

УДК 59.083:636.084

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-341-9-37-42>

Тип статьи: Оригинальное исследование

Type of article: Original research

Тюрина Д.Г.,
Лаптев Г.Ю.,
Новикова Н.И.,
Йылдырым Е.А.,
Ильина Л.А.,
Тарлавин Н.В.

ООО «БИОТРОФ»

Российская Федерация, г. С.-Петербург,
г. Колпино, Ижорский Завод, д. 45, лит. ДВ
e-mail: deniz@biotrof.ru

Ключевые слова: научные революции, смена парадигм, микробиология, молекулярно-генетические методы исследования, метабеномика, микробиом, рубец, микрофлора кишечника, продуктивность

Для цитирования: Тюрина Д.Г., Лаптев Г.Ю., Новикова Н.И., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Тарлавин Н.В. Научная революция в микробиологии и ее значение для практики. *Аграрная наука*. 2020; 341 (9): 37–42.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-341-9-52-60>**Конфликт интересов отсутствует**

Daria G. Tyurina,
Georgy Y. Laptev,
Natalia I. Novikova,
Elena A. Yildirim,
Larisa A. Ilyina,
Nikolay V. Tarlavin

BIOTROF LLC

Russian Federation, St. Petersburg, Kolpino,
Izhora Plant, 45, letter DV
e-mail: deniz@biotrof.ru

Key words: scientific revolutions, paradigm shift, microbiology, molecular genetic methods of analysis, metagenomics, microbiome, rumen, intestinal microflora, productivity.

For citation: Tyurina D.G., Laptev G.Y., Novikova N.I., Yildirim E.A., Ilyina L.A., Tarlavin N.V. The scientific revolution in microbiology and its importance for practice. *Agrarian Science*. 2020; 341 (9): 37–42. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-341-9-37-42>**There is no conflict of interests**

Научная революция в микробиологии и ее значение для практики

РЕЗЮМЕ

Накопление знаний в процессе научно-технического развития происходит не линейно, а скачкообразно: периоды относительного зстоя сменяются научными революциями. Научная революция — это смена научным сообществом объясняющих парадигм. Еще несколько лет назад установление таксономической принадлежности микроорганизмов путем культивирования и подсчета методами классической микробиологии было сопряжено с рядом непреодолимых трудностей. Сложный состав сред, присутствие в составе питательных сред избытка ингибирующих соединений, необходимость поддержания экстремальных температур, состава газов и давления для культивирования, восприимчивость культуры к воздействию кислорода исключали из поля зрения исследователя некультивируемые микроорганизмы. Появление молекулярно-генетических методов позволило изучать разнообразие микроорганизмов, минуя прежде обязательную стадию культивирования, выделение чистой культуры и сравнение с эталонным образцом. Через призму научных революций и смены научных парадигм выявлены различия между методами классической микробиологии и молекулярно-генетическими методами. Обобщен опыт компании ООО «БИОТРОФ» по применению молекулярно-генетических методов идентификации микроорганизмов в скотоводстве и птицеводстве. На основе использования 16S метабеномики впервые удалось показать, что нарушения состояния здоровья сельскохозяйственных животных и птиц, снижение продуктивности и срока хозяйственного использования во многих случаях связаны с дисбиотическими явлениями в желудочно-кишечном тракте. Так, у выбракованных в связи с лактатным ацидозом коров по сравнению с клинически здоровыми животными наблюдалось угнетение роста бактерий, синтезирующих целлюлазы, и микроорганизмов порядка Selenomonadales, способных ферментировать молочную кислоту до летучих жирных кислот. На основе расчета корреляций Пирсона было показано, что увеличение содержания в кишечнике сельскохозяйственных птиц лактобактерий семейства Lactobacillaceae имело связь с ростом мясной продуктивности, а возрастание стафилококков — со снижением.

The scientific revolution in microbiology and its importance for practice

ABSTRACT

The accumulation of knowledge in the process of scientific and technological development does not occur linearly, but in leaps and bounds: periods of relative stagnation are replaced by scientific revolutions. The scientific revolution is the change of explanatory paradigms by the scientific community. A few years ago, the establishment of the taxonomic affiliation of microorganisms by cultivation and counting by methods of classical microbiology was fraught with a number of insurmountable difficulties. The complex composition of the media, the presence of an excess of inhibiting compounds in the composition of the nutrient media, the need to maintain extreme temperatures, the composition of gases and pressure for cultivation, the susceptibility of the culture to the effects of oxygen excluded uncultured microorganisms from the field of view of the researcher. The emergence of molecular genetic methods made it possible to study the diversity of microorganisms, bypassing the previously obligatory stage of cultivation, isolation of a pure culture and comparison with a reference sample. Through the prism of scientific revolutions and changes in scientific paradigms, the differences between the methods of classical microbiology and molecular genetic methods are revealed. The experience of BIOTROF LLC in the application of molecular genetic methods for the identification of microorganisms in livestock and poultry farming is summarized. Based on the use of 16S metagenomics, it was possible to show for the first time that health disorders of farm animals and birds, a decrease in productivity and the duration of economic use in many cases are associated with dysbiotic phenomena in the gastrointestinal tract. Thus, in cows culled due to lactic acidosis, in comparison with clinically healthy animals, inhibition of the growth of bacteria synthesizing cellulases and microorganisms of the order Selenomonadales, capable of fermenting lactic acid to volatile fatty acids, was observed. Based on the calculation of Pearson's correlations, it was shown that an increase in the content of lactobacilli of the family Lactobacillaceae in the intestines of poultry was associated with an increase in meat productivity, and an increase in staphylococci, with a decrease.

Поступила: 10 сентября
После доработки: 10 сентября
Принята к публикации: 14 сентября

Received: 10 september
Revised: 10 september
Accepted: 14 september

Научные революции — смена парадигм

Интенсивное и прибыльное сельскохозяйственное производство невозможно без соответствующего информационного обеспечения. В последние десятилетия в связи с внедрением молекулярно-генетических методов в микробиологии был открыт целый пласт новых знаний, применение которых в сельском хозяйстве позволяет повысить эффективность животноводства.

Накопление знаний в процессе научно-технического развития происходит не линейно, а скачкообразно: периоды относительного застоя сменяются научными революциями. Научная революция — это смена научным сообществом объясняющих парадигм [8].

В результате четвертой глобальной научной революции появились молекулярно-генетические методы исследований, результаты которых перевернули представления о филогенетике и систематике.

Рассмотрим, каким образом научные революции в естествознании, в частности в микробиологии, изменяют наши представления о микробиоме сельскохозяйственных животных и каким образом эту информацию можно использовать для повышения эффективности производства.

Микробиологические исследования

К моменту изобретения молекулярно-генетических методов микробиология сложилась как наука, требующая от исследователя эрудированности, точности движений и научной интуиции. Это связано с тем, что процесс подсчета и идентификации микроорганизмов методами классической микробиологии сопряжен с рядом сложностей.

Во-первых, для идентификации микроорганизмов требуется выделение культуры в чистом виде и ее выращивание на специальных средах, что само по себе может являться труднорешаемой задачей.

Во-вторых, условия роста некоторых микроорганизмов препятствуют их культивированию: неизвестный состав сред, наличие в составе питательных сред избытка ингибирующих соединений, особые условия культивирования, такие как экстремальные температуры, состав газов и давление, восприимчивость культуры к воздействию кислорода исключают из поля зрения исследователя некультивируемые микроорганизмы. Попытки сочетать эти условия одновременно и в нужных пропорциях приводят к конструированию многомерной матрицы возможностей, которые могут быть реализованы только с применением неисчерпаемых временных, материальных и человеческих ресурсов. Из-за тесной ассоциативной зависимости от хозяина трудности культивирования бактерий пищеварительной системы наиболее высока [18]. Ряд исследований [20] указывает на присутствие, в частности, в кишечнике [26] так называемых хелперзависимых изолятов бактерий, утративших способность самостоятельно существовать в условиях без бактерий-помощников. Так, *Maribacter polysiphoniae* KLE1104 была выбрана [19] в качестве модели для выявления механизма подобной взаимозависимости. Оказалось, что рост этой бактерии индуцирует *E. coli* благодаря синтезу сидерофоров, низкомолекулярных веществ, которые способны переводить железо, связанное с белками или водонерастворимыми соединениями в доступную для микроорганизмов ионную форму Fe^{3+} . Таким образом, попытки культивирования *Maribacter polysiphoniae* KLE1104 могут оказаться удачными только в случае совместного культивирования с *E. coli*.

В-третьих, процедура идентификации бактерий осложняется использованием преимущественно качественных оценок. Например, окраска по Граму может быть «грамвариабельной», незначительное кислотообразование может быть не замечено, а ответ «слабый рост» трудноотличим от результата «отсутствие роста».

В-четвертых, авторы «Определителя бактерий Берджи» признают, что результаты, полученные в разных лабораториях, могут часто не совпадать в точности, в то время как одна и та же лаборатория способна воспроизводить свои результаты. Для точного определения микроорганизма рекомендуется параллельно ставить для сравнения тесты на типовых коллекционных штаммах. [5] Это может быть связано как с воздействием неучтенных факторов, так и с высокой изменчивостью микроорганизмов.

В-пятых, метод серийных разведений с последующим высевом на питательные среды неприменим для комкующихся микроорганизмов [25]. Отдельные виды и роды микроорганизмов показывают разные способности к росту в зависимости от способа хранения культуры. При прямом пересеве с чашки на чашку представители рода *Rhizobium* демонстрируют меньшую концентрацию, чем при высевах тех же штаммов после хранения в замороженном азоте. Скорее всего, это связано со «склеиванием» соседних клеток культуры при нормальных условиях и при разрыве связей при заморозке.

В-шестых, селективные среды на самом деле не селективны. Считается, что селективные среды подавляют рост нежелательных микроорганизмов за счет присутствия антимикробных препаратов и ограниченности питательных веществ. Однако, ограничиваясь использованием только селективных сред, легко впасть в заблуждение. Микроорганизмы могут приобрести устойчивость к антимикробным препаратам, а условия роста отдельных бактерий могут быть не описаны полностью. Среда общего назначения позволяют учитывать широкие группы микроорганизмов, такие как MRS-агар для лактобактерий, Сабуро для микромицетов, мясопептонный агар для гнилостных бактерий и т. д., обладают крайне низким уровнем селективности. Так, американскими исследователями [29] у 168 пациентов клиник были отобраны образцы соскобов с хронических ран. С применением традиционных высевов на питательные среды было культивировано лишь 17 таксонов бактерий, тогда как с использованием молекулярных методов обнаружено 338 различных бактериальных таксонов.

В-седьмых, определение микроорганизма по его фенотипу уже само по себе ограничивает выявление признаков, для развития которых необходимо воздействие окружающей среды. Так, определение ферментативной активности микроорганизма возможно только при наличии соответствующего субстрата, и если исследователь не предполагает поиск конкретного фермента, он может и не проводить такой эксперимент.

Наконец, в зависимости от применяемого метода подсчета количества клеток в пробе, результаты могут расходиться существенным образом. [4] Так, еще 80 лет назад Буткевич [9] при изучении микробиоты воды обратил внимание на то, что с помощью методов микроскопирования выявляется от 200 до 5000 раз больше микроорганизмов, чем при высевах на питательные среды для культивирования. Более того, уже два десятилетия назад рядом исследователей [6, 10, 11] было убедительно доказано, что многие грамтрицательные бактерии, в том числе патогенные, способны к длитель-

ному переживанию неблагоприятных абиотических и биотических факторов (высокое осмотическое давление, низкие температуры) в виде вегетативных клеток со значительно сниженной метаболической активностью и не обнаруживаемых методами рутинного культивирования. Так, штаммы патогенных для млекопитающих бактерий *Campylobacter jejuni* [10] и *Vibrio cholerae* [6] формировали некультивируемые формы при снижении температуры до +0,5–7 °С. Как было показано Александером с соавторами [11], увеличение концентрации меди в среде при оптимальной температуре индуцировало переход штаммов бактерий *Agrobacterium tumefaciens* и *Rhizobium meliloti* в некультивируемое состояние. При нормализации условий внешней среды происходит реверсия — некультивируемые формы возобновляют пролиферацию.

Обобщая вышесказанное, вопросы подсчета и идентификации являются важнейшими проблемами классической микробиологии, в особенности когда предметом исследования являются пробы из естественных экосистем. Парадоксом является тот факт, что, применяя классические микробиологические методы, эти две задачи невозможно решить одновременно. Действительно, при определении точного числа клеток и использовании одного из самых точных способов подсчета — прямого подсчета под микроскопом, мы получим общее число клеток всех видов микроорганизмов, присутствующих в пробе, живых и нежизнеспособных, известных ранее и новых для науки. Если же мы попытаемся определить количество микроорганизмов в разрезе их видов, то окажется, что только отдельные штаммы микроорганизмов способны расти на средах. Таким образом, решение двух основных задач микробиологической экологии находится в диалектическом противоречии. Оно же является источником развития и предпосылкой для разработки новых методов научного познания.

Молекулярно-генетическая революция

Существует и другой путь инициации научной революции — междисциплинарные взаимодействия. В.С. Степин определяет «парадигмальные прививки» как перенос представлений специальной научной картины мира, а также идеалов и норм исследований из одной научной дисциплины в другую [7, 8]. В результате внедрения новых методов научное сообщество получает новую картину реальности, открывается новое поле научных проблем, что стимулирует открытие новых явлений и законов, которые до «парадигмальной прививки» вообще не попадали в сферу научного поиска.

Секвенирование как научный метод возникло на стыке разных областей знания — молекулярной биологии, генетики, математики и программирования. Использование высокопроизводительной машинной обработки генерирует чрезвычайно большой объем данных. Идентификация микроорганизмов по гену 16s РНК основана на работах Фредерика Сэнгера (1918–2013).

Стоит отметить, что его влияние на развитие науки уже оценено обществом: он один из четырех двукратных лауреатов Нобелевской премии — наряду с Джоном Бардином, Лайнусом Поллингом и Марией Кюри.

Новые молекулярно-генетические методы предполагают идентификацию микроорганизмов по генотипу. В основу берется ген 16s РНК, который можно считать отличительным признаком, позволяющим определить и классифицировать микроорганизмы. С точки зрения генетика, совпадение по 16s РНК на более чем 95% объединяет микроорганизмы в один род, а совпадение более чем на 97% — в один вид.

Методы классической микробиологии предполагают, что микроорганизм может быть идентифицирован только при одновременном выполнении трех условий:

- 1) микроорганизм растет на питательной среде;
- 2) он выделен в чистом виде;
- 3) есть в определителе бактерий Берджи.

В то же время молекулярно-генетический подход для проведения идентификации требует только сохранности генетической информации.

Молекулярно-генетические методы позволяют изучать разнообразие микроорганизмов, минуя прежде обязательную стадию культивирования, выделение чистой культуры и сравнение с эталонным образцом. Отличительные признаки методов представлены в таблице 1.

Последние десятилетия в микробиологии связаны с накоплением большого объема новых данных в связи с появлением новых методов научного познания. В молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ» было показано, что в зависимости от микробиологического сообщества до 95% микрофлоры пищеварительной системы сельскохозяйственных животных и их кормов является новой для науки. Не секрет, что микробиологи и раньше знали о существовании некультивируемых микроорганизмов. Однако впервые было показано существование такого большого белого пятна. Так, в составе силосной экосистемы были выявлены новые таксоны: представители филума *Bacteroidetes*, порядка *Selenomonadales*, семейств *Clostridiaceae*,

Таблица 1. Отличия микробиологических методов при идентификации микроорганизмов

Table 1. Differences in microbiological methods for the identification of microorganisms

Характерные признаки	Классическая микробиология	Молекулярно-генетические методы
1. Необходимость выделения чистой культуры	Обязательно	Проводится идентификация всех компонентов пробы
2. Рост культуры	Обязателен	Рост культуры не требуется. Необходима сохранность носителей генетической информации
3. Выращивание культуры на средах	Обязательно	Не требуется
4. Какие методы используются	Преимущественно качественные	Преимущественно количественные
5. Степень воспроизводимости результатов	Средняя или высокая	Высокая
6. Необходимость сравнения с эталоном	Рекомендуется	Обязательно
7. Идентификация по	Фенотипу	Генотипу
8. Время, необходимое для идентификации	Относительно высокое	Относительно низкое
9. Способ постановки эксперимента	In vitro	In situ

Ruminococcaceae, *Lachnospiraceae*. Помимо этого, были обнаружены таксоны, среди которых нередко встречаются опасные патогены жвачных: представители семейства *Fusobacteriaceae* рода *Staphylococcus* и др. Ни один из представителей этих групп не был получен в виде лабораторной чистой или накопительной культуры при анализе микрофлоры консервированных кормов, поэтому отсутствовали сведения об их роли в ферментационных процессах. Благодаря полученным на молекулярном уровне данным было выдвинуто предположение о том, что корма являются источником поступления данных микроорганизмов в рубец жвачных. В кишечнике сельскохозяйственной птицы были обнаружены некультивируемые представители таких таксонов, как филумы *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, семейства *Prevotellaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Sphingobacteriaceae* и других.

На основе использования 16S метагеномики впервые удалось показать, что нарушения состояния здоровья сельскохозяйственных животных и птиц, снижение продуктивности и срока хозяйственного использования во многих случаях связаны с дисбиотическими явлениями в желудочно-кишечном тракте.

Так, у выбракованных в связи с лактатным ацидозом коров по сравнению с клинически здоровыми животными наблюдались дисбиотические нарушения в составе микрофлоры рубца: начиналось развитие продуцентов молочной кислоты семейства *Lactobacillaceae*, снижающих pH рубцового содержимого (рис. 1). В результате угнетался рост чувствительных к снижению pH бактерий, синтезирующих целлюлазы, и бактерий порядка *Selenomonadales*, способных ферментировать молочную кислоту до летучих жирных кислот [30]. «Перекокс» микрофлоры рубца в первую очередь отрицательно влияет на здоровье жвачных. Вследствие уменьшения доли целлюлозолитиков в рубце животное может частично или даже полностью потерять способность к усвоению клетчатки растительных кормов. Однако низкие значения кислотности оптимальны для развития патогенных бактерий рода *Fusobacterium*, поскольку лактат — питательный субстрат для развития данных микроорганизмов. Так, известно, что *Fusobacterium necrophorum* может быть локализована в слизистой рубца, тканей копыт, может вызывать поражение печени, эндометриты, маститы, некробактериоз. Имея на руках отчет об анализе микрофлоры рубцовой жидкости, специалист может корректировать микрофлору животного и избежать значительного снижения продуктивности и выбраковки.

Аналогичные результаты были получены и для сельскохозяйственной птицы. Были выявлены метагеномные маркеры здоровья и продуктивности цыплят-бройлеров. Так, на основе расчета корреляций Пирсона было показано, что увеличение содержания в кишечнике лактобактерий семейства *Lactobacillaceae*

имело связь с ростом мясной продуктивности, а возрастание стафилококков — со снижением (рис. 2). Использование результатов анализов микрофлоры желудочно-кишечного тракта птицы позволяет достигать максимальной продуктивности на заданном рационе путем коррекции микробиома.

Молекулярно-генетические исследования поставили под сомнение систематику микроорганизмов. До внедрения новых методов систематика микроорганизмов строилась на основе фенотипических признаков, таких как форма микроорганизма, окраска по Граму, условия роста, вырабатываемые метаболиты и перерабатываемые субстраты и другие.

Выяснилось, что прежде находившиеся в разных родах и семействах бактерии с генетической точки зрения близкородственны друг другу. Например, микроорганизм *Streptococcus bovis* теперь называется *Enterococcus bovis* — он поменял семейство *Streptococcaceae* на *Enterococcaceae*. И это не просто «переезд» из семейства в семейство, это обесценение результатов исследований по идентификации микроорганизмов.

Молекулярно-биологические открытия выявили «темную материю», которая была скрыта при использовании рутинных лабораторных высевов. Количество филумов (самых высоких уровней деления микроорганизмов в пределах бактериального царства) выросло с 11 бактериальных типов, описанных Woese в 1987 году, до 85, большинство из которых имеют некультивируемых представителей [27, 22, 21, 12].

Рис. 1. Содержание представителей микробного сообщества в рубце у клинически здоровых (n = 5) и выбракованных (n = 5) коров методом анализа последовательностей генов 16S рРНК, %

Fig. 1. The content of representatives of the microbial community in the rumen of clinically healthy (n = 5) and culled (n = 5) cows by the method of 16S rRNA gene sequence analysis, %

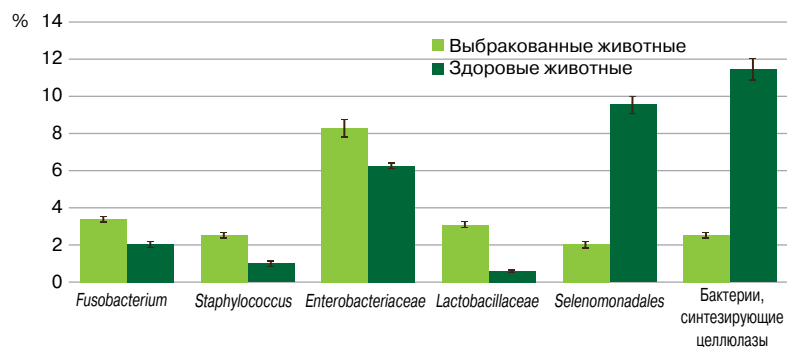
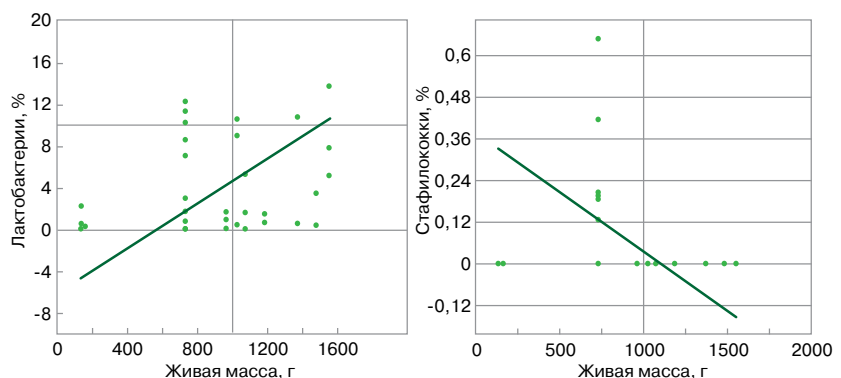


Рис. 2. Связь между количеством некоторых групп бактерий в слепых отростках пищеварительной системы цыплят-бройлеров и продуктивностью

Fig. 2. The relationship between the number of certain groups of bacteria in the blind processes of the digestive system of broiler chickens and productivity



Современные результаты указывают на универсальность некультивируемого состояния бактерий как пространственного микробиологического явления. Так, кандидатный филум TM7, ни один из представителей которого не был выделен в чистую культуру, был неоднократно обнаружен во многих средах с различными условиями среды. Последовательность, соответствующая 16S гену rPHK TM7, была впервые обнаружена в торфяниках [23], впоследствии сообщалось о ее повсеместной распространенности во множестве разнообразных сред, включая почву, воду, осадки сточных вод, морские губки, кишечник и многие другие [13, 15, 16, 17].

Стоит отметить, что процесс пересмотра затрагивает все отрасли биологической систематики. Так, внедрение нового подхода настолько изменяет наши представления об историческом развитии беспозвоночных, что в РАН поднимался вопрос об изменении школьной программы преподавания зоологии. [3]

Как и во время других научных революций, научное сообщество не сразу признает новые методы и способы получения научного знания. [1] Как ни странно, к недостаткам молекулярно-генетических методов относят их огромную производительность: ученые не успевают описывать новые микроорганизмы. С этим фактом трудно поспорить: нам еще предстоит установить новые связи и выявить закономерности в большом объеме данных.

Стоит отметить, что молекулярно-генетические методы имеют определенные ограничения. Так, при количественном подсчете мертвая клетка будет учтена как живая единица, равно как только что лизированная клетка, если генетическая информация еще сохранилась. Кроме того, исследователи отмечают [9], что использование исключительно гена 16s РНК недостаточно для идентификации и систематики бактерий и предлагают учитывать также и фенотип. Однако сказанное трудноприменимо к сложным экосистемам, таким как микробное сообщество рубца жвачных, так как там находится большая доля микроорганизмов, ранее неизвестных и не растущих на средах. Наибольшее количество некультивируемых бактерий в рубце жвачных было обнаружено в рамках семейств *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* и порядка *Clostridiales* [28].

Значительный прогресс в расширении диапазона бактерий, которые могут быть культивированы в будущем, может быть достигнут благодаря двум параллельным стратегиям: адаптации синтетических сред к предполагаемым условиям для оптимального развития микроорганизма на основе знаний, полученных молеку-

лярно-биологическими методами. Интересный подход к возможности культивирования некультивируемых бактерий был применен Графом с соавторами [14] с применением высокопроизводительного секвенирования транскриптов РНК (РНК-секвенирование) было продемонстрировано, что некультивированная *Rikenella*-подобная бактерия в кишечнике пиявки использует муцин в качестве источника углерода и энергии. Используя эту информацию, ученым удалось культивировать этот изолят на среде, содержащей муцин.

Особенностью молекулярно-генетического метода научного познания, в отличие от классической микробиологии, является перенос внимания исследователя с монокультуры или ассоциации микроорганизмов на совокупность микрофлоры в каждой пробе. Помимо очевидного недостатка (невозможности выделить чистую культуру молекулярно-генетическими методами), акцентируем внимание на достоинстве. Исследователь имеет принципиальную возможность изучения всей полноты микробиологического разнообразия, его структуры и, что самое главное, установления связей между структурой микробиома и здоровьем организма-хозяина (если речь идет о микрофлоре внутренних органов человека или животного) или, наоборот, конкретным заболеванием. Изучение не отдельных элементов экосистемы, а всей или почти всей экосистемы позволяет получить, например, полную картину микробиологического состояния помещений, проследить пути проникновения патогенных микроорганизмов и визуализировать циркуляцию патогенов в животноводстве.

Однако классическая микробиология остается важным инструментом исследователя, точно так же как и классическая механика не потеряла своего места в научном познании. Необходимость выделения чистой культуры микроорганизмов для целей биотехнологии и медицины определяет необходимость поиска и идентификации микроорганизмов методами классической микробиологии. Кроме того, обязательные требования государства к чистоте помещений, продуктов питания и воды, а также подтверждения безопасности лекарств и ветеринарных препаратов опираются на результаты выращивания на средах.

Появившаяся благодаря развитию молекулярно-биологических методов возможность контролировать и изменять микрофлору желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных является важным резервом продуктивности. Управляемый микробиом — один из источников эффективности производства.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Заварзин Г. А. Составляет ли эволюция смысл биологии? Вестник Российской Академии Наук, 2006, 76(6): 522–533 [Zavarzin GA Does evolution make up the meaning of biology? Bulletin of the Russian Academy of Sciences, 2006, 76 (6): 522–533 (In Russ.)]
2. Киященко Л. П. Этнос постнеклассической науки (к постановке проблемы) — Философия науки, 2005, т. 11, № 1, с. 29–53 [Kiyashchenko L. P. Ethos of post-nonclassical science (to the formulation of the problem) — Philosophy of Science, 2005, v. 11, No. 1, pp. 29–53 (In Russ.)]
3. Малахов В. В. Революция в зоологии: новые представления о системе и филогении многоклеточных животных — Вестник РАН, 2013, т. 83, № 3. с. 210–215 [Malakhov VV Revolution in zoology: new ideas about the system and phylogeny of multicellular animals — Bulletin of the Russian Academy of Sciences, 2013, v. 83, no. p. 210–215 (In Russ.)]
4. Ю. Одум. Основы экологии — М., Мир, 1975, с. 613 [Yu. Odum. Fundamentals of ecology — M., Mir, 1975, p. 613 (In

Russ.)]

5. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Т. 1: Пер. с англ./Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уильямса — М., Мир, 1997, с.10–11 [Bergey's guide to bacteria. In 2 volumes. Vol. 1: Per. from English / Ed. J.Hoult, N.Krieg, P.Sneet, J.Steley, S. Williams — M., Mir, 1997, pp.10–11 (In Russ.)]

6. Соколенко А.В. Морфология, ультраструктура, метаболизм некультивируемых форм холерных вибрионов. Автореф... канд. биол. наук. 2000. Ростов-на-Дону. — 21 с. [Sokolenko A.V. Morphology, ultrastructure, metabolism of uncultivated forms of *Vibrio cholerae*. Abstract of thesis ... Cand. biol. sciences. 2000. Rostov-on-Don. — 21 p. (In Russ.)]

7. Степин В.С. Научное познание и ценности техногенной цивилизации — Вопросы философии, 1989, №10, с. 3–18 [Stepin V.S. Scientific knowledge and values of technogenic civilization — Questions of Philosophy, 1989, no. 10, p. 3–18 (In Russ.)]

8. Степин В.С. Философия науки. Общие проблемы. М.: Гардарики, 2006 — с. 267–27 [Stepin V.S. Philosophy of Science.

Common problems. M.: Gardariki, 2006 — p. 267–27 (In Russ.)]

9. Butkevich N.V., Butkevich aVS Multiplication of sea bacteria depending on the composition of the medium and on temperature. Microbiology (Moscow). — 1936. — V.5 — P. 322–342.

10. Ekweozor C.C., Nwoguh C.E., Barer M.R. Transient increases in colony counts observed in declining populations of *Campylobacter jejuni* held at low temperature // FEMS Microbiol. Lett. — 1998. — V. 158 (2). — P. 267–72.

11. Alexander E., Pham D., Steck T.R. The viable-but-nonculturable condition is induced by copper in *Agrobacterium tumefaciens* and *Rhizobium leguminosarum* // Appl. Environ. Microbiol. — 1999. — V. 65(8). — P. 3754–3756

12. Achtman M, Wagner M. 2008. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. Nat. Rev. Microbiol. 6: 431–440

13. Bik EM, et al. 2010. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. ISME J. 4: 962–974

14. Bomar L, Maltz M, Colston S, Graf J. 2011. Directed culturing of microorganisms using metatranscriptomics. mBio 2(2): e00012–11 doi:10.1128/mBio.00012–11

15. Dinis JM, et al. 2011. In search of an uncultured human-associated TM7 bacterium in the environment. PLoS One 6: e21280 doi:10.1371/journal.pone.0021280

16. Hardoim CCP, et al. 2009. Diversity of bacteria in the marine sponge *Aplysina fulva* in Brazilian coastal waters. Appl. Environ. Microbiol. 75: 3331–3343

17. Hugenholtz P, Tyson GW, Webb RI, Wagner AM, Blackall LL. 2001. Investigation of candidate division TM7, a recently recognized major lineage of the domain bacteria with no known pure-culture representatives. Appl. Environ. Microbiol. 67: 411–419

18. Goodman AL, et al. 2011. Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 108: 6252–6257

19. Davis DJ. 1921. The accessory factors in bacterial growth.

IV. The “satellite” or symbiosis phenomenon of Pfeiffer’s *Bacillus* (*B. influenzae*). J. Infect. Dis. 29: 178–186

20. D’Onofrio A, et al. 2010. Siderophores from neighboring organisms promote the growth of uncultured bacteria. Chem. Biol. 17: 254–264

21. Keller M, Zengler K. 2004. Tapping into microbial diversity. Nat. Rev. Microbiol. 2: 141–150

22. Rappe MS, Giovannoni SJ. 2003. The uncultured microbial majority. Annu. Rev. Microbiol. 57: 369–394

23. Rheims H, Rainey FA, Stackebrandt E. 1996. A molecular approach to search for diversity among bacteria in the environment. J. Ind. Microbiol. 17: 159–169

24. Rosello-Mora R., Amman R. The species concept for prokaryotes. FEMS Microbiology Reviews, Volume 25, Issue 1, January 2001, p. 39–67.

25. Sejrsen K., Hvelplund T., Nielsen M.O. Ruminant physiology. Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress. Wageningen Academic Publishers, 2008, p.22

26. Vartoukian SR, Palmer RM, Wade WG. 2010. Cultivation of a Synergistetes strain representing a previously uncultivated lineage. Environ. Microbiol. 12: 916–928

27. Woese CR. 1987. Bacterial evolution. Microbiol. Rev. 51: 221–271

28. Stiverson J, Morrison M, Yu Z. Populations of select cultured and uncultured bacteria in the rumen of sheep and the effect of diets and ruminal fractions. Int J Microbiol. 2011;2011:750613. doi:10.1155/2011/750613

29. Rhoads Daniel D., Wolcott Randall D, Yan Sun, Scot E. Dowd. Comparison of Culture and Molecular Identification of Bacteria in Chronic Wounds // Int. J. Mol. Sci. 2012, 13, 2535–2550; doi:10.3390/ijms13032535

30. Mackie R.I., White B.A. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: potential impact on nutrient output // J Dairy Sci. - 1990. — V. 73(10). — P. 2971–95.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Тюрина Дарья Георгиевна, к. экон. н., заместитель директора ООО «БИОТРОФ»

Лаптев Георгий Юрьевич, д.б.н., директор ООО «БИОТРОФ»
Новикова Наталья Ивановна, к.б.н., заместитель директора ООО «БИОТРОФ»

Йылдырым Елена Александровна, д.б.н. биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ»

Ильина Лариса Александровна, к.б.н., начальник молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ»

Тарлавин Николай Владимирович, биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ»

ABOUT THE AUTHORS:

Daria Georgievna Tyurina, Ph.D. Sci., Deputy Director of BIOTROF LLC

Laptev Georgy Yurievich, Doctor of Biological Sciences, Director of BIOTROF LLC

Novikova Natalia Ivanovna, candidate of biological sciences, deputy director of ООО BIOTROF

Yildirim Elena Aleksandrovna, Doctor of Biological Sciences biotechnologist of the molecular genetic laboratory BIOTROF LLC

Ilyina Larisa Aleksandrovna, Candidate of Biological Sciences, Head of the Molecular Genetic Laboratory of BIOTROF LLC

Tarlavin Nikolay Vladimirovich, biotechnologist of the molecular genetic laboratory of BIOTROF LLC