

БИОРАЗЛОЖЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ЛИЧИНКАМИ *Zophobas morio*

Н.А. Березникова, магистрант гр. 9597, II курса

И.А. Матвеев, аспирант гр. 3959, II курс

Научный руководитель: И.В. Веженкова, к.б.н.

Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина) СПбГЭТУ «ЛЭТИ»
г. Санкт-Петербург

Аннотация.

Одним из актуальных в настоящее время вопросов является проблема накопления и переработки отходов синтетических полимеров, объемы производства которых увеличиваются с каждым годом. Одним из возможных способов, изучение которого ведется в последние годы, является использование биологических объектов, способных участвовать в разложении синтетических полимеров в процессе своей жизнедеятельности. Целью работы является изучение способности личинок *Zophobas morio* к биоразложению различных видов пластика. В процессе исследования были получены бактерии, находящиеся в пищеводе личинок. В статье приведены результаты по выживаемости групп личинок, питавшихся различными видами пластика, их способность к питанию различными видами синтетических полимеров, а также анализы экскрементов, проведенных методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье.

Методология.

В качестве тест-объектов при проведении исследования использовались личинки *Zophobas morio*. Такой выбор сделан в результате предварительного изучения данных личинок, который подтвердил, что указанные тест-объекты могут питаться некоторыми видами пластика, не переходя в состояние куколки в течение длительного времени. Личиночной стадии *Zophobas morio* присущ каннибализм, не зависящий от плотности популяции, в особенности при недостатке влаги, получаемой из пищи. В связи с этим личинка может перейти в состояние предкуколки и куколки только в безопасных для нее условиях.

В качестве кормовой базы использовались: пенополистирол, вспененный полиуритан, полиэтилен высокого давления, полиэтилен низкого давления, а также два вида полимера, входящего в состав солнечных панелей (поливинилфторид и этиленвинилацетат).

Личинки *Zophobas morio* были разделены на группы, для каждой из которых был предусмотрен свой рацион. Также была выбрана группа, которую кормили обычным кормом, и группа, подвергнутая голоданию. Все группы содержались в одинаковых условиях окружающей среды (температура от 20-24 °C, относительная влажность 60-80%). В течение месяца проводились наблюдения за колониями, подсчет живых особей, удаление мертвых, взвешивание живых личинок, а также взвешивание полимеров, для определения потери из массы.

По окончании эксперимента проводился отбор проб экскрементов для последующего анализа, были определены личинки, способные к питанию полимерами для выделения из их кишечника бактерий.

Чтобы проверить, способны ли личинки *Zophobas morio* преобразовывать поглощенные ими синтетические полимеры, использовался ИК-Фурье спектрофотометр «FTIR-8400 SHIMADZU». Определение спектра проводилось методом прессования таблеток с галогенидами щелочных металлов (смесь 1% образца и 99% KBr).

Для выделения бактерий из кишечника личинок применялась следующая методика. Извлечение кишечника производилось в стерильных условиях, с использованием стерильного инструмента. В качестве питательной среды был выбран питательный ГРМ-агар и среда Уриселект. Для проверки и подтверждения отсутствия воздействия бактерий из окружающей среды, на питательную среду помещалась предварительно простерилизованная снаружи личинка, с последующим наблюдением. Кишечник, извлеченный из наблюдаемых групп личинок, помещался в 0,9 % физраствор и центрифугировался, после чего производилось разведение раствора в различных концентрациях. Посев на питательные среды производился из всех концентраций, с последующим наблюдением за ростом колоний и выделением чистых культур. Последующее определение рода на данном этапе исследования проводилось путем проведения ПЦР-теста.

Результаты.

Данные, полученные в результате тридцатидневного эксперимента приведены в таблице 1. Особи в группах, питавшихся обычным кормом, в течение времени проведения эксперимента заметно увеличились в размерах, хотя в результате их смертность достигла 48 % от изначальной численности группы. Голодавшие личинки потеряли 83 % особей, для этой группы также был наиболее характерен каннибализм. Стоит отметить, что случаи поедания личинок друг другом наблюдались во всех группах.

Группы, которым в качестве корма был предоставлен вспененный полиуретан и полиэтилен низкого давления не проявили к ним интереса.

Для групп, которым в качестве корма был предоставлен пенополистирол (рис. 1) было характерно его измельчение, проделывание отверстий с построением нор, а также поглощение, уменьшение массы образца от изначального за время проведения эксперимента составило 28,2 %, при этом смертность личинок находилась на уровне групп, питавшихся обычным кормом.

В группах, питавшихся полиэтиленом высокого давления удалось добиться потери массы пластика до 50,4 %. Смертность личинок находилась на уровне групп, питавшихся обычным кормом. Личинки в данной группе обгладывали листы полиэтилена с краев, что было хорошо заметно визуально (рис. 2).

Материал, входящий в состав солнечных панелей, такой как этилевиниллацетат (рис. 3), также вызвал интерес у группы личинок, которым он был предоставлен в качестве кормовой базы. Смертность среди личинок за время

эксперимента составила 64 %. Потеря массы полимера от изначальной составила 44,4%, однако стоит отметить, что такие показатели были достигнуты на 6-й день эксперимента. Дальнейшее взвешивание образца оказалось невозможным, в связи с тем, что личинки раздрабливая и поедая большие куски материала, в процессе пищеварения преобразовывали их в мелкие шарики, сравнимые с фекалиями.

Другой полимерный материал из разобранной солнечной панели – поливинилфторид, по всей видимости был загрязнен, имел стойкий химический запах и оказался токсичен для личинок *Zophobas morio*. Смертность в группах личинок, которым он был предоставлен в качестве корма достигла 96 %, при этом потеря массы пластика составила 0,6 %.

Таблица 1 – Полученные результаты

Кормовая база	Смертность ли-чинок, %	Потеря массы ли-чинок, %	Потеря массы по-лимера, %
Пенополистирол	52	50,7	28,2
Вспененный по-лиуретан	56	51,6	Не отмечено
Полиэтилен вы-сокого давления	58	54,3	50,4
Полиэтилен низ-кого давления	58	53,6	Не отмечено
Поливинилфто-рид	96	95,6	0,6
Этиленвинилаце-тат	64	68,4	44,4
Обыкновенный корм	48	31,1	-
Голод	83	81,5	-

До эксперимента



Спустя 30 дней
после эксперемента



Рис. 1 -
Пенополистирол



Рис. 2 –
Полиэтилен
высокого
давления



Рис. 3 -
Этиленвинаилацетат

На момент написания статьи анализ фекалий, при помощи инфракрасной Фурье спектроскопии, проведен для групп, питавшихся пенополистиролом. На рисунке 5 представлен полученный спектр. Отсутствие пиков поглощения на волновых числах больше 3000, а также на волновых числах 1492,8 и 1454,2 может указывать на отсутствие пенополистирола в фекалиях.

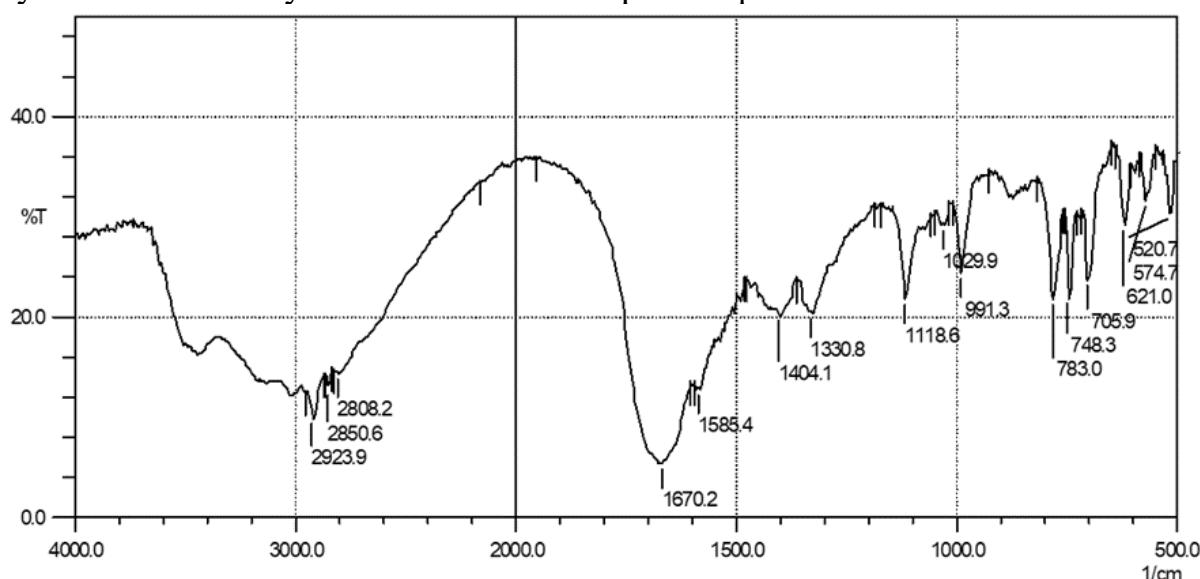


Рисунок 4 – Инфракрасный спектр экскрементов личинок, питавшихся
пенополистиролом

На момент написания статьи были получены колонии бактерий, извлеченные из кишечника личинок для дальнейшего посева и проведения ПЦР-тестов (рис. 5). Дальнейшее исследование будет проводиться путем посева бактерий на без углеродную среду, с размещением на ней фрагментов синтетических полимеров, с последующим наблюдением возможности роста и взаимодействия бактерий с материалом.



Рисунок 5 – колонии бактерий, полученных из кишечника личинок.

Выводы

Было проведено исследование возможности переработки различных видов полимерных материалов личинками *Zophobas morio*. Получены результаты, согласно которым личинки способны поглощать и переваривать эти материалы. Была выработана методика получения бактерий из кишечника личинок. Дальнейший ход исследования определен и требует продолжения.

Список литературы:

1. Elkin I. Gutierrez-Velasquez, Sergio Neves Monteiro, Henry A. Colorado/ Characterization of expanded polystyrene waste as binder and coating material/ Case Studies in Construction Materials, Volume 16, 2022.
2. Lee HM, Kim HR, Jeon E, Yu HC, Lee S, Li J, Kim D-H. Evaluation of the Biodegradation Efficiency of Four Various Types of Plastics by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from the Gut Extract of Superworms. Microorganisms. 2020; 8(9):1341. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091341>.
3. Low-density polyethylene sheet biodegradation by *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* larvae and metagenome studies on their gut bacteria / Octavia B., Rakhmawati A., Rachmani L., и др. // Biodiversitas. 2023, вып. (2) 24. С. 878–886.
4. Тарасевич Б.Н. Основы ИК спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК спектроскопии: учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ, 2012. 22 с.
5. Insights into plastic biodegradation: community composition and functional capabilities of the superworm (*Zophobas morio*) microbiome in styrofoam feeding trials / Sun J., Prabhu A., Aroney S.T.N. и др. // Microbial genomics. 2022, вып. (6) 8. С. 1–19.
6. Yang Y., Wang J., Xia M. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating superworms *Zophobas atratus* // Science of the Total Environment. 2019, вып. 708. С.1–24.