

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ТА НЕШКІДЛИВОСТІ ДЕЗІНФЕКТАНТІВ ШИРОКОГО СПЕКТРУ ДІЇ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БОВЕРІОЗУ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА

**Войтенко В. І., Бабасєва Г. І., Вовк Д. В.,
Дегтяр І. І., Степанов В. В., Пастухова Т. А.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: g.babaeva52@gmail.com

Одним з основних завдань інтенсифікації шовківництва в умовах ринкової економіки є розробка і впровадження ефективних способів підвищення збереженості (життєздатності) шовкопряда щодо інфекційних та інвазійних хвороб, поширених у шовківницьких регіонах світу, зокрема в Україні. Дослідженнями шовкопряда на усіх стадіях розвитку, особливо на стадіях грени і гусениці, встановлено їх зараженість ентомопатогенними бактеріями різних видів та їх асоціаціями, а також грибом боверіозу і вірусом ядерного поліедрозу, які передаються наступним стадіям його розвитку, зберігаючи замкнутий епізоотичний ланцюг. З урахуванням зазначеного, у статті висвітлено результати різних режимів застосування препаратів широкого спектру дії для знезараження грени шовковичного шовкопряда (*Bombyx mori* L.) щодо збудника боверіозу: препарату ДЗПТ-2 у концентрації 1,5 % за експозиції 15 хв та 2,0 % за експозиції 10 хв, а також препарату Ізатізон у концентраціях 0,05 і 0,1 % за експозиції 10 та 5 хв відповідно. Препарати широкого спектру дії ДЗПТ-2 та Ізатізон сприяють підвищенню показника відродження (життєздатності) грени шовковичного шовкопряда, загальної життєздатності гусениць на 4,6 %, урожаю коконів — на 10 %, зменшенню кількості коконів-«глухарів» — на 5–8 % та підвищенню стійкості шовковичного шовкопряда щодо збудника боверіозу — на 6–8 %

Ключові слова: *Bombyx mori* L., *Beauveria bassiana*, грена, життєздатність, дезінфекція

Шовковичний шовкопряд (*Bombyx mori* L.) — це пойкилотермний (холоднокровний) організм, тобто температура його тіла залежить від температури навколишнього середовища. Саме тому він дуже чутливий до змін кліматичних умов (температури, вологості, освітлення) та до впливу різних патогенних чинників. Інфекційні (вірусні, бактеріальні, грибові) та інвазійні (паразитарні) хвороби часто стають причиною масової загибелі шовкопрядів на всіх стадіях розвитку — від грени (яєць) до метелика. Це, своєю чергою, негативно впливає на виробництво натурального шовку: зменшується кількість коконів, а також погіршується їхня якість (тонкість, міцність і блиск нитки) [1]. Однією з основних причин зниження життєздатності та продуктивності шовковичного шовкопряда є інфекційні та інвазійні хвороби, які широко поширені в шовківницьких регіонах світу, у тому числі й в Україні [2]. До зазначених хвороб, а також до несприятливих умов довкілля та впливу стресових чинників шовкопряд, як пойкилотермний організм, є надзвичайно чутливим. Установлено, що збудники цих захворювань стійкі та патогенні, і уражують шовкопряда на всіх стадіях його розвитку, зберігаючи замкнутий епізоотичний ланцюг: грена → гусениці → метелики → грена. На основі цих даних визначено тісний позитивний кореляційний зв'язок між відсотком хворих метеликів загалом, і боверіозом зокрема, та сонячною активністю (СА) [3]. Отже, ураховуючи особливості шовкопряда як біологічного об'єкта з коротким циклом розвитку, необхідно постійно контролювати епізоотичний стан, своєчасне виявлення захворювань і проведення профілактичних заходів боротьби з інфекціями [4, 5]. Для отримання органічної продукції з шовківництва перспективним є використання природних сполук імуностимулюючої дії для підвищення життєздатності шовкопряда.

Одним з основних напрямів роботи було розроблення ефективних режимів застосування нових дезінфекційних препаратів широкого спектру дії для знезараження грени шовковичного шовкопряда.

На ринку дезінфектантів представлено досить широкий асортимент ефективних дезінфікуючих засобів як вітчизняного, так і імпортного виробництва. Проте найбільш надійними для роботи з максимально забрудненими об'єктами ветеринарного нагляду за існуючих в Україні кліматичних умов виявилися дезінфектанти — Ізатізон та «ДЗПТ-2».

Препарат Ізатізон (патент України № 1786) — комплексний, протівірусний, антибактеріальний, антигрибковий і імуномодуючий препарат широкого спектра дії, що забезпечує високий лікувально-профілактичний, протизапальний і антигістамінний ефекти, підвищує резистентність організму тварин. За аерозольного застосування препарат легко проникає через біологічні бар'єри, блокує репродукцію вірусів, пригнічує розмноження патогенних мікроорганізмів [6].

Препарат «ДЗПТ-2» (реєстраційне посвідчення АВ-02329-03-11 від 03.02.2017 р.) [7] — з імуномодуючою дією, володіє широким спектром біоцидної дії, застосовується для боротьби та профілактики інфекційних захворювань сільськогосподарських тварин та птиці у загальному комплексі протиепізоотичних заходів [8].

Враховуючи зазначене необхідно провести вивчення ефективності та безпечності дезінфекційних препаратів широкого спектру дії ДЗПТ-2 та Ізатізон на стійкість шовковичного шовкопряда до збудника боверіозу за умови обробки греди перед інкубацією водним розчином зазначених препаратів. Такі властивості стають можливими завдяки знищенню збудника боверіозу на поверхні греди, так як при прогризанні гусеницею шкаралупи яйця при народженні, збудник потрапляє до її кишково-травного тракту [9].

Таким чином, актуальність дослідження зумовлена необхідністю випробування сучасних доступних протимікробних препаратів на стадіях греди та гусениці шовковичного шовкопряда для подальшого створення ефективних методів боротьби з ними.

Мета роботи — встановити ефективні регламенти застосування ДЗПТ-2 та Ізатізон для знезараження греди шовковичного шовкопряда, експериментально зараженої збудником боверіозу та їх вплив на розвиток комах на різних стадіях.

Матеріали та методи. Для визначення бактерицидної дії досліджуваних препаратів Ізатізон та ДЗПТ-2 *in vitro* застосовували метод батистових тест-об'єктів (загальноприйнятий розмір — 5×10 мм). Дослідні та контрольні батистові тест-об'єкти, а також грену шовковичного шовкопряда інфікували бактеріальною суспензією з концентрацією 1 млрд клітин/см³ за експозиції 20 хв.

Як тест-об'єкти для контамінації суспензією гриба *Beauveria bassiana* (збудника боверіозу) використовували:

— батистові тест-об'єкти із застосуванням поживних середовищ;

— грену (яйця) шовковичного шовкопряда порід Б-2 поліпшена, Мерефа 6 та Українська 15.

Інфікували дослідні та контрольні батистові тест-об'єкти і грену суспензією гриба боверіозу (10, 100, 500 тис. спор/см³) за експозиції 30, 60 хв і після видалення залишків вологи (суспензії) тест-об'єкти і грену переносили в стерильні чашки Петрі з фільтрувальним папером і підсушували в термостаті за температури 37 °С протягом 20 хв. Потім грену, зав'язану в стерильні марлеві рихлі вузлики та батистові тест-об'єкти знезаражували.

Для їх знезараження використовували препарати Ізатізон та ДЗПТ-2 концентраціями від 0,05 до 3,0 % (з інтервалом 0,5 %) та за експозиції від 5 до 60 хв (з інтервалом 5 хв).

У пробірки з відповідним розчинами були внесені контаміновані мікроорганізмами тест-об'єкти і гrena та витримувалися до закінчення експозиції, промивання здійснювали двічі, щоразу у змінюваній воді. Об'єднану відмивну рідину витримували 30 хв, після чого зливали надосадову частину, а з осаду проводили висів по 1,0 мл рідини на м'ясо-пептонний бульйон (МПБ). Для дослідних і контрольних зразків висіви проводили у трикратному повторенні. Інкубацію здійснювали протягом 48 год за температурі 37 °С.

Як контроль використовували стерильну воду.

Ефективність препаратів Ізатізон та ДЗПТ-2 оцінювали за наявністю чи відсутністю росту мікроорганізмів. Позитивним вважали той препарат і режим застосування, який забезпечував зниження мікробного обсіменіння тест-об'єктів і греди не менше ніж на 99 % (за наявності росту тест-культур у висівах контрольних тест-об'єктів і греди) [5].

Найбільш ефективні препарати у перспективних концентраціях та експозиціях були додатково випробувані *in vivo* з метою оцінки їх нешкідливості. Оцінювання проводили шляхом визначення життєздатності гсени, зокрема, дружність її оживлення та загального відсотка виходу (відродження) гсениць шовкопряда. Повторність досліду становила чотириразову, по 100 яець у кожному варіанті. Надалі проводили контрольну вигодовлю: дослідні та контрольні варіанти мали триразову повторність, по 50 мг гсениць-«мурашів» у кожній.

Проведення досліджень здійснювали на основі методичних вказівок [10] і прийнятих методик, описаних у відповідній науковій літературі [11,12].

При виконанні експериментальних досліджень приведених в роботі з шовковичним шовкопрядом враховували основні принципи біоетики, режим годівлі гсениць, зміну підстилки, показники: життєздатність шовкопряда (%), урожай коконів з 1 г гсениць (кг), сортових коконів (%), кількість коконів-«глухарів» (%). Розрахунок основних біологічних і технологічних показників шовкопряда проводили відповідно до загальноприйнятих методика також дотримання санітарно-гігієнічних норм здійснювали відповідно до діючих правил [13].

Результати. За результатами досліджень встановлено, що препарати ДЗПТ-2 та Ізатізон проявляють бактерицидну активність проти асоціації збудників бактеріозів шовкопряда при обробці контамінованих батистових тест-об'єктів та визначено їх на предмет нешкідливості для стадії гсени шовковичного шовкопряда з визначенням її життєздатності, зокрема загального відсотку виходу (відродження) гсениць.

Таблиця 1 — Аналіз ефективності застосування препаратів ДЗПТ-2 та Ізатізон стосовно збуднику боверіоза шовкопряда

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв	Результати впливу препарату
ДЗПТ-2	1,5	5	—
		10	±
		15	+
	2,0	5	—
		10	+
		15	+
Ізатізон	0,05	5	±
		10	+
	0,1	5	+
		10	+
Контроль: стерильна вода		30	—

Примітки: «+» — розвиток мікроорганізмів у поживному середовищі не виявлено; «±» — частковий розвиток мікроорганізмів у поживному середовищі; «—» — виявлено розвитку мікроорганізмів у поживному середовищі.

Отримані результати свідчать, що зазначені препарати в досліджуваних концентраціях не чинять шкодочинної дії на стадії гсени. Так, при знезараженні гсени препаратом ДЗПТ-2 вихід гсениць становив 94,53 % за концентрації 1,5 % (експозиція 15 хв) і 96,82 % — за концентрації 2,0 % (експозиція 10 хв) (табл. 2).

Аналогічні результати було отримано й при застосуванні препарату Ізатізон. Вихід гсениць із знезараженої гсени за обробки препаратом у концентрації 0,05 % протягом 10 хв становив 92,51 %, а за концентрації 0,1 % при експозиції 5 хв — 95,04 %, що перевищує показники контролю (стерильна вода), у якого цей показник становив 90,34 %.

У весняний період було проведено контрольну вигодовлю гсениць, отриманих зі знезараженої препаратами ДЗПТ-2 та Ізатізон гсени.

Результати визначення дружності й загального відсотку за основні дві доби масового відродження гсениць із гсени, а також разом за три доби, обробленої перспективними препаратами ДЗПТ-2 та Ізатізон, свідчать, що зазначені у відміченій таблиці показники є досить високими і практично на рівні контролю, особливо у першу добу (табл. 3).

Таблиця 2 — Вплив препаратів ДЗПТ-2 та Ізатізон на життєздатність греди шовковичного шовкопряда

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв	Життєздатність греди, %
ДЗПТ-2	1,5	5	91,00 ± 0,42
		10	92,15 ± 0,24
		15	94,53 ± 0,11 ¹⁾
	2,0	5	89,96 ± 1,09
		10	96,82 ± 0,19 ¹⁾
		15	91,30 ± 0,67
Ізатізон	0,05	5	89,14 ± 0,31
		10	92,51 ± 0,12 ¹⁾
		15	91,10 ± 0,26
	0,1	5	95,04 ± 0,12 ¹⁾
		10	93,17 ± 0,18
		15	92,31 ± 0,25
Контроль: стерильна вода	—	30	90,34 ± 0,33

Таблиця 3 — Відродження гусениць із греди шовковичного шовкопряда

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв	Доба і відсоток відродження гусениць із греди				
			1-ша доба	2-га доба	Усього за 2 доби	3-тя доба	Усього за 3 доби
ДЗПТ-2	1,5	15	91,3 ± 1,6	3,5	92,3 ± 1,3	0,7	93,5 ± 1,0
	2,0	10	92,8 ± 0,7	0,5	93,3 ± 0,9	0,3	93,6 ± 1,0
Ізатізон	0,05	10	92,3 ± 0,8	0,5	92,8 ± 0,8	1,0	93,8 ± 0,5
	0,1	5	92,8 ± 2,1	1,3	94,1 ± 0,7	0,3	94,4 ± 0,6
Контроль (стерильна вода)	—	30	92,5 ± 0,7	0,3	92,8 ± 0,5	1,3	94,3 ± 0,9

Позитивним є також нешкідливість препаратів ДЗПТ-2 і Ізатізон для греди шовкопряда, зокрема відродження з неї гусениць за основну першу добу, оскільки показник її життєздатності щодо ДЗПТ-2 (концентрація 2,0 %, експозиція 10 хв) складає 92,8 % (в контролі 92,5 %). Загальний відсоток відродження гусениць із греди за дві доби становив — 93,3 і 94,1 % відповідно (у контролі 92,8 %). У результаті аналізу зведених даних щодо визначення нешкідливості ДЗПТ-2 і Ізатізон для гусениць, отриманих із обробленої цими препаратами греди, встановлено, що показники їхньої життєздатності та урожаю, сортності і шовконосності коконів є досить високими і не поступаються контролю.

Результати вигодовлі гусениць, отриманих із греди, обробленої препаратами ДЗПТ-2 і Ізатізон, також підтверджують їхню нешкідливість (табл. 4), оскільки показники життєздатності щодо ДЗПТ-2 і Ізатізон складають 96,00–97,33 та 96,67–98,00 % відповідно, урожаю коконів 4,15–4,18 і 4,16–4,18 кг/г гусениць та їх сортності 94,43–94,50 і 94,47–95,24 %, які не поступаються контролю.

Таким чином, застосування дезінфекційних препаратів широкого спектру дії ДЗПТ-2 та Ізатізон дозволяє підвищити загальну життєздатність гусениць на 4,6 %, урожай коконів — на 10 %, зменшити кількість коконів-«глухарів» — на 5–8 % та підвищити стійкість шовковичного шовкопряда щодо збудника боверіозу — на 6–8 %.

Отже, використання препаратів ДЗПТ-2 та Ізатізон значно підвищує властивості стійкості до збудника боверіозу шовковичного шовкопряда у разі обробки ним греди перед інкубацією водним розчином. Такі властивості стають можливими завдяки знищенню збудника боверіозу на поверхні греди, так як при прогризанні гусеницею шкаралупи яйця при народженні, збудник потрапляв до її кишково-травного тракту. Спосіб призначений для використання в сільському господарстві, зокрема в галузі шовківництва.

Таблиця 4 — Результати визначення нешкідливості препаратів ДЗПТ-2 і Ізатізон для гусениць шовкопряда на вигодівлях

Препарат	Концентрація, %	Експозиція, хв	Життєздатність гусениць, %	Урожай коконів з 1 г гусениць, кг	Сортових коконів, %	Середня маса кокона, г	Шовконосність коконів, %
ДЗПТ-2	1,5	15	96,00 ± 1,15	4,15 ± 0,01	94,43 ± 0,75	1,96 ± 0,03	18,31 ± 0,15
	2,0	10	97,33 ± 1,76	4,18 ± 0,02	94,50 ± 0,75	1,96 ± 0,03	18,32 ± 0,16
Ізатізон	0,05	10	96,67 ± 1,33	4,16 ± 0,01	94,47 ± 0,72	1,95 ± 0,02	18,32 ± 0,02
	0,1	5	98,00 ± 1,50	4,18 ± 0,02	95,24 ± 0,74	1,96 ± 0,01	18,35 ± 0,19
Контроль (стерильна вода)	—	30	97,33 ± 0,67	4,18 ± 0,02	94,50 ± 1,42	1,95 ± 0,01	18,24 ± 0,06

Висновки. 1. Результати досліджень свідчать про високу ефективність препаратів ДЗПТ-2 (1,5 % за експозиції 15 хв та 2,0 % за 10 хв) і Ізатізону (0,05 % за 10 хв та 0,1 % за 5 хв) у підвищенні показника відродження (життєздатності) гусениць шовковичного шовкопряда.

2. Визначено, що обидва препарати ефективні для знезараження гусениць без значного зниження життєздатності ембріонів. Оптимальними умовами можна вважати обробку препаратом ДЗПТ-2 у концентрації 2,0 % протягом 10 хв, що забезпечує найвищий відсоток виходу гусениць (96,8 %).

3. Застосування дезінфекційних препаратів широкого спектру дії ДЗПТ-2 та Ізатізон дозволяє підвищити загальну життєздатність гусениць на 4,6 %, урожай коконів — на 10 %, зменшити кількість коконів-«глухарів» — на 5–8 % та підвищити стійкість шовковичного шовкопряда щодо збудника бовверіозу — на 6–8 %.

Список літератури

1. INSERCO Statistics. *International Sericultural Commission*. URL: <https://www.inserco.org/en/statistics>.
2. *Bacsa Black, Caspian Seas and Central Asia Silk Association (BACSA) Proceedings*. URL: <https://www.bacsa-silk.org/en/principles-of-work-organization/>.
3. Литвин В. М., Дмитрієва О. В., Терновська Н. І. Зв'язок захворюваності метеликів шовковичного шовкопряда з сонячною активністю. *Ветеринарна медицина*. 2016. Вип. 102. С. 205–207. URL: https://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/102/4_55.pdf.
4. Tzenov P., Grekov D. Research achievements and future trends of the silkworm *Bombyx mori* L. breeding work in Bulgaria. *Proceedings of the Recent Trends in Seribiotechnology — ICTS*. 2008. Р. 43–54.
5. Кириченко І. А. Основные инфекционные болезни тутового шелкопряда в Украине и меры борьбы с ними. Харьков : РИП «Оригинал», 1998. 208 с.
6. Потопальський А. І., Лозюк Л. В., Бессарабов Б. П., Миролюбова А. М., Алексеєнок А. Я., Кит В. І. Препарат і спосіб боротьби з вірусними хворобами тварин : пат. на винахід 1786 Україна : МПК А61К 31/175. № 3306349 ; заявл. 22.07.1981 ; опубл. 25.10.1994, Бюл. № 3.
7. Палій А. П., Стегній Б. Т., Завгородній А. І., Гужвинська С. О. Сучасний дезінфікуючий препарат для ветеринарної медицини. *Ветеринарна медицина*. 2017. Вип. 103. С. 63–65. URL: https://jvm.kharkov.ua/sbornik/103/1_16.pdf.
8. Ярошенко М. О., Завгородній А. І., Палій А. П., Балим Ю. П. Фунгіцидні властивості дезінфікуючого препарату «ДЗПТ-2». *Ветеринарна медицина*. 2012. Вип. 96. С. 179–184. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2012_96_72.
9. Tzenov P. Silkworm *Bombyx mori* L. selection and breeding in Bulgaria recent achievements. *Proceedings of the ASEAN Sericulture Conference 2010 and ASEAN Silk Fabric and Fashion Design Contest 2010*, Nontaburi, 22 August 2010. 2010.
10. Шовківництво / В. О. Головка, О. З. Злотин, М. Ю. Браславський та ін. Харків : РВП «Оригинал», 1998. 416 с.
11. Чепур С. С. Біометрія : методичний посібник. Ужгород : Говерла, 2015. 40 с.
12. Барановський Д. І., Гетманець О. М., Хохлов А. М. Біометрія в програмному середовищі MS Excel : навчальний посібник. Харків : СПД ФО Бровін О. В., 2017. 90 с.
13. Практичний посібник по шовківництву: довідник / І. О. Кириченко та ін. Київ : Урожай, 1991. 144 с.

**STUDY OF THE EFFECTIVENESS AND SAFETY OF BROAD-SPECTRUM
DISINFECTANTS IN EXPERIMENTAL BEAUVERIOSIS OF MULBERRY SILKWORMS**

**Voitenko V. I., Babaeva G. I., Vovk D. V.,
Degtyar I. I., Stepanov V. V., Pastukhova T. A.**
*National Scientific Center "Institute of Experimental
and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine*

One of the primary tasks in intensifying sericulture in a market economy is to develop and implement effective methods for increasing the survival rate (viability) of silkworms, particularly in regions affected by infectious and invasive diseases common in sericulture areas worldwide, such as Ukraine. Studies of silkworms at all stages of development, especially at the egg and caterpillar stages, have established their infection with entomopathogenic bacteria of various species and their associations, as well as with the fungus *Beauveria bassiana* and the nuclear polyhedrosis virus, which are transmitted to the next stages of their development, maintaining a closed epizootic chain. Considering the above, the article highlights the results of various modes of application of broad-spectrum drugs for disinfecting silkworm (*Bombyx mori* L.) cocoons against the causative agent of boveriose: DZPT–2 at a concentration of 1.5% for 15 minutes of exposure and 2.0% for 10 minutes of exposure, as well as Isatizon at concentrations of 0.05 and 0.1% for 10 and 5 minutes of exposure, respectively. The broad-spectrum preparations DZPT–2 and Isatizon contribute to an increase in the revival rate (viability) of silkworm eggs, the overall viability of caterpillars by 4.6%, cocoon yield by 10%, reduce the number of inside-stained cocoons by 5–8%, and increase the resistance of silkworms to the causative agent of beauveriosis by 6–8%

Keywords: *Bombyx mori* L., *Beauveria bassiana*, eggs, disinfection, viability