

Identification of *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from quails and selection of promising strains based on the main typical properties

H. Buchkovska¹ | O. Vishchur¹ | V. Melnychuk² | O. Chechet³ | O. Gorbatyuk⁴ | I. Rublenko⁵ | O. Pishchanskyi⁴ | L. Balanchuk⁴ | O. Zhovnir⁶

Article info

Correspondence Author

O. Gorbatyuk

E-mail:

goroliva@ukr.net

¹Institute of Animal Biology of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Vasyly Stus Str., 38, Lviv, Ukraine

²Poltava State Agrarian University, Skovorody Str., 1/3, Poltava, 36003, Ukraine

³Odesa State Agrarian University, Panteleimonivska Str., 13, Odesa, 6500, Ukraine

⁴State Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Donetska Str., 30, Kyiv, 03151 Ukraine

⁵Bila Tserkva National Agrarian University, Stavishchanska Str., 126, Bila Tserkva, 09100, Ukraine

⁶Institute of Veterinary Medicine National Academy of Agrarian Sciences, Donetska Str., 30, Kyiv, 03151, Ukraine

Citation: Buchkovska, H., Vishchur, O., Melnychuk, V., Chechet, O., Gorbatyuk, O., Rublenko, I., Pishchanskyi, O., Balanchuk, L., & Zhovnir, O. (2025). Identification of *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from quails and selection of promising strains based on the main typical properties. *Scientific Progress & Innovations*, 28(3), 210–216. doi: 10.31210/spi2025.28.03.31

The article is devoted to solving the problem of increasing the production volumes of high-quality and safe products in the poultry farming sectors of Ukraine by developing and applying cheap, effective, natural biological preparations as an alternative to antibiotics to maintain stable epizootic situation in poultry farming and reduce epidemic risks to humans within the framework of the “Single Health” and Global Health Protection strategies. In this area of work, non-pathogenic, spore-forming bacteria of *Bacillus* genus are of interest because they are resistant to environmental conditions and capable of producing large amounts of secretory proteins, enzymes, anti-microbial compounds, vitamins and carotenoids. Therefore, the article presents the results of microbiological studies of 167 samples of ligated quails' intestines to isolate and identify *Bacillus* spp. and to identify bacteria of *Bacillus amyloliquefaciens* species based on typical morphological, cultural, and biochemical peculiarities. These strains were further studied, and the prospects of their using to make symbiotic preparation were determined. From the inoculum, 123 (73.7 %) isolates of *Bacillus* spp. were isolated with the morphology characteristic of bacilli and cultural growth on MPA and MPB. Among the isolated bacilli, 7 (5.7 %) cultures of *Bacillus amyloliquefaciens* bacteria were identified, which was confirmed by the characteristic typical indicators of metabolic activity: the absence of bacterial growth at 50 °C under anaerobic conditions, in the presence of high concentrations of sodium chloride, in the absence of nitrate reduction and citrate utilization, in the absence of indole and hydrogen sulfide production, and in the absence of carbohydrates fermentation including lactose, arabinose, raffinose, cellobiose, galactose, and salicin. At the same time, the experimental isolates split starch, hydrolyzed esculin and casein, utilized succinate, formed oxidase, produced catalase, and fermented carbohydrates such as glucose, mannitol, xylose, and fructose. The research results of experimental bacilli isolates confirmed the presence of all the main typical properties characteristic of *Bacillus amyloliquefaciens* species. Based on the obtained data, the experimental cultures of *Bacillus amyloliquefaciens* were transferred to the strain category and subjected to deep freezing in cryo-tubes for further testing to study their antagonistic properties against Gram-positive and Gram-negative bacteria and other requirements for promising symbiotic strains.

Keywords: *Bacillus* spp., identification, *Bacillus amyloliquefaciens*, metabolic activity, promising strains, symbiotics.

Ідентифікація *Bacillus amyloliquefaciens*, виділених від перепелів, та відбір перспективних штамів за основними типовими властивостями

Г. А. Бучковська¹ | О. І. Віщур¹ | В. В. Мельничук² | О. М. Чечет³ | О. І. Горбатюк⁴ | І. О. Рубленко⁵ | О. В. Піщанський⁴ | Л. В. Баланчук⁴ | О. М. Жовнір⁶

¹Інститут біології тварин НААНУ, м. Львів, Україна

²Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, Україна

³Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

⁴Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна

⁵Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна

⁶Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ, Україна

Стаття присвячена вирішенню проблеми, пов'язаної зі збільшення об'ємів виробництва якісної і безпечної продукції птахівничої галузі в Україні шляхом розробки і застосування дешевих, ефективних, натуральних біологічних препаратів, як альтернативи антибіотикам. Це необхідно для підтримання стабільної епізоотичної ситуації у птахівництві та зниження епідемічних ризиків для людини в межах дії світових стратегій «Єдине здоров'я» та Глобальної безпеки охорони здоров'я. В цьому напрямку роботи викликають зацікавленість непатогенні, споруутворюючі бактерії роду *Bacillus*, оскільки вони є стійкими до умов зовнішнього середовища та здатні продукувати велику кількість секреторних білків, ферментів, антимікробних сполук, вітамінів, каротиноїдів. Тому, в статті подаються результати мікробіологічних досліджень 167-и зразків лігатурованих кишечників від перепелів для виділення і ідентифікації *Bacillus* spp. та за типовими морфологічними, культуральними, біохімічними особливостями ідентифікувати бактерії виду *Bacillus amyloliquefaciens*. Такі штами надалі дослідити, визначити їх перспективність застосування для виготовлення синбіотичного препарату. Із посівного матеріалу виділено 123 (73,7 %) ізоляти *Bacillus* spp. з характерною для бацил морфологією та культуральним ростом на МПА і МПБ. Серед виділених ізолятів бацил ідентифіковано 7 (5,7 %) культур бактерій виду *Bacillus amyloliquefaciens*, що підтверджено характерними типовими показниками метаболічної активності: відсутністю росту бактерій за температури 50 °C, за культивування в анаеробних умовах, за присутності високої концентрації хлориду натрію, за відсутності редукції нітратів і утилізації цитратів, за відсутності продукції індолу і сірководню, за відсутності ферментації вуглеводів лактози, арабінози, рафінози, целобіози, галактози, саліцину. При цьому дослідні ізоляти розщеплювали крохмаль, гідролізували ескулін і казеїн, утилізували сукцинат, утворювали оксидазу, продукували каталазу, ферментували вуглеводи глюкозу, маніт, ксилітозу, фруктозу. Результати досліджень дослідних ізолятів бацил підтверджували наявність всіх основних типових властивостей, характерних для виду *Bacillus amyloliquefaciens*. На основі одержаних даних дослідні культури *Bacillus amyloliquefaciens* переведено в категорію штамів та піддано глибокому заморожуванню в кріопробірках для проведення подальших випробувань щодо вивчення рівня їх антагоністичних властивостей проти грампозитивних і грамотригативних бактерій та інших вимог до перспективних синбіотичних штамів.

Ключові слова: *Bacillus* spp., ідентифікація, *Bacillus amyloliquefaciens*, метаболічна активність, перспективні штами, синбіотики.

Бібліографічний опис для цитування: Бучковська Г. А., Віщур О. І., Мельничук В. В., Чечет О. М., Горбатюк О. І., Рубленко І. О., Піщанський О. В., Баланчук Л. В., Жовнір О. М. Ідентифікація *Bacillus amyloliquefaciens*, виділених від перепелів, та відбір перспективних штамів за основними типовими властивостями. *Scientific Progress & Innovations*. 2025. № 28 (3). С. 210–216.

Вступ

Останні тенденції щодо лікування і профілактики інфекційних захворювань птиці, підтримання стабільної епізоотичної ситуації в птахогосподарствах на території України, а відтак і позитивного впливу на зниження епідемічних ризиків в межах дії світових стратегій «Єдине здоров'я» (One Health) та Глобальна безпека охорони здоров'я (Global Health Security), до яких долучена наша держава, направлені на вивчення методів знешкодження бактеріальних інфекцій за використання біологічних препаратів у вигляді пробіотиків, синбіотиків у комплексі з пребіотиками. Для розробки і застосування на виробництві таких препаратів наразі особливий інтерес викликають бактерії роду *Bacillus* [1].

Відомо, що сучасний розвиток концепції синбіотиків особливо інтенсивно розпочався з 2014 року після активізації і розширення діяльності міжнародних товариств: Міжнародної асоціації пробіотиків (International Probiotics Association), Міжнародної наукової асоціації пробіотиків і пребіотиків (International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics), Всесвітньої гастроентерологічної асоціації (The World Gastroenterology Organisation (WGO)), Американської гастроентерологічної асоціації (The American Gastroenterological Association (AGA)). Цей етап ознаменувався прийняттям оновленої версії настанови WGO уже з доказовою базою і позитивним досвідом останніх років щодо використання пробіотиків, пребіотиків і синбіотиків [2–4]. Тому, нині використання на виробництві адекватних нових розробок біоактивних препаратів на основі бацилярних бактерій має вирішальне значення для підвищення і забезпечення якості сировини і продукції птахівничої галузі, оскільки ці препарати є натуральними.

Відомо, що кишкова мікробіота відіграє важливу роль у регулюванні запальних, метаболічних, імунних та нейробиологічних процесів в організмі тварин, птиці і людини [5–7]. Потенціал синбіотиків, пробіотиків, пребіотиків, постбіотиків за практичного застосування у тваринництві, птахівництві для тварин і птиці та гуманній медицині для людини, поступово розкривається. Одержані науковцями дані демонструють позитивний вплив цих препаратів на покращення здорового стану кишечника через регуляцію кишкового мікробіоценозу, покращення функціонування кишкового епітеліального бар'єру, підвищення ефективності імунорегуляторних механізмів, терапевтичного ефекту, поліпшення метаболічних процесів в організмі тварин, птиці і людини [8–10].

Зокрема, науковий і практичний інтерес, як наголошують науковці, викликає природна здатність бацил виробляти велику кількість секреторних білків, ферментів, антимікробних сполук, вітамінів та каротиноїдів, що засвідчує важливість використання непатогенних бацилярних бактерій у створенні біологічних препаратів [11].

Наукові дані показали, що штами *Bacillus amyloliquefaciens* за глибинного культивування, синтезують метало- та серинову протеази. Такі

протеази, як стверджують автори, здатні лізувати живі клітини *Staphylococcus aureus*. Крім того, *Bacillus amyloliquefaciens* синтезують протеази, які здатні до гідролізу нативних нерозчинних протеїнів – еластину, фібрину, колагену. Відомо, що ці ензими у фізіологічних умовах організму проявляють високу літичну активність стосовно грампозитивних мікроорганізмів, тому представляють і науковий і практичний інтереси [12, 13].

Зростання вимог до виробництва якісної і безпечної продукції тваринницької і птахівничої галузей в Україні обумовлює нагальну потребу у розробці і втіленню у практику дешевих, ефективних біологічних препаратів, зокрема на основі *Bacillus amyloliquefaciens*, для підвищення продуктивності птиці та якості сировини і продукції, одержаної від них [14–16].

Мета дослідження

Метою роботи було виділити із біологічного матеріалу від перепелів бактерії роду *Bacillus*, ізолювати, ідентифікувати вид бактерій *Bacillus amyloliquefaciens*, відібрати перспективні штами для вивчення їх відповідності вимогам щодо створення синбіотичних препаратів.

Для досягнення поставленої мети необхідно виконати наступні завдання:

- виготовити суспензії скарифікатів із слизової лігатурованих кишечника перепелів, виконати посіви на селективні диференційно-діагностичні середовища для отримання ізолятів бактерій роду *Bacillus*;
- провести ідентифікацію бактерій роду *Bacillus*;
- за характерною морфологією, характерними особливостями росту на МПБ та культуральним ростом на твердому поживному середовищі (МПА) відібрати типові колонії бацил для ідентифікації виду *Bacillus amyloliquefaciens*;
- провести за показниками метаболічної активності перевірку основних типових властивостей бактерій для підтвердження виду *Bacillus amyloliquefaciens* та надати дослідним ізолятам категорії «штам»;
- провести глибоку заморозку дослідних штамів *Bacillus amyloliquefaciens* для їх збереження для подальших досліджень.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на базах науково-дослідного бактеріологічного відділу (НДБВ) Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ), м. Київ; кафедри мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету (БНАУ), м. Біла Церква та Полтавської державної академії, м. Полтава.

З метою виділення ізолятів бактерій роду *Bacillus* для досліджень було доставлено 167 зразків лігатурованих відрізків товстого відділу кишечника від

перепелів із перепільничих господарств Київської, Черкаської, Житомирської областей України.

За проведення пробопідготовки біологічного матеріалу відрізки кишечника розміщали на стерильній чашці, знімали лігатури, розрізали по довжині стерильними ножицями. За допомогою стерильного скальпеля видаляли вміст кишечника та промивали залишки вмісту стерильним фізіологічним розчином у ємність із дезінфікуючою речовиною. На підготовлених відрізках кишечника за допомогою стерильного скальпеля ретельно скарифікували слизові оболонки відповідних зразків. Скарифікати вносили у марковані пробірки з МПБ та інкубували за температури $37\pm 1^\circ\text{C}$ протягом 24 год. Після інкубації пробірки з посівами прогрівали за температури 80°C протягом 20 хв для знешкодження супутніх контамінантів та неспороутворюючих бактерій. Після охолодження дослідних пробірок з посівами, проводили пересіви на тверде середовище – м'ясо-пептонний агар (МПА) методом виснажуючих штрихів за Дригальським для одержання росту окремих колоній. Далі проводили інкубацію посівів протягом 24–48 год в термостаті за температури $37\pm 1^\circ\text{C}$.

Після закінчення терміну культивування у 123 (73,7 %) зразках із 167 посівного матеріалу було виявлено колонії з характерним для бацил культуральним ростом: колонії тілесного, сірувато-білого, білого кольору, колонії, які поступово набирали коричневого відтінку, були матовими, зі слизовою поверхнею, з ущільненнями, борозенками, з центром у вигляді кратера, з фестончастими краями, з виростами, були округлої форми, за розмірами – великі, середні, малі, в агар не вросли, легко знімалися з поверхні твердого середовища. Добові бульйонні культури у 123 відповідних посівних зразках характеризувалися інтенсивним помутнінням бульйону, випадінням осаду, просвітлінням стовпчика середовища, у багатьох випадках на поверхні бульйону була сформована плівка білуватого кольору [17].

Для ідентифікації бактерій роду *Bacillus amyloliquefaciens* серед дослідних зразків було вибрано 7 (5,7 %) ізолятів з характерним для цього виду бацил культуральним ростом на МПА у трьох різновидностях та з урахуванням відсутності поверхневої плівки на МПБ. Відібрані культури були пересіяні повторно на МПА, МПБ та проведена їх мікроскопія. Виготовлені для морфологічних досліджень препарати були зафіксовані хімічним способом на протязі 20 хв та пофарбовані за методом Грама.

Для подальшої ідентифікації бактерій *Bacillus amyloliquefaciens* із дослідних зразків проводили пересіви:

- на пробірки з МПА (для підтвердження росту бактерій роду *Bacillus* за температури 50°C);

- на пробірки з МПА під вазеліновою олією та без неї (для виявлення росту чи його відсутності у дослідних бацил за анаеробних умов);

- на МПА з 10,0 % хлоридом натрію (для виявлення росту в присутності високої концентрації хлориду натрію);

- проводили тест на каталазу на склі (за внесення культури у розчин з перекисом водню та наявності або відсутності інтенсивного газоутворення);

- проводили пересіви на крохмальний агар (для виявлення властивості його розщеплювати);

- здійснювали пересіви на ескуліновий гідролізований агар (для виявлення гідролізу ескуліну);

- проводили посіви на молочний агар (для виявлення ферментів гідролізу казеїну);

- проводили тест на редукцію нітратів.

Для подальшої видової ідентифікації бактерій *Bacillus amyloliquefaciens* проводили пересіви всіх дослідних ізолятів на середовища Гісса з целобіозою, глюкозою, фруктозою, галактозою, лактозою, маннозою, манітом, рафінозою, ксилозою, арабінозою для виявлення ферментації означених вуглеводів. Для перевірки здатності щодо утворення сірководню дослідні ізоляти пересівали на агар Клінгера (за зміною кольору середовища на чорний по посівному уколу культури). Здатність до утилізації цитрату перевіряли, проводячи посіви на агар Сіммонса (за зміною кольору середовища).

Після підтвердження всіх основних типових властивостей – морфологічних, культуральних і біохімічних, ізоляти *Bacillus amyloliquefaciens* були переведені в категорію «штам» з відповідними назвами.

Дослідні штами *Bacillus amyloliquefaciens*, виділені від перепелів, були кріогенізовані для тривалого зберігання за температури мінус $70\pm 10^\circ\text{C}$ з метою проведення подальших досліджень.

Результати та їх обговорення

За посіву на МПА візуальна характеристика культурального росту добових колоній відрізнялася трьома відмінностями (**табл. 1**).

На **рисунках 1, 2 та 3** представлені візуалізовані результати культуральних досліджень відібраних ізолятів бактерій роду *Bacillus*. Перший вид колоній з візуально видимими відмінностями у культуральному рості за ознаками відрізнявся гладеньким центром у вигляді кратера і незначно піднятими хвилястими краями. Колонії були матовими, молочно-білого кольору, легко знімалися з агару (**рис. 1**).

Другому виду колоній, за візуального огляду, була притаманна матовість, молочний колір, характерною ознакою був гладенький, трішки піднятий центр з відростками у вигляді фестонів неправильної форми навколо нього. Колонії не вросли в агар і легко знімалися з його поверхні (**рис. 2**).

Третій вид колоній, за візуальною оцінкою культурального росту, відрізнявся білим кольором, шкіроподібною, зморшкуватою поверхнею та легким їх зніманням із поверхні агару (**рис. 3**).

Таблиця 1

Результати морфологічних та бактеріологічних досліджень бактерій роду *Bacillus*, відібраних для ідентифікації виду *Bacillus amyloliquefaciens*; n=7

№ дослідних зразків	Особливості росту колоній на твердому живильному середовищі (МПА)	Характер росту на рідкому живильному середовищі (МІБ)	Морфологія бактерій за пофарбування методом Грама
64, 75, 88, 117	Перший вид колоній з візуально видимою відмінністю у культуральному рості: колонії непрозорі, матові, молочно-білого кольору, з гладеньким центром у вигляді кратера і хвилястими краями, в'язкої консистенції. Мали поверхневий шар шкіроподібний. Колонії легко знімалися з поверхні агару	До 24 год культивування – спостерігається інтенсивне помутніння бульйону. Після 24 год культивування – випадіння осаду та просвітлення бульйону	В полі зору спостерігаються синього (або фіолетового) кольору палички, прямі з заокругленими краями, розміщені поодинокі або короткими ланцюжками. Певна частина клітин мають спори овальної форми, розміщених центрально. Діаметр спор не перевищував розмірів клітини
143, 156	Другий вид колоній з візуально видимою відмінністю у культуральному рості: колонії з шкіроподібним поверхневим шаром, матові, непрозорі, молочно-білого кольору, тягучої консистенції, мали гладенький піднятий центр та вирости у вигляді фестонів. Колонії легко знімалися з поверхні твердого середовища	Культуральні особливості росту аналогічні вищеописаним	Морфологічна характеристика аналогічна вище описаній
167	Третій вид колоній з візуально видимою відмінністю у культуральному рості: колонії непрозорі, матові в'язкі, білого кольору із шкіроподібною зморшкуватою поверхнею. Колонії легко знімалися з поверхні агару	Культуральні особливості росту аналогічні вищеописаним	Морфологічна характеристика аналогічна вище описаній

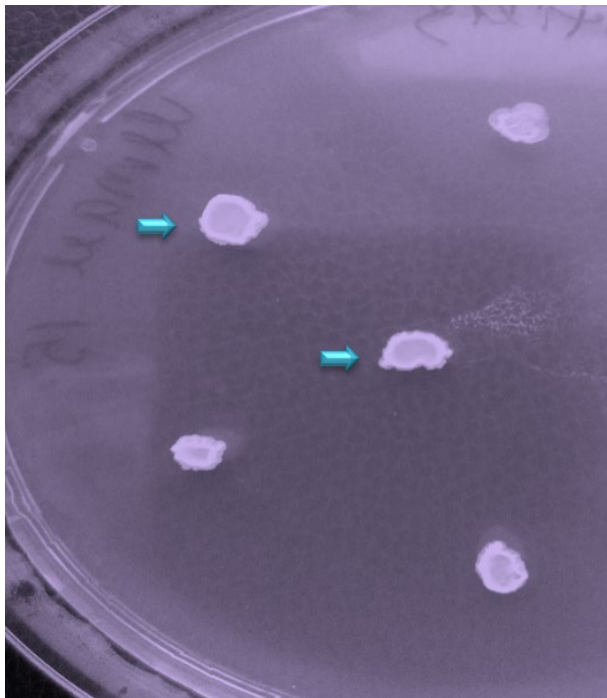


Рис. 1. Різновидність культурального росту бактерій роду *Bacillus* (ізолят інв. №1 43), відібраних для ідентифікації *Bacillus amyloliquefaciens*: стрілками показано колонії молочно-білого кольору, матові, з гладеньким центром і хвилястими краями

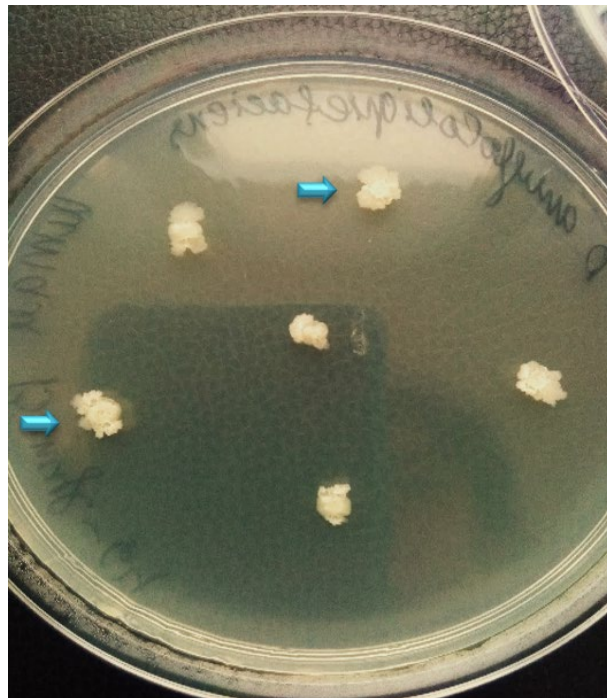


Рис. 2. Різновидність культурального росту колоній роду *Bacillus* (ізолят інв. № 88), відібраних для ідентифікації *Bacillus amyloliquefaciens*: стрілками показано колонії молочно-білого кольору, з гладеньким центром і виростами у вигляді фестонів

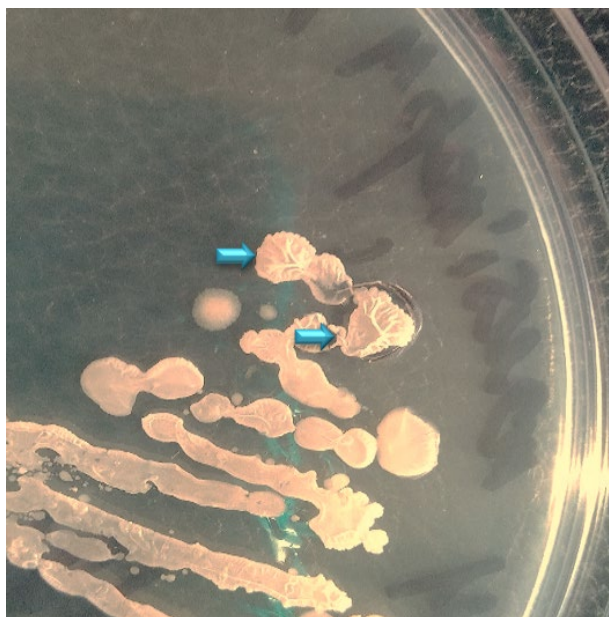


Рис. 3. Різноманітність культурального росту колоній роду *Bacillus* (ізолят інв. № 167), відібраних для ідентифікації *Bacillus amyloliquefaciens*: стрілками показано колонії із шкіроподібною, зморшкуватою поверхнею білого кольору

Таблиця 2

Ідентифікація дослідних ізолятів *Bacillus amyloliquefaciens* за основними типовими властивостями та переведення їх у категорію «штам»; n=7

Назва показників метаболічної активності	Результати досліджень метаболічної активності						
	інвентарні номери дослідних ізолятів						
	№75	№88	№64	№117	№143	№156	№167
Ріст за t 50°C	–	–	–	–	–	–	–
Ріст за анаеробних умов	–	–	–	–	–	–	–
Редукція нітратів	–	–	–	–	–	–	–
Ріст на МПА з 10,0% NaCl	–	–	–	–	–	–	–
Розщеплення крохмалю	+	+	+	+	+	+	+
Гідроліз ескуліну	+	+	+	+	+	+	+
Гідроліз казеїну	+	+	+	+	+	+	+
Продукція каталази	+	+	+	+	+	+	+
Виділення індолу	–	–	–	–	–	–	–
Виділення H ₂ S	–	–	–	–	–	–	–
Утилізація сукцинату	+	+	+	+	+	+	+
Утилізація цитрату	–	–	–	–	–	–	–
Утворення оксидази	+	+	+	+	+	+	+
Ферментація вуглеводів:							
глюкози	+	+	+	+	+	+	+
лактози	–	–	–	–	–	–	–
арабінози	–	–	–	–	–	–	–
маніту	+	+	+	+	+	+	+
рафінози	–	–	–	–	–	–	–
ксилоза	+	+	+	+	+	+	+
целобіози	–	–	–	–	–	–	–
фруктози	+	+	+	+	+	+	+
галактози	–	–	–	–	–	–	–
саліцину	–	–	–	–	–	–	–
Підтвердження основних типових властивостей дослідних ізолятів <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	володіє	володіє	володіє	володіє	володіє	володіє	володіє
Назва дослідних штамів <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (після переведення до категорії «штам»)	Bamyl-64	Bamyl-88	Bamyl-75	Bamyl-117	Bamyl-143	Bamyl-156	Bamyl-167

Примітки: (–) – негативний тест; (+) – позитивний тест.

За результатами морфологічних досліджень препаратів із кожного виділеного ізоляту бацил з усіх трьох різновидностей культурального росту у полі зору спостерігалися поодинокі або розташовані короткими ланцюжками, клітини бацил з центрально розміщеними овальними ендоспорами, які в діаметрі не перевищують діаметр клітин.

Слід відмітити, що незалежно від відмінностей у культуральному рості бацилярних колоній на МПА, результати культивування за їх посіву на МПБ показали інтенсивний ріст бактерій впродовж однієї доби з помутнінням стовпчику бульйону. Після 24 год росту на МПБ, середовище просвітлювалося, на дні випадав об'ємний пухкий осад. Таким чином, виділені культури за морфологією, характером росту на твердому середовищі – МПА та рідкому – МПБ, відповідали ростовим властивостям бацилярних бактерій.

За результатами бактеріологічних досліджень з подальшої ідентифікації виділених бактерій засвідчено їх належність до виду *Bacillus amyloliquefaciens* за показниками метаболічної активності. Результати бактеріологічних досліджень на підтвердження основних типових властивостей дослідних *Bacillus amyloliquefaciens* показані в таблиці 2.

За результатами проведених бактеріологічних випробувань встановлено, що всі дослідні культури *Bacillus amyloliquefaciens* володіли основними типовими властивостями, характерними для цього виду – морфологічними, культуральними, біохімічними, тому переведені в категорію «штам»: Bамyl-64, Bамyl-75, Bамyl-88, Bамyl-117, Bамyl-143, Bамyl-156, Bамyl-167.

Обговорення. Напрямки наших досліджень з відбору бактерій роду *Bacillus* для конструювання біологічних препаратів співпадають зі світовими тенденціями розробки і використання синбіотиків, пробіотиків, пребіотиків у тваринницькій та птахівничій галузях сільськогосподарського виробництва. Наш пошук високоантагоністичних ізолятів *Bacillus amyloliquefaciens* для створення синбіотичних препаратів для перепелів є актуальним, оскільки підтверджується даними пошуків інших науковців, які займалися такою проблематикою [18, 19].

За останні роки в Україні і за її межами використання біологічно активних препаратів на основі бактерій роду *Bacillus* для тварин і птиці зростає, оскільки позитивно впливає на підвищення продуктивності й покращення якості продукції птахівничої галузі, зокрема сировини і продукції перепільництва [20, 21]. Продукуючи біологічно активні речовини, синбіотики стимулюють у мікробіоти кишечника синтез медіаторів, які активують функціонування травних процесів, діяльність печінки, кровоносної системи, позитивно впливаючи на метаболічні процеси в організмі [15, 18, 20].

Одержані науковцями і нами дані підтверджують високу біологічну активність препаратів, створених на основі спороутворюючих мікроорганізмів роду *Bacillus*, в т. ч. і *Bacillus amyloliquefaciens* та інших видів бактерій, *in vitro* проти грамнегативних і грампозитивних тестових культур. Така антагоністична активність вегетативних форм бактерій *Bacillus amyloliquefaciens* пов'язана з синтезом ними антибіотичних речовин та гідролітичних ферментів [22–24]

Автори доводять, що ріст *Bacillus amyloliquefaciens* на твердих поживних середовищах покращується за додавання цукрів: фруктози, глюкози, цукрози та амінокислот і вітамінів. Більше того, при цьому фаза найактивнішого росту культури *Bacillus amyloliquefaciens* починалася уже від 18 по 24 годину [25].

Вчені звертають увагу на важливість правильної ідентифікації ізолятів бактерій *Bacillus*, за культуральними, біохімічними і іншими властивостями, для того, щоб отримати якісний біологічно активний препарат [26].

Тому, завдячуючи аналізу результатів наших досліджень та обговоренню даних інших авторів, що займалися питаннями підбору синбіотичних штамів непатогенних спор утворюючих бацилярних бактерій для конструювання біологічно-активних препаратів, всі одержані нами дослідні штам *Bacillus amyloliquefaciens* мали типові морфологічні, культуральні та біохімічні властивості, що дозволило перевести їх у статус «штамів» із можливістю використання їх надалі для створення нового синбіотику.

Висновки

1. Виділено, за результатами морфологічних і бактеріологічних методів досліджень 123 (73,7 %) ізоляти *Bacillus* spp. із 167 досліджених зразків біологічного матеріалу (лігатурованих відрізків кишечника) від перепелів.

2. За аналізом результатів морфологічних, культуральних, біохімічних випробувань ідентифіковано 7 (4,2 %) культур *Bacillus amyloliquefaciens* штамів: Bамyl-64, Bамyl-75, Bамyl-88, Bамyl-117, Bамyl-143, Bамyl-156, Bамyl-167.

3. Означені штам *Bacillus amyloliquefaciens* кріогенізовані, зберігаються за температури – 70±10 °C для подальших досліджень.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні рівнів антагоністичної активності *in vitro* до грампозитивних і грамнегативних індикаторних тестових культур та вивчення чутливості дослідних штамів *Bacillus amyloliquefaciens* до антибіотичних препаратів з відбором перспективних штамів для створення синбіотичного препарату.

Фінансування

Дослідження виконано за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України в рамках науково-прикладного проекту “Наукове обґрунтування превентивних та профілактичних заходів у продуктивних тварин за умов техногенного навантаження в контексті забезпечення продовольчої безпеки держави” (номер державної реєстрації 0124U001085).

Конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їхнього викладу та результатів досліджень.

References

1. Chechet, O. M., Kovalenko, V. L., Horbatiuk, O. I., Kuryata, N. V., Buchkovska, G. A., Musiets, I. V., Shalimova, L. V., Ordynska, D. O., Balanchuk, L. V., Shchur, N. V., & Shchur, N. V. (2023). On sensitivity to antibacterial preparations of strains of *Bacillus* spp. with a high level of antagonistic activity for the production of probiotics. *The Animal Biology*, 25 (2), 23–32. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.02.023>
2. Su, G. L., Ko, C. W., Bercik, P., Falck-Ytter, Y., Sultan, S., Weizman, A. V., & Morgan, R. L. (2020). AGA clinical practice guidelines on the role of probiotics in the management of gastrointestinal disorders. *Gastroenterology*, 159 (2), 697–705. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.05.059>
3. Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., Delzenne, N. M., & Sanders, M. E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17 (11), 687–701. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>
4. Guamer, F., Sanders, M. E., Szajewska, H., Cohen, H., Eliakim, R., Herrera-deGuise, C., Karakan, T., Merenstein, D., Piscocoy, A., Ramakrishna, B., Salminen, S., & Melberg, J. (2024). World gastroenterology organisation global guidelines: probiotics and prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 58 (6), 533–553. <https://doi.org/10.1097/mcg.0000000000002002>

5. Odriozola, A., González, A., Odriozola, I., Álvarez-Herms, J., & Corbi, F. (2024). Microbiome-based precision nutrition: Prebiotics, probiotics and postbiotics. *Advances in Host Genetics and Microbiome in Lifestyle-Related Phenotypes*, 111, 237–310. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2024.04.001>
6. Vinderola, G., Sanders, M. E., & Salminen, S. (2022). The concept of postbiotics. *Foods*, 11 (8), 1077. <https://doi.org/10.3390/foods11081077>
7. Li, H.-Y., Zhou, D.-D., Gan, R.-Y., Huang, S.-Y., Zhao, C.-N., Shang, A., Xu, X.-Y., & Li, H.-B. (2021). Effects and mechanisms of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics on metabolic diseases targeting gut microbiota: A narrative review. *Nutrients*, 13 (9), 3211. <https://doi.org/10.3390/nu13093211>
8. Koretchuk, S., Hunchak, A., & Stefanyshyn, O. (2021). Indicators of the cellular immunity of Japanese quails under the influence of the feed additive "Gumilid" and the synbiotic "Bilaksan". *Innovations in poultry: Materials of the 1-st International scientific and practical online conference (October 8, 2021)*. (pp. 70–73). Birky. Retrieved from: <http://avianua.com/conference/index.php?f=43>
9. Kumar, S., Mukherjee, R., Gaur, P., Leal, É., Lyu, X., Ahmad, S., Puri, P., Chang, C.-M., Raj, V. S., & Pandey, R. P. (2025). Unveiling roles of beneficial gut bacteria and optimal diets for health. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1527755>
10. Smolinska, S., Popescu, F.-D., & Zemelka-Wiacek, M. (2025). A Review of the influence of prebiotics, probiotics, synbiotics, and postbiotics on the human gut microbiome and intestinal integrity. *Journal of Clinical Medicine*, 14 (11), 3673. <https://doi.org/10.3390/jcm14113673>
11. Woldemariam, Y. K., Wan, Z., Yu, Q., Li, H., Wei, X., Liu, Y., Wang, J., & Sun, B. (2020). Prebiotic, probiotic, antimicrobial, and functional food applications of *Bacillus amyloliquefaciens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68 (50), 14709–14727. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06396>
12. Milian, V. O., Kharkhota, M. A., & Nechipurenko, O. O. (2014). Study of the probiotic properties of *Bacillus* sp. 1.1. and *B. amyloliquefaciens* UKM B-5113 strains. *ScienceRise*, 5 (5(1)), 15–22. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2014.32023>
13. Matseliukh, E. V. (2015). *Bacillus amyloliquefaciens* SUBSP. plantarum probiotic strains as protease producers. *Biotechnologia Acta*, 8 (2), 84–90. <https://doi.org/10.15407/biotech8.02.084>
14. Lim, P. S., Loke, C. F., Ho, Y. W., & Tan, H. Y. (2020). Cholesterol homeostasis associated with probiotic supplementation *in vivo*. *Journal of Applied Microbiology*, 129 (5), 1374–1388. <https://doi.org/10.1111/jam.14678>
15. Molyanova, G. V., Ermakov, V. V., Stmkina, O. V., & Vinokurova, A. P. (2024). The effect of *Bacillus amyloliquefaciens* on the body of goats. *Bulletin Samara State Agricultural Academy*, 9 (3), 101–107. <https://doi.org/10.55170/1997-3225-2024-9-3-101-107>
16. Chemerovska, I. O., Rublenko, I. O., Musiets, I. V., & Horbatiuk, O. I. (2024). Distribution of pathogenic and opportunistic microorganisms in raw materials and products of animal origin. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 26 (116), 54–63. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11608>
17. Smirnov, V V, Reznik, S R, & Sorokulova, I B. (1983). *Methodological recommendations for the isolation and identification of bacteria of the genus Bacillus from the organisms of humans and animals*. Kyiv: Naukova Dumka.
18. Pasichna, I. O., & Vdovychenko, V. I. (2021). Modern aspects of the use of drugs of microbial origin. *Modern Gastroenterology*, 1. <https://doi.org/10.30978/mg-2021-1-32>
19. Kim, J., & Kong, M. (2025). Isolation and Characterization of a *Bacillus amyloliquefaciens* bacteriophage JBA6 and its endolysin PlyJBA6. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35. <https://doi.org/10.4014/jmb.2502.02026>
20. Tang, X., Liu, X., & Liu, H. (2021). Effects of dietary probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on carcass traits, meat quality, amino acid, and fatty acid profile of broiler chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.767802>
21. Sheng, W., Ji, G., & Zhang, L. (2023). Immunomodulatory effects of inulin and its intestinal metabolites. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1224092>
22. Fernandes, A. S. T. R., Petrillo, T., Yunis-Aguinaga, J., Fernandes, M. P., Da Silva Claudiano, G., Ruas de Moraes, F., & Engrácia de Moraes, J. R. (2017). Effects of the probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* on growth performance, hematology and intestinal morphometry in cage-reared Nile tilapia. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43 (5), 963–971. <https://doi.org/10.3856/vol43-issue5-fulltext-16>
23. Sheina, N. I., Skryabina, E. G., Myalina, L. I., Budanova, E. V., Sazonova, L. P., Kolesnikova, V. V., & Chub, G. G. (2016). Microorganism *Bacillus amyloliquefaciens* OPS-32. *Toxicological Bulletin*, 4 (139), 54–56.
24. Chechet, O. M., Kovalenko, V. L., Horbatiuk, O. I., Gaidei, O. S., Kravtsova, O. L., Andriyashchuk, V. O., Musiets, I. V., & Ordynska, D. O. (2022). Antagonistic properties of a probiotic preparation containing bacteria of the genera *Bacillus* and *Enterococcus*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13 (4), 362–366. <https://doi.org/10.15421/022247>
25. Nechypurenko, O. O., Kharkhota, M. A., Bordunos, K. S., & Avdieieva, L. V. (2015). Growth and carotenoid formation by *Bacillus amyloliquefaciens* UKM B-5113 and *B. subtilis* 1.1 under submerged cultivation conditions. *Microbiology & Biotechnology*, 2(30), 41–48. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2015.2\(30\).48073](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2015.2(30).48073)
26. Zavišić, G., Ristić, S., Petković, B., Živkov-Šaponja, D., Jojić, N., & Janković, D. (2023). *Microbiological quality of probiotic products*. *Arhiv Za Farmaciju*, 73 (1), 17–34. <https://doi.org/10.5937/arhfarm73-42160>

ORCID

- | | |
|---|---|
| H. Buchkovska  | https://orcid.org/0009-0007-4449-614X |
| O. Vishchur  | https://orcid.org/0000-0003-4503-3896 |
| V. Melnychuk  | https://orcid.org/0000-0003-1927-1065 |
| O. Chechet  | https://orcid.org/0000-0001-5099-5577 |
| O. Gorbatiuk  | https://orcid.org/0000-0002-0573-2089 |
| I. Rublenko  | https://orcid.org/0000-0002-1401-0969 |
| O. Pishchanskiy  | https://orcid.org/0009-0002-0111-4977 |
| L. Balanchuk  | https://orcid.org/0000-0003-0989-5886 |
| O. Zhovniir  | https://orcid.org/0000-0003-1677-2120 |



2025 by the author(s). This is an open-access article distributed under the Creative Commons Attribution License <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.