



UDK: 636.082.638.24 (575.3)

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ КОМБИНАЦИИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СЛАБОЗАРАЖЕННУЮ ПЕБРИНОЙ ГРЕНУ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Исматуллаева Дилорам Адилевна,
доктор сельскохозяйственных наук,
заведующая лабораторией,
e-mail: ismatullayeva1972@mail.ru;
ORCID: 0000-0002-5607-4784

Зияева Якут Мардоновна,
старший научный сотрудник;
ORCID: 0000-0001-9840-6612

Бегматов Тоир Мухторович,
докторант;
e-mail: begmatovtoir1@gmail.com;
ORCID: 0000-0002-8127-8703

Ачилов Шавкат Икрамович,
ведущий специалист,
ORCID: 0000-0002-7348-0346

Научно-исследовательский институт шелководства

Аннотация. Из всех инфекционных болезней, существующих у тутового шелкопряда, пембрина является особо опасной. Опасность заключается в трансвариальной передаче возбудителя. Болезнь поражает все фазы развития тутового шелкопряда и передается следующему поколению через яйцо (грена). Целью данного исследования является изучение действия комбинации фармацевтических препаратов на слабозараженную пембриной греной тутового шелкопряда. В результате проведенных исследований показатели зараженности в опытных вариантах выразились в 8,0-14,7 %. При обработке грены обычной водой без воздействия на них химическим фактором зараженность в контрольном варианте составила 27,6 %. Наилучший эффективный результат определяется в вариантах Метронидазол 500 мг + Ципрофлоксацин 500 мг – зараженность 8,0 % и Метронидазол 500 мг + анолит – зараженность составила 9,5 %. Это свидетельствует о том, что испытанные комбинации препаратов в значительной степени оказали пагубное действие на возбудителя нозематоза, что выразилось в снижении зараженности пембриной подопытного материала.

Ключевые слова: тутовый шелкопряд, гусеницы-оживленцы, пембрина, спора, грена (яйца), оживление.

ПЕБРИНА БИЛАН ЗАРАЛЕНИШ ДАРАЖАСИ КАМ БЎЛГАН ТУТ ИПАК ҚУРТИ УРУҒЛАРИГА ФАРМАЦЕВТИК ПРЕПАРАТЛАР КОМБИНАЦИЯЛАРИ ТАЪСИРИНИ ЎРГАНИШ

Исматуллаева Дилорам Адилевна,
кишлоқ хўжалиги фанлари доктори,
лаборатория мудири;



Зияева Якут Мардановна,
катта илмий ходим;

Бегматов Тоир Мухторович,
таянч докторант;

Ачилов Шавкат Икромович,
етакчи мутахассис

Ипакчилик илмий-тадқиқот институти

Аннотация. Тут ипак қуртининг энг хавфли касалликларидан бири небрина ҳисобланади. Унинг хавфлилиги касаллик қўзғатувчисининг трансовариал йўл билан зарарланишида. Касаллик қуртнинг ҳамма ўсиш даврида юқади ва кейинги авлодга уруғ орқали ўтади. Бу тадқиқотнинг мақсади зарарланиш даражаси кам бўлган тут ипак қуртининг уруғига фармацевтик препаратлар комбинациялари таъсирини ўрганиш. Ўтказилган тадқиқотлар натижасига кўра, тажриба вариантларида зарарланиш кўрсаткичи 8,0-14,7 %ни ташиқил қилди. Тут ипак қуртининг уруғига оддий сув билан ишлов берилган вариантда (назорат варианты) зарарланиш даражаси 27,6 %ни ташиқил этди. Энг яхши кўрсаткич Метронидазол 500 мл + Ципрофлоксацин 500 мг да зарарланиш – 8,0 % ва Метронидазол 500 мг + анолитда зарарланиш 9,5 %ни ташиқил этди. Бу комбинациядаги препаратларни қўллаш натижасида нозематоз касаллигини келтириб чиқарувчига таъсири кучлироқ бўлгани ва небрина билан касалланиш анча камайгани аниқланди.

Калит сўзлар: тут ипак қурти, жонланган қурт, небрина, спора, уруғ (тухум), жонланиш.

EXPLORING THE EFFECTS THE COMBINATION OF PHARMACEUTICAL PREPARATIONS HAVE ON THE SILKWORM GRENA SLIGHTLY AFFECTED WITH PEBRINE

Ismatullaeva Diloram Adilovna,
Doctor of Agricultural Sciences,
Head of Laboratory;

Ziayeva Yakut Mardanovna,
Senior Researcher;

Begmatov Toir Mukhtarovich,
Doctoral Student;

Achilov Shavkat Ikramovich,
Leading Specialist

Research Institute of Sericulture

Abstract. Of all the infectious diseases that exist in the silkworm, pebrine is especially dangerous. Its particular danger lies in the transovarian transmission of the pathogen. The disease affects all phases of the silkworm development and is transmitted to the next generation through eggs (grena). The aim of this research is to study the impacts combinations of pharmaceutical preparations may have on the silkworm eggs' house that has been slightly infected with the pebrine. As a result of the implemented research, the infection rates in the test cases were expressed in 8,0-14,7 %. Treatment of grena with normal water containing no chemical factor, resulted in 27,6% of contamination in the test case. The best effective result is determined in the options of Metronidazole 500 mg + Ciprofloxacin 500 mg - contamination 8,0 % and Metronidazole 500 mg + anolyte - with 9.5% of



contamination. This indicates that tested combinations of drugs have largely affected the causative agent of nosematosis, which is reflected in a reduced contamination of the test material with the pebrine.

Keywords: silkworm, caterpillars, pebrine, spore, grena (eggs), revival.

Введение

Из всех инфекционных болезней, существующих у тутового шелкопряда, пембина является особо опасной. Особая опасность заключается в трансовариальной передаче

возбудителя. Болезнь поражает все фазы развития тутового шелкопряда и передается следующему поколению через яйцо (грену) [1, с. 91].

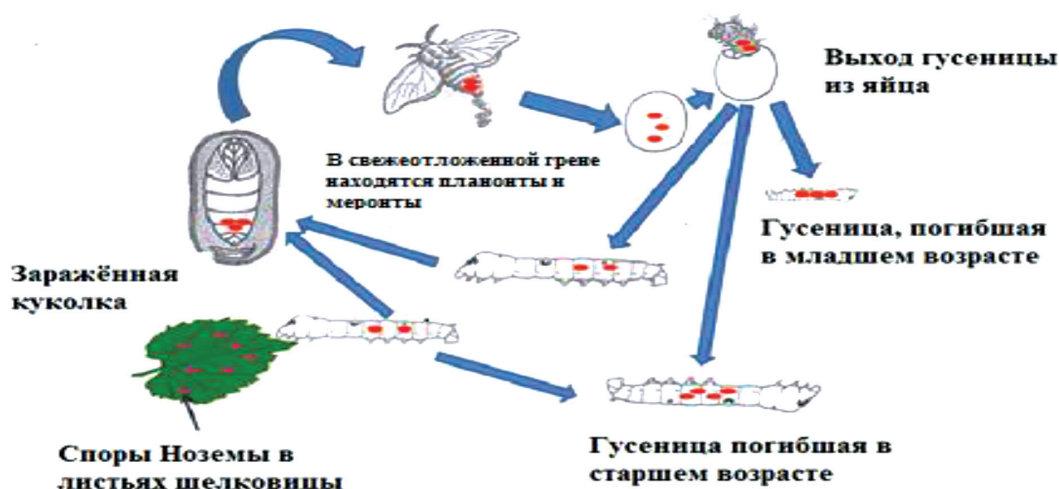


Рис. 1. Трансовариальное инфицирование тутового шелкопряда пембиной

При анализе литературы по использованию фармацевтических средств выяснилось, что делались попытки использовать различные средства против разных болезней полезных насекомых [2, с. 421-425; 3, с. 1-2; 4, с. 104-108].

Р. Мадатов, В. Мерсчиев [5, с. 26-29] испытывали ряд лекарственных средств и нашли, что наиболее эффективны против нозематоза пчел сульфацил натрия, мономицин и комбинации сульфацил натрия с мономицином или хлортетрациклином. При обнаружении признаков нозематоза пчел перегоняют из грязных ульев в чистые. Грязные ульи промывают 2%-м раствором соляной щелочи или 2%-м горячим раствором кальциевой соды до полной их очистки от загрязнения.

Эффективным методом лечения нозематоза является кормление пчел сиропом с антибиотиком фузидатом. Антибиотик

смешивают с сахарным сиропом, соблюдая пропорции указанные в инструкции к препарату [6, с. 43-44].

Для дезинфекции стенок и дна улья используют прожигание огнем паяльной лампы. Инвентарь и оборудование (кроме сот с пергой и медом) дезинфицируют газом. Споры теряют жизнеспособность при обработке окисью этилена (1000 мг/л, экспозиция 48 часов при температуре 43 °С) или смесью оксида этилена и бромид метила (ОКБЭМ) в соотношении 1 : 25 (1500-2000 г/м³, экспозиция 72 часа при температуре 10-20 °С и относительной влажности 36-89 %) [7, с. 356-365].

Определенный эффект при нозематозе пчел получен при применении азоловых препаратов (метронидазол, толтразурил и др.) эметина, формицина Б., настойки полыни горькой [8, с. 52-53].



Использование селеновых препаратов «Триовит» или «Витрум» в качестве подкормки медоносных пчел весной и летом повышают их воспроизводство, жизнеспособность, их активность, следовательно, производство меда на 17 %. Авторы считают, что аналогичный опыт можно провести с шелкопрядами. Если гусеницы будут получать селен, то больше будет яйцекладка у бабочек шелкопряда, следовательно, гусеницы будут более энергичными, жизнеспособными, коконы по массе будут больше [9, с. 288-290; 10, с. 36].

Работ по использованию фармацевтических средств с целью повышения качества грены тутового шелкопряда неоправданно мало, и появились они в основном в конце прошлого столетия [11, с. 56-61; 12, р. 1-9; 13, с. 73-79; 14, 296 с.].

Несмотря на огромный материальный ущерб, который наносит шелководству пембрина, исследования по данному очень нужному вопросу скудны и отрывочны.

Одной из наиболее весомых работ в этом направлении явилась работа сотрудников института микробиологии Армении [15, с. 3; 16, с. 166-177]. Указанными авторами испытано на зараженной грени более 28 антибиотиков. Испытание препаратов проводилось на зараженной грени в период начала зимовки – в декабре и показало, что ни один из препаратов не обладает противопембринозным действием. Причина полученного отрицательного вывода в исследованиях армянских микробиологов заключается в недостаточном знании биологии развития тутового шелкопряда и его облигатного паразита – возбудителя пембрины. В период начала зимовки грены зародыш и вместе с ним возбудитель пембрины находятся в стадии покоя. А стадия покоя для возбудителя пембрины представляет спорую форму, трудно уязвимую для всякого рода воздействий. Исследованиями с помощью микробиологических методов доказано, что препараты проникали в грени и в частности в ее зародыш, в дальнейшем обнаружались и в гусеницах. Поэтому предполагать о том, что препараты не проникали

в грени, не было оснований. Следовательно, причины неудачного испытания кроются в недостаточном знании хозяйно-паразитных взаимоотношений тутового шелкопряда с возбудителем пембрины.

Азербайджанские ученые, на фоне естественного заражения пембриной, для лечения данной болезни использовали препараты Фумагиллин ДЦГ 0,25 %, Ампролиум, Кокцидиовит и Байнокс в 1,5 % концентрациях [17, с. 41-44].

Испытание различных групп лекарственных средств (фармацевтических, полимерных с пролонгированным действием, антибиотиков-ионофоров и др.) на фазе грены тутового шелкопряда проведены Л.Ф. Кашкаровой, А.И. Хахановым, Л.Т. Андоскиной и др. [18, с. 66-71; 19, с. 58-60]. Указанными авторами было установлено, что из фармацевтических средств наиболее эффективными в повышении качества грены являются препараты нитрофуранового ряда и сульфаниламиды, а также их сочетания. На их основе созданы комплексные препараты с условными названиями «Нозематол-4», «Нозематол-5» [20, с. 1]. Они использовались в течение 10 лет в производстве для обработки грен с низкой степенью заражения (3 %).

Обработка грен указанными фармацевтическими средствами представляет собой качественно новый этап в шелководстве, так как позволяет сохранить и реализовать грени, забракованную Госконтролем.

Проведенные исследования внесли определенный вклад в решение проблемы, связанной с пембриной. Однако они не исчерпывают всех задач этой сложной проблемы. В частности, существует необходимость совершенствования методов диагностики. Также перспективными направлениями исследований является изучение резистентности пород тутового шелкопряда к нозематозу (с использованием традиционных методов) и генетических аспектов устойчивости тутового шелкопряда к пембрине.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследований служила зараженная пембриной грени (яйца) тугово-



го шелкопряда породы Ипакчи 3. Весной за 10 дней до начала инкубации грену вынули из холодильника, выдержали ее в течение 2 дней на подготовке (при $t^0 = +15 + 16^{\circ}\text{C}$) и после этого подвергли обработке в водных растворах испытуемых препаратов.

Обработка проводилась путем погружения грену в приготовленные растворы препаратов на 2 часа. Грену тщательно перетерли руками, чтобы она равномерно смачивалась и не содержала комочков. Затем растворы препаратов сливались, гrena раскладывалась на фильтровальную бумагу для просушивания. После просушивания грену из каждого варианта отсчитывали по 100 шт. в 3-х повторностях. Каждую повторность помещали в бумажный мешочек, на котором указывали номер варианта и повторность. Контролем к опыту служил вариант, в котором грену выдерживали в течение 2-х часов в обычной воде. Затем мешочки с греной

помещали на инкубацию в термостат при температуре 25°C и относительной влажности 75-80 %. Спустя 7-9 дней начали регистрацию выхода гусениц из грену. С этой целью подсчитывали в каждом мешочке количество грену, из которой не вышли гусеницы. Показатель выхода гусениц из грену оценивали в процентах. Затем вышедших гусениц не кормили и спустя 7-10 дней подвергли микроскопическому анализу на определение остаточной зараженности. В каждом препарате просматривали не менее 50 полей зрения.

Результаты исследования и их обсуждение

После оживления гусениц провели подсчет процента оживления, спустя 3-4 дня начали микроскопический анализ гусениц-оживленцев каждую в отдельности. В таблице приводятся результаты по проценту оживления.

Таблица

Оживляемость грену, зараженной нозематозом и обработанной препаратами (2019-2020 гг.)

№	Название препарата и концентрация или доза (мг; млн ед.)	Оживляемость грену, (среднее из 3-х повторностей), %		Разница в сравнении с контролем, % (d)	Достоверность разницы Pd
		$\bar{X} \pm S\bar{x}$	C_v		
1	Синузол 1,2 млн.ед. + Метронидазол 500 мг	$91,3 \pm 3,7$	7,0	12,3	0,999
2	Метронидазол 500 мг + Ципрофлоксацин 500 мг	$92,0 \pm 1,2$	2,3	13,0	0,999
3	Ципрофлоксацин 500 мг + живая вода (католит)	$93,2 \pm 10,5$	9,8	14,2	0,999
4	Ципрофлоксацин 500 мг + мертвая вода (анолит)	$75,0 \pm 12,8$	3,6	-4,0	0,890
5	Метронидазол 500 мг + живая вода (католит)	$95,4 \pm 10,9$	1,9	16,4	0,999
6	Метронидазол 500 мг + мертвая вода (анолит)	$79,0 \pm 15,1$	10,2	0,0	0,788
7	Контроль (вода)	$79,0 \pm 2,9$	6,2	-	-

Как видно по данным таблицы, в опытных вариантах оживляемость грену составила 75,0-95,4 %. А в контрольном варианте она выразилась в 79,0 %. При сравнении опытных вариантов с контролем во всех вариантах наблюдается значительное повышение оживляемости грену на

16,4-12,3 %, кроме вариантов 4 и 6, где антибиотики Ципрофлоксацин 500 мг и Метронидазол 500 мг были растворены в анолите (мертвая вода), что угнетающе действовало на зародыш, находящийся внутри яйца.

Наилучший показатель определяется при обработке грену препаратами Метро-



нидазол в дозе 500 мг и Ципрофлоксацин – 500 мг, растворенными в католите (живая вода), где оживляемость грены составила 93,2-95,4 %.

Таким образом, обработка грены в растворах антибиотиков благодаря антибактериальным, противомикробным, противопротозойным свойствам способствовала

снижению жизнеспособности спор, одновременно потере вирулентности возбудителя пембрины.

После определения процента оживления грены, гусеницы подверглись микроскопическому анализу для определения остаточной зараженности нозематозом.

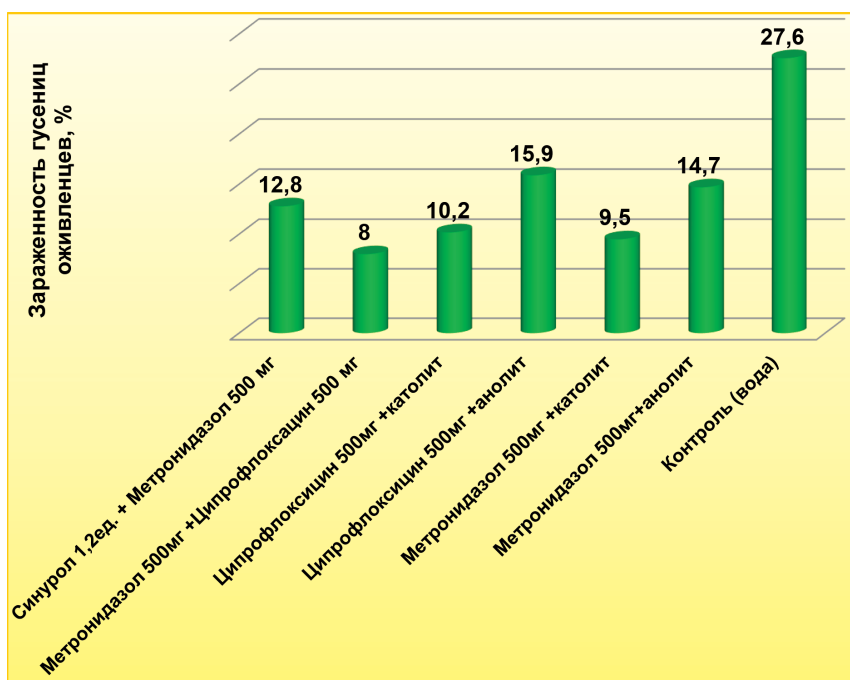


Рис. 2. Зараженность гусениц-оживленцев пембриной (2019-2020 гг.)

На рисунке 2 ясно видно, как зараженность пембриной снижается в зависимости от дозы препарата и их комбинаций, то есть эффективность действия двух препаратов повышается за счет дополнения друг друга, тем самым снижается экстенсивность заражения.

Как свидетельствуют показатели зараженности подопытного материала, в опытных вариантах она выразилась в 8,0-14,7 %. При обработке грены обычной водой без воздействия на них химическим фактором зараженность в контрольном варианте составила 27,6 %. Соответственно, наблюдается значительное снижение зараженности пембриной во всех опытных вариантах в сравнении с контролем, которое варьирует в пределах от 11,7 до 19,6 %. Это свидетельствует о том, что все испытанные фармацевтические

препараты в какой-то степени оказали пагубное действие на возбудителя нозематоза, что выразилось в снижении зараженности пембриной подопытного материала.

Выводы

Установлено, что наилучший эффективный результат определяется в вариантах 2 (Метронидазол 500 мг + Ципрофлоксацин 500 мг) – зараженность 8,0 % и в 5 варианте (Метронидазол 500 мг + анолит) – зараженность составила 9,5 %.

Учитывая то, что нозематоз – это протозойное заболевание, эффективность препарата Метронидазол и его комбинаций с Ципрофлоксацином и электроактивированной водой (анолитом), в отличие от остальных испытанных антибиотиков, выразилась благодаря наличию в них широкого спектра противомикробных, антибактериальных свойств.



REFERENCES

1. Karataj V.N. Promyshlennoe razvedenie shelkopryadov: Tekhnika inkubacii. Vykormka. s'em i sortirovka kokonov. Bolezni i vrediteli tutovogo shelkopryada. Monografiya. [Commercial breeding of silkworms: Incubation technique. Feeding, picking and sorting of cocoons. Diseases and pests of the silkworm]. Doneck: AST Stalner, 2004, 91 p. (In Russ.).
2. Patil C.S., Geethabai. Studies on the susceptibility of silkworm races to pebrine spore *Nosema bombycis* N. [J. Appl. Entomol. 108]. 1989, pp. 421-425.
3. Orbic D., Tomas E. Novi preparation u Surbijanju noseemic Fled. [New drug at Surbidzhanu Nosemic Fled] 1985, no. 104, pp. 1-2.
4. Manchev M. Prouchvane na nyakoi dezinfektanti protiv yaderna poliedriya po koprinenata piperuda (*Bombyx mori* L.) [Zhivotnovod. Nauki], 1976, vol. 13, no 3, pp. 104-108. (In Russ.).
5. Madatov R.I., Merschiev V.M. Ob effektivnosti himiopreparatov protiv nozematoza pchyol Vestnik s/h nauki Kazahstana. [On the effectiveness of chemotherapy against nosematosis in bees]. Vestnik of agricultural science of Kazakhstan, Alma-ata: 1973, no 11, pp. 26-29. (In Russ.).
6. Mukminov M.N., Ugryumova V.S., Ravilov A.Z. Jodhlirin pri mikozah pchel. Pchelovodstvo. [Yodnlorin for mycosis of bees]. Beekeeping, Tashkent, 2017, no. 1, pp. 43-44. (In Russ.).
7. Rusu J., Popa A. Experiment area fumidiluli B sea noseமாகি lui in combaterea noseমোজেi la viermil de matase, Zuerari stunt. [Stat. Centr. Apicult is sericulture]. 1965, no. 6, pp. 356-365.
8. Sohlikov A.B., Kadilina O.A. Lechenie i profilaktika nozematoza pchel. Pchelovodstvo [Treatment and prevention of nosema disease in bees]. Beekeeping, Tashkent, 2013, no. 3, pp. 52-53. (In Russ.).
9. Mahamadiyrov O.A., Turaev O.S., Bezverhov A.P., Rahmanov D.O. Ezhdnevnyaya podkormka pchel selenovymi preparatami polozhitel'no vliyaet na rost pchelinyh semej. Aktual'nye problemy proizvodstva kachestvennogo i konkurentosposobnogo kokonnogo syr'ya: Sbornik materialov Respublikanskoj nauchno-tehnicheskoy konferencii. [Daily feeding of bees with selenium preparations has a positive effect on the growth of bee colonies]. Actual problems of the production of high-quality and competitive cocoon raw materials: Collection of materials of the Republican scientific and technical conference. 24.10.2017. pp. 288-290. (In Russ.).
10. Xu J., Liu M., Huang D. Comparative transcriptome analysis of *Bombyx mori* (Lepidoptera) larval midgut response to *bmnpv* in susceptible and near-isogenics resistant strains [Climate changes and chemicals – the new sericulture challenges: Intern. Conference (BASCA) Abstracts]. Sheki. Azerbaijan, 2017, 36 p.
11. Hahanov A.I., Verbickaya G.A., Atabekova K.S. Lechebno-profilakticheskaya obrabotka greny biopreparatami dlya bor'by s pebrinoj tutovogo shelkopryada. Trudy SANIISH – Nauchnye osnovy razvitiya shelkovodstva. [Therapeutic and prophylactic treatment of Grena with biological products to combat silkworm pebrin]. Works of SANIISH - Scientific basis for the development of silkworm breeding. Tashkent, 1979, vol. 13, pp. 56-61. (In Russ.).
12. Singh T., Saratchandra B. Microsporidian disease of the silkworm, *Bombyx mori* L. [Int. J. Industry Entomology]. 2003, no. 6, pp. 1-9.
13. Ismatullaeva D., Kashkarova L.F. O vozmozhnosti ispol'zovaniya farmacevticheskikh sredstv na raznykh etapah razvitiya greny. Sbornik nauchno-prakticheskoy konferencii Nauchnye osnovy razvitiya shelkovodstva Uzbekistana. [On the possibility of using pharmaceuticals at different stages of the development of genitalia]. Collection of scientific and practical conference Scientific bases for the development of sericulture in Uzbekistan. Tashkent, 2001, pp. 73-79. (In Russ.).



14. Mihajlov E.N. Infekcionnye bolezni tutovogo shelkopryada. [Silkworm infectious diseases]. Tashkent, 1984, 296 p. (In Russ.).
15. Chil-Akopyan L.A., Bobikyan R.A., Afrikyan E.K. Primenenie antibiotikov kak sredstva dlya obezzarazhivaniya greny tutovogo shelkopryada. Nauchno-tekhnicheskij sbornik: GKK NIR. [The use of antibiotics as a means for the disinfection of silkworm grena]. Scientific and technical collection: GKK NIR. Erevan, 1962, no. 4 (8), p. 3. (In Russ.).
16. Chil-Akopyan L.A., Puchinyan L.G. Opyt primeneniya antibiotikov v bor'be s pebrinoj tutovogo shelkopryada. Voprosy mikrobiologii. [The experience of using antibiotics in the fight against silkworm kobrins]. Microbiology issues Erevan, 1966, vol. 111 (H111), pp. 166-177. (In Russ.).
17. Ahmedov E.A. Ob ispol'zovanii lekarstvennykh preparatov protiv pebriny (nozematosa) tutovogo shelkopryada v Azerbajdzhane. Agrarnaya Rossiya. [On the use of drugs against pebrine (nosematosis) of the silkworm in Azerbaijan. Agrarian Russia, Moscow, Publishing house: LLC «Folium» 2009, no. 4, pp. 41-44. (In Russ.).
18. Kashkarova L.F., Hahanov A.I. Sovremennye metody bor'by s pebrinoj tutovogo shelkopryada. Trudy SANIISH. [Modern methods of fighting silkworm pebrin]. Works of SANIISH. Tashkent, 1987, vol. 21, 66 p. (In Russ.).
19. Kashkarova L.F., Ivanickaya L.P., Korobkova T.P. Rezul'taty predvaritel'nogo ispytaniya aminoglikozidnykh antibiotikov protiv nozematoza tutovogo shelkopryada. Tr. Sredneaziat. NII shelkovodstva. [Results of a preliminary test of aminoglycoside antibiotics against silkworm nosematosis YTr. Central Asia. Research Institute of Sericulture 1988, vol. 22, pp. 58-60. (In Russ.).
20. Kashkarova L.F., Andoskina L.T., Tadzhiev E.H., Holmatov H.H., Garafutdinova E.A. Preparat dlya bor'by s pebrinoj tutovogo shelkopryada. [Silkworm Pebrin Preparation]. Patent RUz, no 3878, Tashkent, 1996, p. 1. (In Russ.).