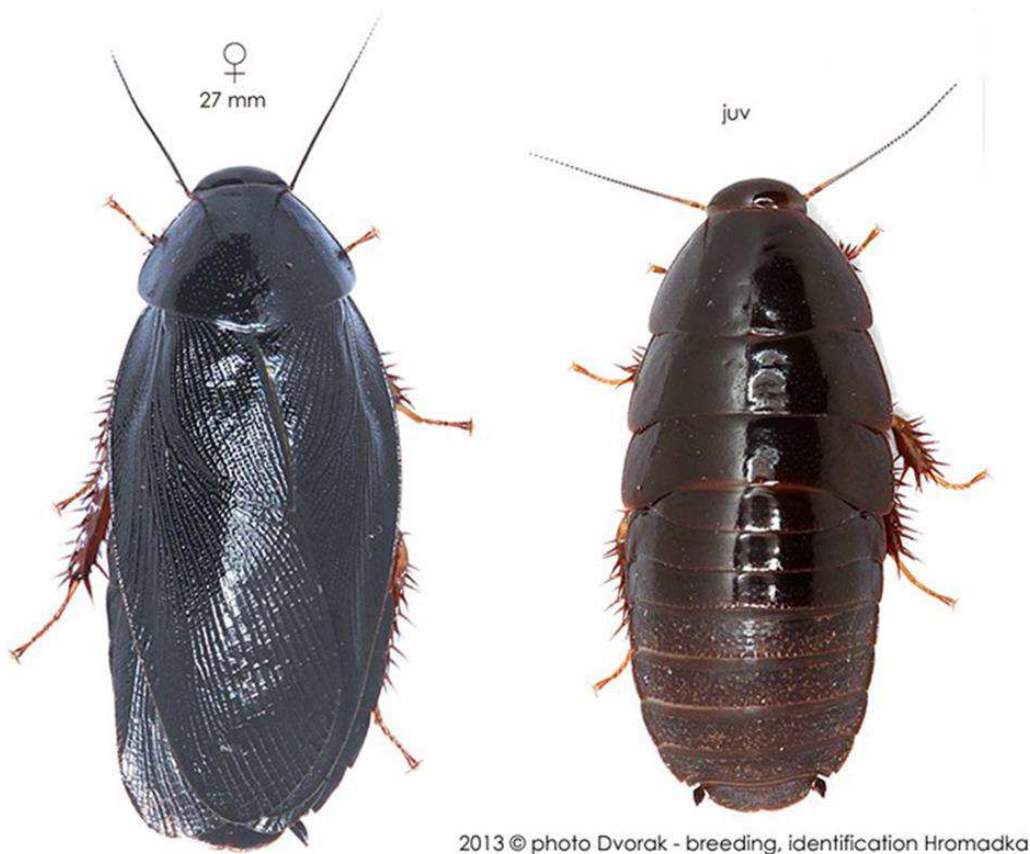


Рисунок 3. Тараканы вида *Rucnoscelus nigra*

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, данные по съеденным отходам можно увидеть в таблице 2:

Название компонента	Исходная масса (г)	Не съеденное количество компонента за 7 дней (г)	Съеденное количество компонента за 7 дней (г)
Солома	1	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*

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.



Также в ходе двух повторностей мы выяснили, 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 действительно питаются чаще, однако отсутствие существенной разницы в скорости поедания объясняется тем, что крупные особи за раз поглощают значительно большее количество пищи. Скорость поедания растительной биомассы тараканами *P. nigra* видно из таблицы 3:

Возрастная группа	Скорость поедания Г (таракан/сутки)	Необходимая численность для Биос
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. Скорость поедания растительной биомассы разными возрастными группами

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 рисунке 4:

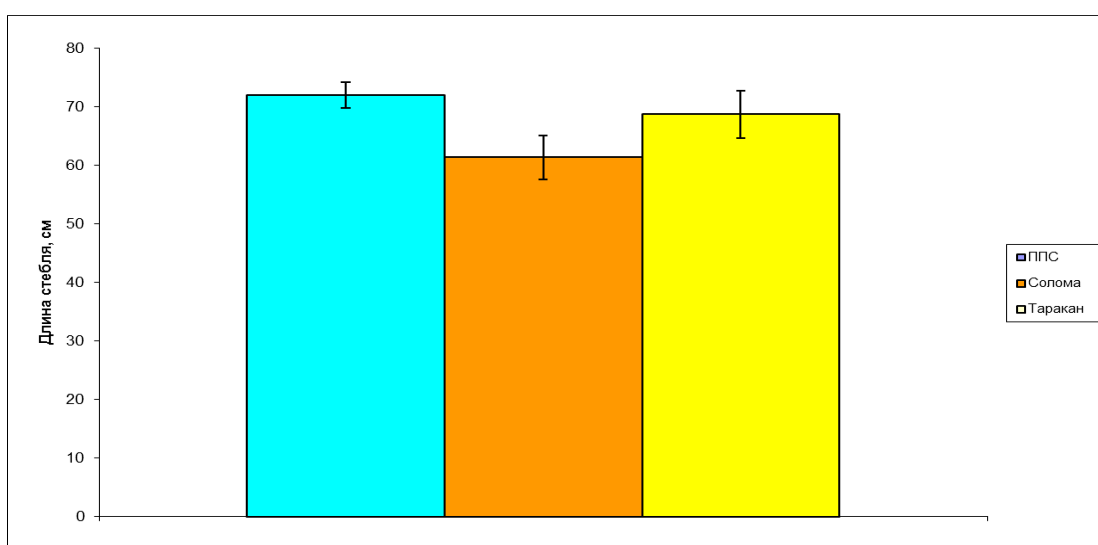


Рисунок 4. Гистограмма: средняя высота побегов пшеницы, см

Однако размеры побегов у всех растений каждого бокса были более-менее сходной высоты в обеих повторностях, что можно увидеть на рисунке 5:

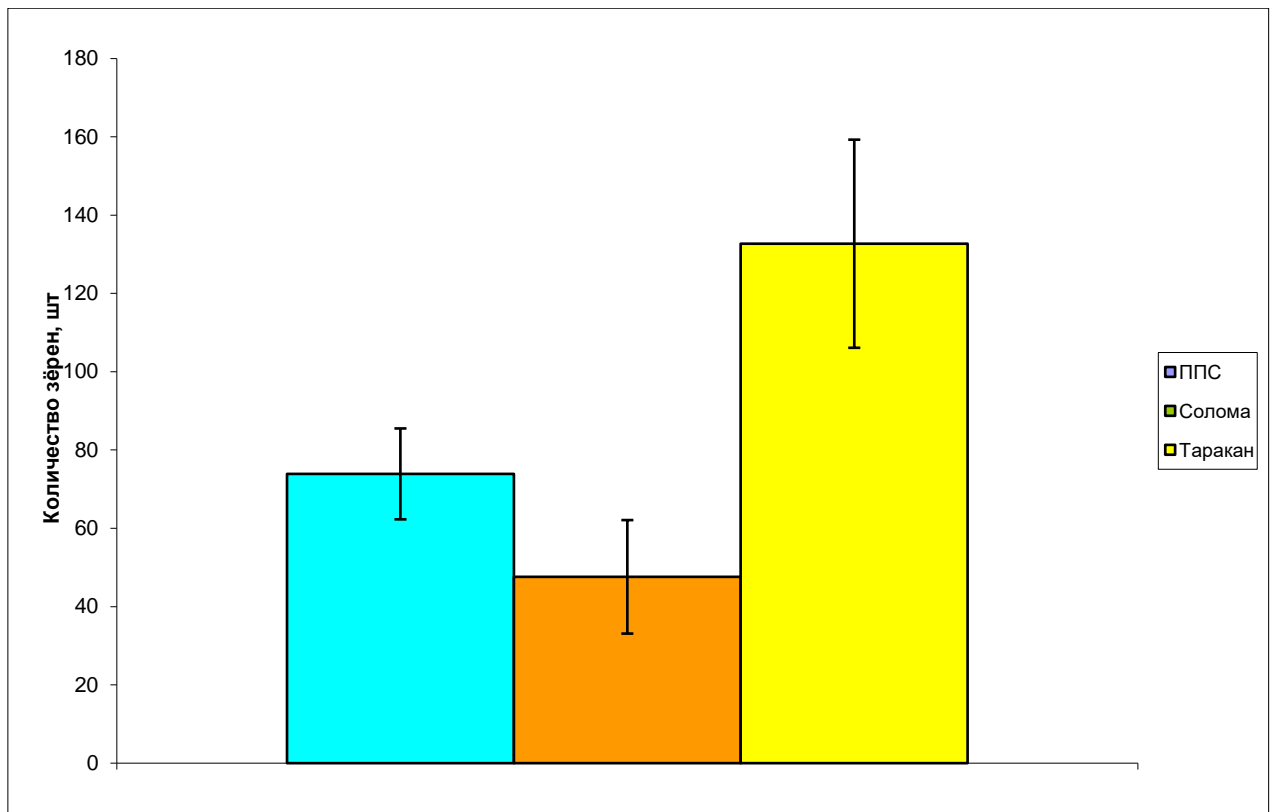


Рисунок 5. Гистограмма: Количество зерна всех колосьев, полученное с выборки из 10 растений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Наиболее перспективным видом тараканов, удовлетворяющим требованиям переработки лигнина и целлюлозы, партеногенеза и саморегуляции численности в условиях дефицита белкового питания являются *Pyrenocelus nigra*.

2. Проведённое исследование показало, что переработка действительно осуществляется быстрее, чем в существовавших ранее методах, при этом гнилостные процессы полностью исключаются. Это означает, что данный метод подходит для использования в ЗСЖО и имеет ряд важных перспектив.

3. Скорость переработки несъедобной растительной биомассы не зависит от возраста тараканов, что важно в случае колебаний в возрастных группах колонии тараканов. Для обеспечения полной переработки суточной нормы несъедобных растительных отходов в расчёте на одного человека необходима колония численностью 45-50 тысяч особей.

4. Урожайность пшеницы, выращенной с использованием экзосекретов тараканов *P. nigra*, не уступает контрольному варианту и достоверно превышает данный параметр в сравнении с вариантом в котором использовалась переработанная солома. Это говорит о том, что экзосекреты *P. nigra* являются перспективными органическими удобрениями для ЗСЖО.

## 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.

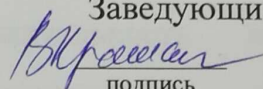
9. S. Denga, B. Xiea, H. Liu, The recycle of water and nitrogen from urine in bioregenerative life support system, *Acta Astronautica*. 123 (2016) 86–90.
10. F.J. Cadete Santos Aires, I. Kurzina, G. Garcia Cervantes, J.C. Bertolini, Pd catalysts supported on silicon nitride for the combustion of methane: 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. Wenting F. Effects of Soil-Like Substrate Made from Rice and Wheat Straw on the Growth, Yield and Quality of Wheat / F. Wenting, Y. Min, L. Hong // 17th IAA Humans in Space Symposium, 2009. P. 43.
19. Wenting F. Allelopathic effect of rice-wheat soil-like substrate on several plants / F. Wenting, Y. Min, H. Wenting, L. Hong // 17th IAA Humans in Space Symposium, 2009. P. 42.
20. Wenting H. A technique for preparing soil-like substrate for bioregenerative life support system / H. Wenting, X. Yidong, L. Hong // 17th IAA Humans in Space Symposium, 2009. P. 53.
21. Wydeven T. A survey of some regenerative physico-chemical life support technology / T. Wydeven // NASA Technical Memorandum 101004, NASA/Ames Research Center, Moffet Field, CA, 1988.
22. Tikhomirov A.A. Operation characteristics of the “SLS-higher plants” complex in the bioregenerative life support systems’ structure / A.A. Tikhomirov, S.A. Ushakova, V.V. Velichko // 17th IAA Humans in Space Symposium, 2009. P. 140
23. Peregrine, P. C. (1974). Host dietary changes and the hindgut fauna of cockroaches. *International Journal for Parasitology*, 4(6), 645–656. doi:10.1016/0020-7519(74)90029-0
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.

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 В. А. Кратасюк

подпись

«20» июня 2019 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 – Биология

06.03.01.07 – Биофизика

Создание действующей модели ускоренного биологического разложения  
растительных отходов

Руководитель



с.н.с. лаб. УБФ

С. В. Трифонов

подпись, дата

ИБФ СО РАН, к.б.н., доцент

Выпускник



подпись, дата

Я. В. Колесников

Красноярск 2019