

УДК 579.22:579.6:579.64:606

Научная статья



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2022-362-9-143-146

Р.Ж.К. Диабанкана^{1,2}, ✉
А.Н. Чернов³,
Ш.З. Валидов¹,
Д.М. Афордоanyi^{1,3}

¹ Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской
академии наук», Казань, Российская
Федерация

² Центр агроэкологических исследований,
Казанский государственный аграрный
университет, Казань, Российская
Федерация

³ Татарский научно-исследовательский
институт агрохимии и почвоведения,
Казань, Российская Федерация

✉ diabas.gilles@gmail.com

Поступила в редакцию:
06.05.2022

Одобрена после рецензирования:
15.08.2022

Принята к публикации:
12.09.2022

Research article



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2022-362-9-143-146

Roderic G.C. Diabankana^{1,2}, ✉
Albert N. Chernov³,
Shamil Z. Validov¹,
Daniel M. Afordoanyi^{1,3}

¹ Federal Research Center "Kazan Scientific
Center of the Russian Academy of Sciences",
Kazan, Russian Federation

² Center for Agroecological Research, Kazan
State Agrarian University, Kazan, Russian
Federation

³ Tatar Research Institute of Agrochemistry
and Soil Science, Kazan, Russian Federation
✉ diabas.gilles@gmail.com

Received by the editorial office:
06.05.2022

Accepted in revised:
15.08.2022

Accepted for publication:
12.09.2022

Способность *Bacillus mojavensis* PS17 к росту и синтезу экзогенных ферментов в условиях низких температур

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Микроорганизмы, растущие при низкой температуре, играют ключевую роль в биохимических циклах холодной экосистемы. Эти микроорганизмы выделяют ферменты с широким спектром действия при низкой температуре, которые могут быть использованы в различных областях биотехнологической промышленности.

Методы. Для изучения психротолерантной бактерий *Bacillus mojavensis* PS17 использовали суспензию, которую приготовили из ночной культуры. Способность *Bacillus mojavensis* PS17 расти в условиях пониженных температур изучали путем кинетического измерения оптической плотности (OD) при длине волны (λ) 595 нм. Для этого бактериальную суспензию *Bacillus mojavensis* PS17 инокулировали в минимальную среду и инкубировали при различных низких температурах (5, 8 и 12 ± 1 °C). Кривую роста измеряли каждый час с использованием спектрофотометра. Активность экзогенных ферментов определяли путем инокуляции и инкубации при температуре 4 ± 1 °C бактериальной суспензии *Bacillus mojavensis* PS17 на минимальной среде BM с добавлением 1% различных субстратов, такие как сухое молоко, Tween-80 и карбоксиметилцеллюлоза натрия.

Результаты. Результаты показали, что при низких температурах *Bacillus mojavensis* PS17 способен к росту. Оценка активности экзогенных ферментов показала, что выделяемые ферменты исследуемого штамма не теряют свои свойства. Полученные данные могут свидетельствовать о широком температурном интервале активности штамма *B. mojavensis* PS17 и препаратов на его основе, а также о возможности промышленного использования экзоферментов этого штамма в различных отраслях промышленности: пищевой, текстильной и фармацевтической.

Ключевые слова: психротолерантные бактерии, активность экзогенных ферментов, фитаза, протеиназа, амилаза, целлюлаза, *Bacillus mojavensis* PS17

Для цитирования: Диабанкана Р.Ж.К., Чернов А.Н., Валидов Ш.З., Афордоanyi Д.М. Способность *Bacillus mojavensis* PS17 к росту и синтезу экзогенных ферментов в условиях низких температур. Аграрная наука. 2022; 362 (9): 143–146. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-362-9-143-146>

© Диабанкана Р.Ж.К., Чернов А.Н., Валидов Ш.З., Афордоanyi Д.М.

The ability of *Bacillus mojavensis* PS17 to grow and synthesize exogenous enzymes at low temperatures

ABSTRACT

Relevance. Microorganisms growing at low temperatures play a key role in the biochemical cycles in cold ecosystems. These microorganisms secrete enzymes with a wide range of activity at low temperature, which can be used in various fields of the biotechnology industry.

Methods. To study the psychrotolerant ability of *Bacillus mojavensis* PS17 bacteria, a bacterial suspension prepared from a nocturnal culture was used. The ability of *Bacillus mojavensis* PS17 to grow at low temperatures was studied by kinetic measurement of optical density (OD) at a wavelength (λ) of 595 nm. For this purpose, bacterial suspension of *Bacillus mojavensis* PS17 was inoculated into a basal medium and incubated at various low temperatures (5, 8, and 12 ± 1 °C) for 12 hours. The growth curve was measured every hour using a spectrophotometer. The activity of exogenous enzymes was determined by inoculation and incubation at a temperature of 4 ± 1 °C a *Bacillus mojavensis* PS17 bacterial suspension on a basal medium amended with 1% of different substrates such as milk powder, Tween-80 and sodium carboxymethylcellulose.

Results. The results showed that *Bacillus mojavensis* PS17 can grow at low temperatures. Evaluation of the activity of exogenous enzymes showed that the isolated enzymes of the studied strain do not lose their properties in conditions of low temperatures. The studied psychrotolerant properties of *Bacillus mojavensis* PS17 bacteria can be used in various manufacturing biotechnology such as food, textile and pharmaceutical.

Key words: psychrotolerant bacteria, exogenous enzymes activity, phytase, protease, amylase, cellulase, *Bacillus mojavensis* PS17

For citation: Diabankana R.G.C., Chernov A.N., Validov S.Z., Afordoanyi D.M. The ability of *Bacillus mojavensis* PS17 to grow and synthesize exogenous enzymes at low temperatures. Agrarian science. 2022; 362 (9): 143–146. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-362-9-143-146> (In Russian).

© Diabankana R.G.C., Chernov A.N., Validov S.Z., Afordoanyi D.M.

Введение / Introduction

Абиотические факторы стресса, такие как засуха, засоление почвы и низкие температуры, наносят серьезный ущерб росту и продуктивности продовольственных культур [1]. Среди этих факторов низкие температурные условия в средней полосе особенно часты и негативно влияют на состав, разнообразие, структуру сообщества микроорганизмов, почвенную микробную биомассу, а также снижают запас питательных веществ в почве [2].

Кроме ростовой активности микроорганизмов, при пониженных температурах может также снижаться активность выделяемых ими ферментов: известно, что при снижении температуры до 10 °C десятикратно снижается активность большинства ферментов [3]. Психрофильные бактерии представляют собой микроорганизмы, способные расти при низких температурах, а психротолерантные — способны переносить более низкие температуры с более медленными темпами роста [4]. Способность психрофильных и психротолерантных микроорганизмов расти при низких температурах основана на механизмах, которые позволяют им преодолевать стрессы, вызванные низкой температурой окружающей среды.

Это стрессы, которые снижают активность ферментов, текучесть мембран, транспорт питательных веществ, скорость транскрипции, трансляции, клеточного деления, а также стрессы, которые вызывают холодовую денатурацию белков [5, 6]. Психрофильные и психротолерантные микроорганизмы обладают широким спектром метаболической активности в холодных экосистемах.

Применение ферментов этих микроорганизмов в различных отраслях промышленности, таких как пищевая, текстильная, химическая, фармацевтическая [7, 9], снизит желательные температуры химических реакций, сейчас требующих высоких температур, кроме того, их можно легко инактивировать при использовании высоких температур.

В сельском хозяйстве важными факторами являются температурные условия. Например, посев и обработка посадочных озимых культур (таких как ячмень, пшеница) биопрепаратами, как правило, происходят при достаточно низких температурах; чтобы обработка растений органическими препаратами была успешной, необходимо, чтобы используемый штамм был психротолерантным, следовательно, использование психрофильных/психротолерантных бактерий является эффективной и экологичной возможностью для оптимизации сельскохозяйственного производства и компенсации воздействия низких температур. Учитывая тот факт, что ферменты, активные при более низких температурах, востребованы в производствах, скрининг полезных психротолерантных микроорганизмов всегда актуален.

Целью работы была оценка *B. mojavensis* PS17 в качестве психротолерантной бактерии, а также ее способности продуцировать внеклеточные ферменты при низких температурах.

Материал и методы исследования /

Materials and method

Штамм *B. mojavensis* PS17 (патент РФ RU2737208C1) [10], используемый в данной работе, был выделен из семян яровой пшеницы (*Triticum aestivum*) сорта Садакат (Республика Таджикистан). Штамм депонирован во Всероссийской промышленной коллекции микроорганизмов (Москва, Россия) под регистрационным номером В-13415. Последовательность 16S rPHK *B. mojavensis* PS17 депонирована в базе данных GenBank

NCBI (National Center for Biotechnology Information) под регистрационным номером MW350040.

Приготовление бактериальной суспензии: культуру *B. mojavensis* PS17 выращивали в бульоне Lysogeny broth (LB), состоящем из 10 г/л пептона; 5 г/л дрожжевого экстракта и 10 г/л NaCl, в течение 15 часов при 28 °C с непрерывным перемешиванием со скоростью 200 об/мин. Полученную культуру осаждали центрифугированием при 4000 об/мин в течение 10 мин. Осадок ресуспендировали в стерильном фосфатно-солевом буфере («VWR», США). Плотность полученной суспензии была доведена до 0,5 при 595 нм с помощью разведения в том же фосфатном буфере.

Способность *Bacillus mojavensis* PS17 расти в условиях пониженных температур изучали путем кинетического измерения оптической плотности (OD) при длине волны (λ) 595 нм. Для этого 1/100 объема бактериальной суспензии *B. mojavensis* PS17 инокулировали в минимальную питательную среду (БМ: K_2HPO_4 , 5,8 г/л; K_2HPO_4 , 3 г/л; $(NH_4)_2SO_4$, 1 г/л; агар, 18 г/л) и инкубировали при разных температурах (5, 8, и $12 \pm 1^\circ C$). Кривую роста *B. mojavensis* PS17 измеряли каждый час с использованием спектрофотометра «SPECTROstar NANO» («BMG Labtech», Германия). Для статистической достоверности каждый эксперимент проводился в трёх повторах. Определение энзиматической активности производили при 4 °C, проверяя чашки ежедневно в течение 10 дней.

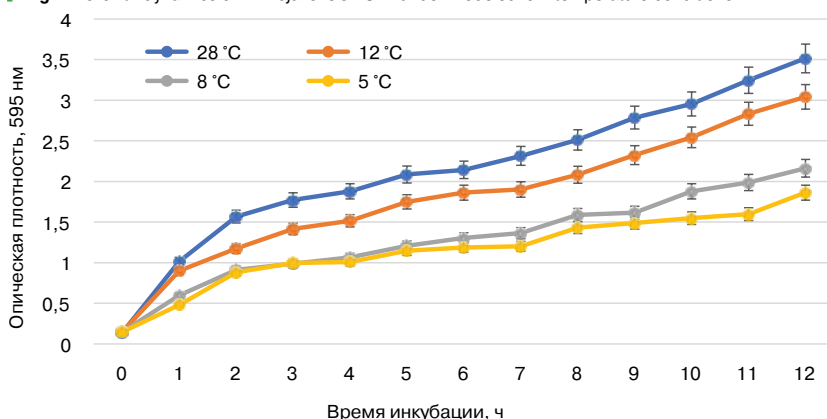
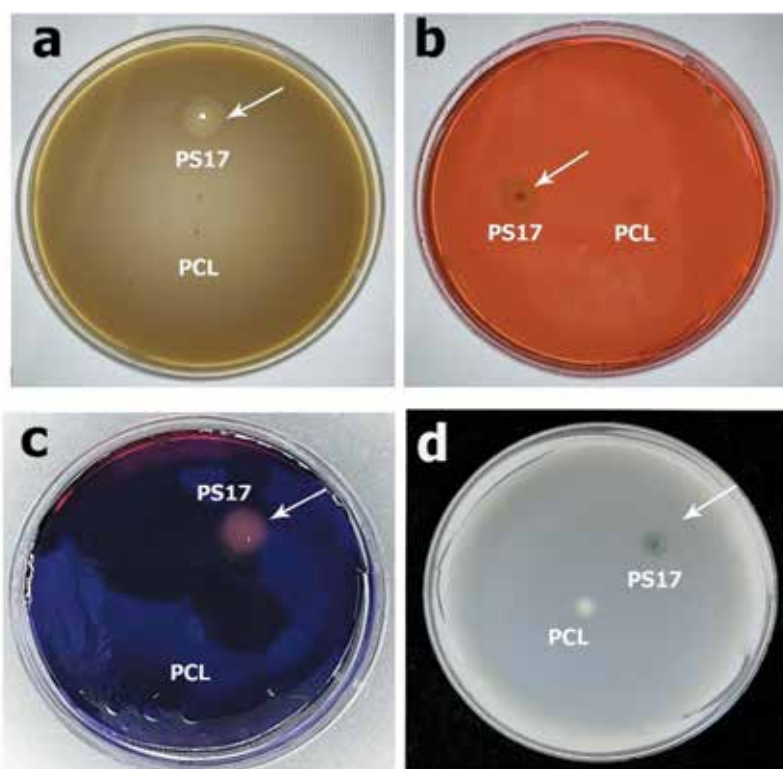
Для определения протеазной активности штамм *B. mojavensis* PS17 высевали на агаризованную питательную среду БМ с добавлением 1% сухого молока. О протеазной активности судили по появлению зоны просветления вокруг колонии PS17. Целлюлазную активность определяли на среде БМ с добавлением 1% карбоксиметилцеллюлозы (натриевая соль). После инкубирования в течение 1–10 дней при 4 °C чашки Петри прокрашивали 0,2%-ным раствором конго красного в течение 5 минут, а затем промывали 0,5%-ным раствором KCl. О целлюлазной активности судили по появлению непрокрашиваемых зон около бактериальных колоний. Для определения липазной активности в среду добавляли 1% полисорбата 80 (Tween-80). Липазная активность проявлялась в виде белых кристаллов, возникающих под колонией в агаре.

Амилазную активность определяли путём инокулирования бактериальной суспензии *B. mojavensis* PS17 на амилазную питательную среду (пептон, 0,5 %; KCl, 0,1%; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5%; длина волны 595 нм; $(NH_4)_2SO_4$, 0,1%; NH_4NO_3 , 0,1%, крахмал, 2%). Фитазную активность *B. mojavensis* PS17 при низких температурах проверяли путем инокулирования и инкубирования при температуре 4 °C бактериальной суспензии на фитазную питательную среду (глюкоза, 15 г/л; фитат кальция ($C_6H_6Ca_6O_{24}P_6$), 5 г/л; NH_4NO_3 , 5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 г/л; KCl, 0,5 г/л; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01 г/л; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 0,01 г/л; агар, 18 г/л). Образование просветления вокруг колоний рассматривалось как фитазная активность.

Результаты и обсуждение /

Results and discussion

Результат эксперимента по моделированию температурных условий показал, что *B. mojavensis* PS17 умеренно растет при низких температурах (рис. 1), поскольку наблюдается снижение скорости роста по сравнению с ростом при оптимальной температуре 28 °C (рис. 1). Скорость роста *B. mojavensis* PS17 снижалась пропорционально снижению температуры от 12 до 5 °C.

Рис. 1. Динамика роста *B. mojavensis* PS17 в моделированных условиях низких температур**Fig. 1.** Growth dynamics of *B. mojavensis* PS17 under modeled low-temperature conditions**Рис. 2.** Анализ активности экзогенных ферментов (а) протеаза, (б) целлюлаза, (с) амилаза и (д) фитазы *Bacillus mojavensis* PS17 при низкой температуре (4 ± 1 °C). Стрелки указывают на образование зоны активности ферментов. PS17 и PCL — *Bacillus mojavensis* PS17 и *Pseudomonas putida* PCL1760. *P. putida* PCL1760 был использован в качестве отрицательного контроля**Fig. 2.** Exogenous enzymatic assay (a) protease, (b) cellulase, (c) amylase, and (d) phytase of *B. mojavensis* PS17 at low temperature (4 ± 1 °C). The arrows indicate the formation of enzymatic activities zones. PS17 and PCL — *Bacillus mojavensis* PS17 and *Pseudomonas putida* PCL1760. *P. putida* PCL1760 was used as a negative control

О способности представителей рода *Bacillus* развиваться при низких температурах было сообщено во многих исследованиях [11–13]. Например, *Bacillus subtilis* (близкий родственник *Bacillus mojavensis*), выделенный из ферментированного корма, проявил способность расти в различных диапазонах температур (от 4 до 50 °C) [14]. Следовательно, полученный результат подтверждает выдвинутую нами гипотезу, что *Bacillus mojavensis* PS17 является психротолерантной бактерией.

Способность *Bacillus mojavensis* PS17 продуцировать экзогенные ферменты, такие как протеаза, целлюлаза, бета-глюконаза, была описана в нашем предыдущем исследовании [15]. В данной работе экзоферменты (амилаза, протеазы, целлюлазы и фитазы), продуцируемые *B. mojavensis* PS17, активно синтезировались в условиях низких температур. Результаты скрининга показали, что продуцируемые внеклеточные гидролитические ферменты активны при температуре 4 ± 1 °C, поскольку образование зоны гидролиза субстратов наблюдалось на всех тестовых средах (рис. 2). Среди них протеаза и амилаза были наиболее активными внеклеточными гидролитическими ферментами (рис. 2а и 2с).

Выводы / Conclusion

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы. Штамм *Bacillus mojavensis* PS17 способен расти в условиях низких температур. Бактериальный штамм *Bacillus mojavensis* PS17 является психротолерантно-мезофильной бактерией. Выделяемые штаммом *Bacillus mojavensis* PS17 протеолитические экзоферменты активны при низких температурах (4 ± 1 °C). Полученные результаты свидетельствуют о высоком потенциале применения данного штамма в различных отраслях биотехнологии.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.
Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу.
Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work.
The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.
The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование проведено при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации: соглашение № 075-15-2021-1395 от 25.10.2022, уникальный идентификатор контракта: RF----1930.61321X0001, номер проекта: 15.IP.21. 0020.

FUNDING

The study was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation: agreement No. 075-15-2021-1395 dated October 25, 2022, unique contract identifier: RF----1930.61321X0001, project number: 15.IP.21. 0020.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Kumar R, Singh PC, Singh S. A review report: Low temperature stress for crop production. *Int. J. Pure Appl. Biosci.* 2018; 6: 575-598. <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.3031>
- Lin YT, Jia Z, Wang D, Chiu CY. Effects of temperature on the composition and diversity of bacterial communities in bamboo soils at different elevations. *Biogeosciences*. 2017; 14(21): 4879-4889. <https://doi.org/10.5194/bg-14-4879-2017>
- Feller G, Gerday C. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. *Nature reviews microbiology*. 2003; 1(3):200-208. <https://doi.org/10.1038/nrmicro773>
- Morita RY. "Psychrophilic Bacteria." *Bacteriol Rev.* 1975; 39: 144-167. <https://doi.org/10.1128/br.39.2.144-167.1975>
- Margesin R, Fauster V, Fonteyne PA. Characterization of Cold active Pectate Lyases from Psychrophilic *Mrakia Frigid*. *Letters in Applied Microbiology*. 2005; 40 (6): 453-459. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01704.x>
- Casanueva A, Tuffin M, Cary C, Cowan DA. Molecular adaptations to psychrophily: the impact of 'omic' technologies. *Trends Microbiol.* 2010; 18: 374-381. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.05.002>
- Niehaus F, Gabor E, Wieland S, Siegert P, Maurer KH, Eck J. Enzymes for the laundry industries: tapping the vast metagenomic pool of alkaline proteases. *Microbial biotechnology*. 2011; 4(6):767-776. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00279.x>
- Raveendran S, Parameswaran B, Ummalya SB, Abraham A, Mathew A K, Madhavan A, Pandey A. Applications of microbial enzymes in food industry. *Food technology and biotechnology*. 2018; 56(1):16. Doi: 10.17113/ftb.56.01.18.5491
- Nigam PS. Microbial enzymes with special characteristics for biotechnological applications. *Biomolecules*. 2013; 3(3):597-611. <https://doi.org/10.3390/biom3030597>
- Сафин Р.И., Каримова Л.З., Валидов Ш.З., Комиссаров Э.Н., Диабанкана Р.Ж.К. Патент на изобретение 2737208 С1, 26.11.2020. Заявка № 2019141759 от 13.12.2019.
- Lechner S, Mayr R, Francis KP, Prü BM, Kaplan T, Wiefner-Gunkel Elke, Scherer S. *Bacillus weihenstephanensis* sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. *Int. J. Syst. Evol.* 1998; 48(4): 1373-1382. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1373>
- Ivy RA, Ranieri ML, Martin NH, den Bakker HC, Xavier BM, Wiedmann M, Boor KJ. Identification and characterization of psychrotolerant sporeformers associated with fluid milk production and processing. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(6):1853-1864. <https://doi.org/10.1128/AEM.06536-11>
- Gauvry E, Mathot AG, Couvert O, Leguérinel I, Coroller L. Effects of temperature, pH and water activity on the growth and the sporulation abilities of *Bacillus subtilis* BSB1. *International Journal of Food Microbiology*, 2021; 337: 108915. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108915>
- Trimulyono G. Temperature range and degree of acidity growth of isolate of indigenous bacteria on fermented feed "fermege". *J. Phys.: Conf. Ser.* IOP Publishing. 2018; 953(1): 012209. doi: 10.1088/1742-6596/953/1/012209
- Diabankana RGC, Afordoanyi DM, Safin RI, Nizamov RM, Karimova LZ, Validov SZ. Antifungal Properties, Abiotic Stress Resistance, and Biocontrol Ability of *Bacillus mojavensis* PS17. *Current Microbiology*. 2021; 78(8):3124-3132. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02578-7>

ОБ АВТОРАХ:

Родерик Жиль Кларе Диабанкана, младший научный, лаборатория Молекулярно-Генетических и Микробиологических Методов – Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук». 2/31. ул. Лобачевского. Казань, 420111, Российская Федерация; младший научный сотрудник, Центр Агроэкологических Исследований – Казанский Государственный Аграрный Университет. 65 ул. Карла Маркса, Казань, 420111, Российская Федерация <https://orcid.org/0000-0002-8876-8270>. E-mail: diabas.gilles@gmail.com

Альберт Николаевич Чернов, доктор биологических наук, заведующий отделом животноводства и ветеринарии, главный научный сотрудник, Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра Казанский научный центр Российской академии наук. 2/31. ул. Лобачевского. Казань, 420111, Российская Федерация <https://orcid.org/0000-0002-9007-5641>. E-mail: rt-kazan@mail.ru

Шамиль Завдатович Валидов, доктор биологических наук, заведующий лабораторией, лаборатория Молекулярно-Генетических и Микробиологических Методов – Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук». 2/31. ул. Лобачевского. Казань, 420111, Российская Федерация <https://orcid.org/0000-0002-9441-409X>. E-mail: szvalidov@kpfu.ru

Дэниел Мавуэна Афордоanyi, кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатория Молекулярно-Генетических и Микробиологических Методов – Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук». 2/31. ул. Лобачевского. Казань, 420111, Российская Федерация. Научный сотрудник, Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра Казанский научный центр Российской академии наук. 2/31. ул. Лобачевского. Казань, Российская Федерация <https://orcid.org/0000-0002-0494-3693> E-mail: daforadoan@gmail.com

REFERENCES

- Kumar R, Singh PC, Singh S. A review report: Low temperature stress for crop production. *Int. J. Pure Appl. Biosci.* 2018; 6: 575-598. <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.3031>
- Lin YT, Jia Z, Wang D, Chiu CY. Effects of temperature on the composition and diversity of bacterial communities in bamboo soils at different elevations. *Biogeosciences*. 2017; 14(21): 4879-4889. <https://doi.org/10.5194/bg-14-4879-2017>
- Feller G, Gerday C. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. *Nature reviews microbiology*. 2003; 1(3):200-208. <https://doi.org/10.1038/nrmicro773>
- Morita RY. "Psychrophilic Bacteria." *Bacteriol Rev.* 1975; 39: 144-167. <https://doi.org/10.1128/br.39.2.144-167.1975>
- Margesin R, Fauster V, Fonteyne PA. Characterization of Cold active Pectate Lyases from Psychrophilic *Mrakia Frigid*. *Letters in Applied Microbiology*. 2005; 40 (6): 453-459. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01704.x>
- Casanueva A, Tuffin M, Cary C, Cowan DA. Molecular adaptations to psychrophily: the impact of 'omic' technologies. *Trends Microbiol.* 2010; 18: 374-381. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.05.002>
- Niehaus F, Gabor E, Wieland S, Siegert P, Maurer KH, Eck J. Enzymes for the laundry industries: tapping the vast metagenomic pool of alkaline proteases. *Microbial biotechnology*. 2011; 4(6):767-776. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00279.x>
- Raveendran S, Parameswaran B, Ummalya SB, Abraham A, Mathew A K, Madhavan A, Pandey A. Applications of microbial enzymes in food industry. *Food technology and biotechnology*. 2018; 56(1):16. Doi: 10.17113/ftb.56.01.18.5491
- Nigam PS. Microbial enzymes with special characteristics for biotechnological applications. *Biomolecules*. 2013; 3(3):597-611. <https://doi.org/10.3390/biom3030597>
- Safin R.I., Karimova L.Z., Validov S.Z., Komissarov E.N., Diabankana R.G.C. Patent for invention 2737208 C1, 11/26/2020. Application no. 2019141759 dated 13.12.2019. (In Russian.)
- Lechner S, Mayr R, Francis KP, Prü BM, Kaplan T, Wiefner-Gunkel Elke, Scherer S. *Bacillus weihenstephanensis* sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. *Int. J. Syst. Evol.* 1998; 48(4): 1373-1382. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1373>
- Ivy RA, Ranieri ML, Martin NH, den Bakker HC, Xavier BM, Wiedmann M, Boor KJ. Identification and characterization of psychrotolerant sporeformers associated with fluid milk production and processing. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(6):1853-1864. <https://doi.org/10.1128/AEM.06536-11>
- Gauvry E, Mathot AG, Couvert O, Leguérinel I, Coroller L. Effects of temperature, pH and water activity on the growth and the sporulation abilities of *Bacillus subtilis* BSB1. *International Journal of Food Microbiology*, 2021; 337: 108915. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108915>
- Trimulyono G. Temperature range and degree of acidity growth of isolate of indigenous bacteria on fermented feed "fermege". *J. Phys.: Conf. Ser.* IOP Publishing. 2018; 953(1): 012209. doi: 10.1088/1742-6596/953/1/012209
- Diabankana RGC, Afordoanyi DM, Safin RI, Nizamov RM, Karimova LZ, Validov SZ. Antifungal Properties, Abiotic Stress Resistance, and Biocontrol Ability of *Bacillus mojavensis* PS17. *Current Microbiology*. 2021; 78(8):3124-3132. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02578-7>

ABOUT THE AUTHORS:

Roderic Gilles Claret Diabankana, associated researcher, Laboratory of Molecular Genetic and Microbiological Methods – Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences". 2/31 Lobachevsky str., Kazan, 2/31. ул. Лобачевского, Казань, 420111, Российская Федерация, Russian Federation; associated researcher, Centre for Agroecological Research – Kazan State Agrarian University. 65, Karl Marx str., Kazan, 420111, Russian Federation <https://orcid.org/0000-0002-8876-8270>. E-mail: diabas.gilles@gmail.com.

Albert Nikolaevich Chernov, doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Chief Researcher, Tatar Scientific Research Institute of Agrochemistry and Soil Science - structural subdivision of the Federal Research Center Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2/31, Lobachevsky str., Kazan, 2/31. ул. Лобачевского. Казань, 420111, Российская Федерация Russian Federation <https://orcid.org/0000-0002-9007-5641>. E-mail: rt-kazan@mail.ru

Shamil Zavdatovich Validov, doctor of Biological Sciences, Head of the laboratory of Molecular Genetics and Microbiological Methods – Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences". 2/31, Lobachevsky str., Kazan, 420111, Russian Federation <https://orcid.org/0000-0002-9441-409X>. E-mail: szvalidov@kpfu.ru

Daniel Mavuen Aforadoanyi, candidate of Biological Sciences, researcher, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences". 2/31 Lobachevsky str., Kazan, 420111, Russian Federation; Tatar Scientific Research Institute of Agrochemistry and Soil Science - structural subdivision of the Federal Research Center Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2/31, Lobachevsky str., Kazan, Russian Federation <https://orcid.org/0000-0002-0494-3693> E-mail: daforadoan@gmail.com