Коэффициент изменчивости продолжительности продуктивного использования коров в линиях варьирует от 11,6 до 28.2%, что свидетельствует об относительной разнородности племенных черно-пестрых стад по анализируемому показателю. В каждой линии отмечаются быки-производители, дочери которых характеризуются также значительным продуктивным долголетием. Так, например, в линии Аннас Адема 30587 коровы быков-отцов Доллара 1229, Балагура 1175, Асхата 383 использовались по 5,43 лактации, что значительно выше, чем по коровам-дочерям быков Борца 1201, Акустика 636 и др.(на 0,8-1,54 лактации).

В линии Вис Бэк Айдиал (голштинского происхождения) улучшающий эффект по продолжительности продуктивного использования коров-дочерей показали быки Фриланд 89, Джей 446, Мутант 250 , Сапфир 685 и др. Аналогичная закономерность характерна и для животных других линий.

Долголетие коров – устойчивый признак, а различие в продолжительности продуктивной жизни животных разных линий свидетельствует о его наследственной обусловленности. Это дает возможность при разведении крупного рогатого скота осуществлять селекцию на увеличение продолжительности хозяйственного использования коров.

Таким образом, селекционное значение ведущих линий черно-пестрой породы в повышении продуктивного использования коров достаточно высоко и его необходимо в полной мере использовать в племенном процессе.

Список литературы. 1. Лебедько Е.Я. Совершенствование молочного скота разведением по линиям и семействам// Достижения науки и техники АПК. – 1997.- №2 – С. 26-27. 2 Лебедько Е.Я. Об эффективности кроссов линий в молочном животноводстве// Достижения науки и техники АПК. – 1999.- №1.- С.21. 3. Лебедько Е.Я. Оптимизация численности и размещения линий и родственных групп черно-пестрого скота в племенных хозяйствах Брянской области: Методич. рекоменд. - Брянск, 2000.- 74 с.

УДК 619.616.98

ЛИЗУН Р.П., аспирант
Белорусский НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского

К ВОПРОСУ О ВЫДЕЛЕНИИ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ *Pasteurella multocida*

Общеизвестно для бактериологии значение выделения чистой культуры микроорганизмов. Только имея чистую культуру, состоящую из микробов одного вида, возможны дальнейшие исследования по идентификации и изучению морфологических, тинкториальных, культуральных особенностей, биохимических свойств и т.д. Изготовление ветеринарных препаратов, вакцин в частности, также предполагает манипуляции с чистой культурой конкретного вида микроорганизма. В бактериологии предложено несколько методов получения чистых культур, в основном сводящиеся к выделению одиночных колоний. С этой целью специальными методами посевов достигается рост бактерий отдельными колониями на плотных питательных средах. Пересев одной изолированной колонии в пробирку со стерильной

питательной средой позволяет выделить чистую культуру, учитывая, что каждая колония развивается в результате размножения одной микробной клетки (Костенко Г.С. и др., 1989). Однако, в одной и той же точке на плотной питательной среде, могут оказаться две и более микробных клеток различных видов и организовать совместную симбиотическую одиночную колонию.

Работая в 1998-2000 гг. над созданием лабораторного образца инактивированной вакцины против пастереллеза птиц из производственных штаммов, мы столкнулись с проблемой очистки одного из штаммов Pasteurella multocida, выделенного из пораженных подглазничных синусов больной хроническим пастереллезом птицы. При микроскопии первичной 20-часовой бульонной культуры отмечались мелкие биполярные грамотрицательные коккоовоиды (около 90%) и грамположительные диплококки. Для пастерелл не разработаны ни селективные, ни элективные среды, но хорошим эффектом, особенно при очистке от кокковой флоры, обладает висмут-сульфит агар (ВСА) - селективная среда для сальмонелл. Действительно, в нашем случае при пересеве на ВСА культура освободилась от кокков. Путем отсева одиночной колонии (с контрольным микроскопированием) с ВСА на бульон Хоттингера (БХ) штамм хранился в холодильнике при +2÷4°С. Однако, при проверке свежей культуры на подвижность методом висячей капли выявились как неподвижные клетки (слабые колебательные движения), так и подвижные (активные поступательные и вращательные движения с перемещением по всему полю зрения за краткий срок). Одновременно с тем, при проверке ферментативных свойств оказалось, что «чистый» штамм, полученный из одиночной колонии на селективной среде, обладает протеолитическими свойствами (разжижение желатины). Как известно, Pasteurella multocida неподвижна и не обладает протеолитическими свойствами. Последовал вывод, что культура загрязнена дополнительной, неидентифицированной, грамотрицательной флорой. По предварительной оценке подозрения пали на протей (из всего грамотрицательного семейства Enterobacteriaceae лишь этот вид обладает ярко выраженными протеолитическими свойствами). Встал вопрос о новом этапе очистки штамма.

Pasteurella multocida – факультативный неспорообразующий анаэроб, поэтому методы очистки анаэробов и спорообразующих микроорганизмов отпали сами собой. Из предлагаемых литературой остались биологический и химический методы. Химический метод (посев на ВСА) не оправдал себя, поэтому было решено провести биологическую очистку штамма путем заражения белых мышей, тем более, что данный метод широко предлагается всеми Методическими указаниями по диагностике, профилактике и мерам борьбы с пастереллезами сельскохозяйственных животных. Для получения свежих одиночных колоний бульонную культуру пересеяли штрихом на агар Хоттингера (АХ); суточный рост был представлен в виде сливающегося вуалевидного «газона» по всей чашке с агаром («феномен роения» протея), а под ним просматривались одиночные мелкие белые колонии, растущие по линиям штриха (искомая P. multocida). В итоге 2-х мышей заразили старой бульонной культурой внутрибрюшинно по 0,3 мл. Гибель животных отмечали через 12 часов с сильным вздутием брюшной полости; в патологоанатомической картине наблюдали острое расширение желудка газами и катаральный энтерит. Из сердца и печени павших мышек сделали пересев на БХ. При микроскопии суточных культур отмечали короткие биполярные и длинные грамотрицательные палочки;

соотношение подвижных и неподвижных клеток в висячей капле было равным. Следовательно, биологический метод также не привел к желаемому результату.

Далее последовали множественные пассажи культуры через ВСА, через ВСА с увеличенной концентрацией, с последующим отсевом одиночных колоний в БХ, но результат был один: при пересеве отдельной неподвижной на ВСА (!) колонии в БХ, культура становилась подвижно-неподвижной из соотношения 1:1. Причем, при микроскопии всегда отмечались грамотрицательные биполярные коккоовоиды и короткие палочки.

Все известные методы получения чистой культуры были использованы, но к желаемому не привели. Метод выделения чистой культуры через отсев одиночной колонии не оправдал себя в данном случае уже несчетное количество раз. Далее был использован способ, полученный методом проб и ошибок. Литературные данные (Домарадский И.В., 1971) утверждают, что P. multocida на среде Козера не растет. Но практический опыт показал, что слабый рост, без изменения цвета среды, на агаре Симмонса (видоизмененная среда Козера) все-таки возможен. Поэтому, бульонную культуру штамма, полученную из одиночной колонии на ВСА, посеяли штрихом на агар Симмонса. Суточный рост был отмечен еле заметными точечными колониями по линиям штрихов без изменения цвета среды. После доращивания среда изменила цвет полностью, и отчетливо стали видны 2 вида колоний: белые, гладкие, блестящие (подвижные) и охряно-желтые, суховатые (неподвижные). Желтую одиночную колонию с агара Симмонса пересеяли на БХ, и на следующие сутки в бульонной культуре в преобладающем большинстве были неподвижные клетки, но опять же присутствовали подвижные. Для получения одиночных колоний данную бульонную культуру пересеяли штрихом на АХ, и суточный рост был вновь представлен «феноменом роения»!

Вышеописанный штамм был исключен из дальнейшей разработки вакцины.

Таким образом, в приведенном примере ни один из известных методов получения чистой культуры не оправдал себя, тогда как в других случаях очистить штаммы Pasteurella multocida удавалось либо биологическим (заражение белых мышей), либо химическим (пересев на ВСА) способами. Считаем, что в каждом конкретном случае нужен отдельный подход, но доверять мнению о происхождении одиночной колонии из отдельной микробной клетки следует с осторожностью.