

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI

Əlyazması hüququnda

KSİLOTROF MAKROMİSETLƏRDƏN PROTEOLİTİK FERMENTLƏRİN PRODUSENTİ KİMİ İSTİFADƏNİN FİZİOLOJİ BİOKİMYƏVİ ƏSASLARI

İxtisas: 2430.01 – Mikologiya

Elm sahəsi: Biologiya

İddiaçı: **Gülnar İsa qızı Hüseynova**

Fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün
təqdim olunan dissertasiyanın

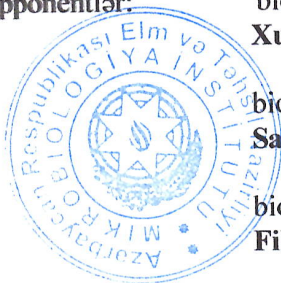
AVTOREFERATI

Bakı – 2024

Dissertasiya işi AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun «Mikrobioloji biotexnologiya» laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbər: **biologiya elmləri doktoru
Fuad Mamay oğlu Qulubəyov**

Rəsmi opponetlər: **biologiya elmləri doktoru, professor
Xudaverdi Qənbər oğlu Qənbərov**



**biologiya üzrə fəlsəfə doktoru, dosent
Səbiyə Məlikməmməd qızı Cəbrayılzadə**

**biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
Fikrət Tofiq oğlu Əliyev**

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Ali Attestasiya Komissiyasının AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən FD 1.07 Dissertasiya şurası.

Dissertasiya şurasının sədri: **AMEA-nın müxbir üzvi, biologiya elmləri doktoru, professor
Pənah Zülfiqar oğlu Muradov**

Dissertasiya şurasının elmi katibi: **biologiya üzrə fəlsəfə doktoru, dosent
Günəl Əli qızı Qasımova**

Elmi seminarın sədri: **biologiya elmləri doktoru, professor
Gülər Mircəfər qızı Seyidova**

GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı və işlənmə dərəcəsi. Texnologiyanın yüksələn xəttlə inkişaf etdiyi müasir zaman - əhali sayının artımı, ekoloji təmiz qidanın, qıdada mühüm zülalların, mineral maddələrin ciddi şəkildə çatışmazlığı ilə müşahidə olunur. Bu problemlərin həlli və təbii məhsulların alınması, dünya əhalisinin genomsuz qida, qidanın protein əlavələri ilə təminatı, bioloji aktiv maddələrin əhalinin təlabatını ödəməsi hal-hazırda elmin (farmokologiyanın, mikrobiologiya və biotexnologiyanın) ən prioritet sahəsinə çevrilmişdir.

Bioloji cəhətdən qiymətli qida məhsulları almaq üçün bitki tullantılarının yararlı hala salınması və səmərəli şəkildə istifadəsi, ətraf mühitə zərərli təsirini azaldaraq normal ekoloji mühitin saxlanılması elmi tədqiqatçıların əsas məqsədləridir. Bu məqsədlə bitki mənşəli tullantıların təkrar texnologiyasının bioloji əsaslarla işlənilməsi daha perspektivli hesab edilir ki, bunun da *“enzimoloji və mikrobioloji olmaqla iki tipi mövcuddur¹”*.

Bitki tullantılarında mikroorqanizmləri, o cümlədən göbələkləri becərməklə onların müxtəlif məqsədli məhsullara çevrilməsindən ibarət olan mikrobioloji konversiya nəticəsində xeyli müsbət nəticələr əldə etmişdir. Bitki tullantılarının enzimoloji konversiya yolu ilə utilizasiyası zamanı aktiv ferment produsentlərinin seçimi - yaxşı nəticələr əldə etməyin ən əsas şərtidir. Hidrolitik fermentlər enzimoloji konversiyanın əsas qüvvəsini təşkil edir.

Amilolitik, lipolitik, proteolitik və s. hidrolitik təsir tipinə malik fermentlərin köməyi ilə patogen göbələk-sahib substratın hüceyrə membranı parçalayaraq toxumanın daxilinə keçir və substratın antitellərini, zülal sintezi mexanizmini tamamilə sıradan çıxarır. Bu prosesdə, yəni *“invaziyanın, virulentliyin fizioloji mexanizminin öyrənilməsi cəhətdən isə proteolitik fermentlər xüsusi əhəmiyyət kəsb*

¹ Машанов, А.И., Величко, Н.А., Ташлыкова Е.Е. Биоконверсия растительного сырья: учеб. Пособие. Красноярск: Краснояр. гос. аграр. ун-т., 2014. – 223 с.

edir"². Göbələklərin, o cümlədən ksilotrof makromisetlərin "*sintez etdiyi qələvi proteaza, sisteinproteaza, metalloproteaza, aspartatproteaza və s. fermentlər*"^{3,4} digərləri ilə birgə patogen göbələyin sahib bitkinin daxilinə keçməsinə və patogenin qidalanmasında mühüm rol oynayır. Belə ki, proteazalar ksilotrof makromisetlərin ağaclarda məskunlaşması zamanı bitki toxumasının zülal kütləsini destruksiya etməsinə, bitkinin ferment istehsalının və immunitet sisteminin-antitellərinin məhv edilməsinə (nəzərə alaq ki immun sisteminin hissəcikləri protein mənşəlidir) mühüm rol oynayır.

Aydındır ki, "*bitki qalıqlarının minerallaşması və bu mineralların təbiətdəki qida zəncirinə qayıtması ksilotrofların parçalayıcı-patogenlik xüsusiyyətləri ilə səciyyələnir*"⁵. Patogenlik ilə proteolitik fermentlər arasında sıx bağlılığın olması da müəyyən edilmişdir.

İqtisadi və ekoloji üstünlüklərinə görə sənaye sahələrində fermentlərə olan tələbat sürətlə artır. Fermentlər qida sənayesində, yüngül sənayedə, tibbdə və farmokologiyada geniş tətbiq sahəsinə malikdir. Göbələklərin ifraz etdiyi hüceyrəxarici hidrolitik fermentlərdən fibrinolitik və antikoagulyativ təsirə malik olanlar trombozun müalicəsində istifadə edilir. Deməli, farmokologiyada da dərman istehsalatında da fermentlərin rolu əvəzsizdir.

Sənaye sahələrində də proteazalar xüsusi diqqət qazanmışlar. Müxtəlif tədqiqatçılar tərəfindən "*bu fermentlərin produsentləri olaraq müxtəlif mənbələr göstərsədə, bakteriya və göbələklərdən alınanlar*

² Yang N, Matthew MA, Yao C. Roles of Cysteine Proteases in Biology and Pathogenesis of Parasites. //Microorganisms,- 2023; 11(6):1397. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061397>

³ Song P, Zhang X, Wang S, Xu W, Wang F, Fu R, Wei F. Microbial proteases and their applications. Front Microbiol. 2023 Sep 14; 14:1236368. doi: 10.3389/fmicb.2023.1236368

⁴ Kumar Ch. N., Koreti, D., Kosre, A., & Kumar, A. Proteolytic Enzymes Derived from a Macro Fungus and Their Industrial Application// IntechOpen., 2022. doi: 10.5772/intechopen.102385

⁵ Singh, C., & Vyas, D. Biodegradation by Fungi for Humans and Plants Nutrition.// IntechOpen, 2022. doi: 10.5772/intechopen.99002

*daha qiymətlidir*⁶. Belə ki, mikroorqanizmlərdən alınan fermentlər iqtisadi cəhətdən səmərəli olmasına, yəni ucuz qiymətə başa gəlməsinə, yüksək keyfiyyətli olmasına, çoxlu miqdarda və geniş çeşiddə istehsalına görə digər produsentlərdən fərqlənirlər və üstünlük qazanırlar. Biotexnologiya az tullantılı və ekoloji təmiz texnologiyaların yaradılmasının yeganə imkanı kimi qiymətləndirilir, lakin tullantıların biokonversiyasının effektivliyinə mane olan bir sıra problemlər mövcuddur ki, bunlara da misal olaraq yüksək bioloji aktivliyə malik produsentlərin az olmasını, onların sintez etdikləri fermentlərin fiziki-kimyəvi göstəricilərinin lazımı səviyyədə olmamasını göstərmək olar. Bütün bunlarda bu istiqamətdə tədqiqatların aparılmasının vacib olmasını da qeyd etməyə imkan verir.

Tədqiqatın məqsəd və vəzifələri Təqdim olunan işin məqsədi Azərbaycan müxtəlif biotoplarından ayrılmış bir sıra ksilotrof makromisetləri proteolitik fermentlərin aktivliyinə görə qiymətləndirilməsi və onlarda ferment sintezinin bəzi fizioloji-biokimyəvi xüsusiyyətlərinin tədqiq edilməsidir.

Qarşıya qoyulan məqsədə çatmaq üçün aşağıda göstərilən vəzifələrin həll edilməsi zəruri hesab edilmişdir:

1. Azərbaycanın müxtəlif ərazilərindən ekotrofik əlaqələrinə görə fərqli ksilotrof makromisetlərə aid ştammların ayrılması və onların kolleksiyasının yaradılması;

2. Kolleksiya daxil edilən ştammların proteolitik fermentlərin aktivliyinə görə qiymətləndirilməsi və aktiv produsentlərin seçilməsi;

3. Aktiv produsent kimi seçilmiş ştammların sintez etdiyi proteazaların tipinin və onlarda sintezin intensiv şəkildə baş verməsini tənzimləyən parametrlərin müəyyənləşdirilməsi;

4. Aktiv produsentlərdən proteolitik təsirə malik qismən təmizlənmiş ferment preparatlarının alınması üçün şəraitin seçilməsi.

Tədqiqatın metodları. Nümunələrin götürülməsi mikologiyada qəbul edilən sistemli, eləcə də sistemsiz marşrut metoduna əsasən həyata keçirilmişdir. Göbələklərin təmiz kulturaya çıxarılması qidalı

⁶ Muthulakshmi, Ch., Gomathi, D., Kumar, D.G. et al. Production, Purification and Characterization of Protease by *Aspergillus flavus* under Solid State Fermentation// Jordan Journal of Biological Sciences, 2011, v.4, №3, p.137-148.

mühit kimi ASS-dən istifadə edilməklə (2-3⁰B) məlum metodlara əsasən həyata keçirilmiş və kulturanın təmizliyinə böyütmə qabiliyyəti 2500 dəfəyədək olan mikroskopun (OMAX 40X-2500X LED Digital Lab Trinocular Compound Microscope) vasitəsi ilə həyata keçirilmişdir. Təmiz kulturalar soyuducuda saxlanılmış və hər 4-5 aydan bir yeni qidalı mühitə keçirilmişdir. Göbələklərin fermentativ aktivliyinin öyrənilməsi zamanı isə onların becərilməsi duru qidalı mühitdə, daha dəqiqi qlükozal-peptonlu mühitdə (QPM) dərin becərilmə şəraitində həyata keçirilmişdir. Bütün təcrübələr ən azı 4 təkrarda qoyulmuş və alınan nəticələr statistik olaraq işlənmişdir.

Dissertasiyanın müdafiəyə təqdim olunan əsas müddələri:

1. Azərbaycan şəraitində yayılan ksilotrof makromisetlərin ferment sisteminə proteazalar da daxildir, lakin onlar bir-birindən aktivlik səviyyəsinə görə fərqlənirlər.

2. Tədqiq olunan növlərin aktiv ştamları bitki tullantılarının zülal kütləsinin deqradasiyasında iştirak edərək üzvi qalıqların mineralaşmasını və təbiətdə qida zəncirinin baş verməsini sürətləndirir.

3. Yüksək proteolitik aktivliyə malik olan göbələk növlərində proteaza tiplərinin fərqli miqdarda və fərqli nisbətlərdə sintez olunması onların ekotrofiki mənsubiyyətini aydınlaşdırmağa da imkan verir.

4. Ksilotrof makromisetlərin təbii şəraitdə ağ çürümə törətməsi onların proteolitik aktivliyinin də yüksək olmasını şərtləndirir.

Tədqiqatın elmi yeniliyi. Aparılan tədqiqatlar nəticəsində Azərbaycanın Böyük Qafqaz, Kür-Araz ovalığında və Talış dağlarında yerləşən təbii və süni meşələrindən toplanan ksilotrof makromisetlərin törətdikləri çürümənin rənginə, hifal sistemlərinə, təbii şəraitdə əmələ gətirdikləri meyvə cisminin formasına, yaşama müddətinə və çəkisinə görə müxtəlifliklə xarakterizə olunan 25 növünə aid 107 ştamm təmiz kulturaya çıxarılmış və proteolitik aktivliyə görə xarakterizə edilmişdir.

Aydın olmuşdur ki, ekotrofiki əlaqələr baxımından fərqli olan göbələklərin proteolitik aktivliyinin səviyyəsi də fərqlidir və həqiqi biotroflara və politroflara aid göbələklərin proteolitik aktivliyi saprotroflara nisbətən yüksək göstərici ilə xarakterizə olunurlar.

Ksilotorf makromisetlərin sintez etdiyi proteazalar katalitik mərkəzlərinin strukturuna görə də fərqlənilir və onların sintez etdiyi proteazalar arasında serin-, sistein- və metallo-proteazalara rast gəlinir, lakin onların nisbəti göbələklərdən asılı olaraq dəyişir. Göbələklərin ekotrofiki bölgüsü ilə proteazaların tipi arasında aydın şəkildə ifadə olunmuş bir asılılığa rast gəlinməyə də, politroflar və həqiqi biotroflarda proteazaların ayrı- ayrı tiplərinin nisbəti daha genişliklə müşayət olunur.

Proteolitik fermentlərin aktiv produsenti kimi seçilmiş ksilotrof makromisetlərdə proteolitik fermentlərin sintezi klassik nəzəriyyəyə (Jakob-Mone) görə konstitutiv yolla, unitar nəzəriyyəyə görə isə induktiv yola baş verir, lakin karbon mənbəyinin tərkibinin mono-, di- və polisaxarid istiqamətinə mürəkkəbləşdirilməsi sintez olunan fermentin hüceyrə xarəicinə ifraz olunan hissəsinə təsir edir.

Məskunlaşdığı substratdan alınan sulu ekstraktın mühitə əlavə edilməsi zamanı *Īnnotus hispidus* göbələyində daha çox biokütlə toplanması baş verir ki, bu da proteolitik fermentlərin aktivliyinin yüksəlməsinə də səbəb olur. Digər tərəfdən, işçi kulturanın saxlanması zamanı da sahib bitkidən alınan və toz halına salınan materialın qidalı mühitə əlavə edilməsi də fermentativ aktivliyin yüksəlməsinə səbəb olur ki, bunu da göbələyin biotrof həyat tərzindən irəli gələn müəyən uyğunlaşma əlaməti qazanması kimi dəyərləndirmək olar.

Tədqiqatın nəzəri və praktiki əhəmiyyəti. Müxtəlif növ göbələklərin proteolitik aktivliyi ilə bağlı əldə olunmuş nəticələr bu göbələklərin fermentativ xüsusiyyətləri haqqında olan bilikləri zənginləşdirir.

Karbon mənbələrinin mono-di-poli istiqamətində mürəkkəbləşməsi proteolitik ferment sintezini daha da artırır. Skrininq zamanı alınan nəticələr *Ganoderma applanatum*, *Īnnotus hispidus* və *Bjerkandera adusta* kimi göbələklərin turş proteazaların produsentləri kimi istifadə etmək imkanı verir.

Alınan nəticələrin tətbiq edilməsi ətraf mühitin çirklənməsinin qarşısının alınmasında, ekoloji vəziyyətin yaxşılaşmasında və mikrobiologiya sənayesinin xammal bazasının genişləndirilməsində mühüm faydası ola bilər.

Dissertasiyanın aprobasiyası və tətbiqi. Dissertasiya mövzusunə aid 14 elmi iş dərc edilmişdir ki, onun da 7-si məqalə və 7-si isə tezisdür. Dissertasiyanın materialları “Müasir biologiyanın aktual problemləri” mövzusunda elmi-praktiki konfransda (Bakı, 2019), “Qlobal elm və innovasiya” mövzusunda Beynəlxalq elmi konfransda (QazaxıstanR., Nursultan, 2020), “Universitet sənaye əlaqələrinin keyfiyyət təminatının əsas problemləri” mövzusunda (Gəncə 2020), “Pandemiya dövründə gənclərin tədqiqat problemləri” mövzusunda (Gəncə 2021) Beynəlxalq elmi-praktiki konfransda, “Müasir elm: fundamental və tətbiqi aspektləri” mövzusunda II beynəlxalq elmi konfransda (İtaliya, Roma, 2023), “Müasir elmin icmalı” mövzusunda Beynəlxalq elmi konfransda (İsveçrə, Sürix, 2023), “Gənc alimlərin elmin inkişafındakı tendensiyaları” mövzusunda XXVII beynəlxalq elm-praktiki konfransda (Kanada, Edmonton, 2023) və məruzə edilmişdir.

Dissertasiya işinin yerinə yetirildiyi təşkilatın adı. Dissertasiya 2016-2022 ci illərdə AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun Mikrobioloji biotexnologiya və bioloji aktiv maddələr laboratoriyasında yerinə yetirilmişdir.

Dissertasiyanın quruluşu və işarə ilə götürülmüş ümumi həcmi. Dissertasiya işi girişdən və 5 fəsildən, nəticələrin yekun təhlilindən, nəticələrdən və istifadə olunmuş ədəbiyyat siyahısından ibarətdir. Dissertasiya cədvəllər, qrafiklər və ədəbiyyat siyahısı da daxil olmaqla ümumilikdə 240500 işarə təşkil edir.

FƏSİL I

PROTEOLİTİK FERMENTLƏR: BİOLOJİ FUNKSİYASI, TƏSNİFATI, TİPİ, ALINMA MƏNBƏLƏRİ, PRODUSENT SEÇİMİNİN ƏSAS PRİNSİPLƏRİ, SİNTEZİNİN TƏBİƏTİ VƏ TƏTBIQ SAHƏLƏRİ

Dissertasiyanın 1.1-ci bölməsində proteolitik fermentlərin funksiyaları, təsnifatı və müxtəlif sahələrdə əhəmiyyəti, 1.2-ci bölməsində fermentlərin alınma mənbələri və produsent seçiminin bioloji əsasları, 1.3-cü bölməsində bazidilu göbələklərin proteolitik

fermentlərinin katalitik aktivliyi və proteazaların bir sıra biokimyəvi xüsusiyyətləri, 1.4-cü bölməsində göbələk patologiyalarının törədilməsində proteolitik fermentlərin rolu və çürümə tipinə görə xarakteristikası və 1.5-ci bölməsində isə proteolitik fermentlərin əhəmiyyəti və istifadə olunduğu sahələr haqqında məlumatlar verilmişdir.

FƏSİL II İŞİN MATERIAL VƏ METODLARI

2.1. Tədqiqatın obyektı və produsentlərin becərilməsi metodları

Tədqiqatın əsas obyektı Azərbaycanın müxtəlif ərazilərində yerləşən təbii və süni meşələrdə yayılan ksilotrof makromisetlər və onların sintez etdiyi proteolitik fermentlər olmuşdur.

Göbələklərin meyvə cisimlərinin təbii substratlardan götürülməsi, yerində pasportlaşdırılması, identifikasiya edilməsi, təmiz kulturaya çıxarılması mikologiyada qəbul edilmiş “*məlum metodlara və təyinedicilərə*”^{7,8,9,10} görə həyata keçirilmişdir. Bu zaman sistemli və ya systemsiz marşurut metodlarından, qidalı mühit kimi aqarladırılmış səməni şirəsində (ASŞ) istifadə edilmişdir.

Göbələk kulturalarının ilkin qiymətləndirilməsi onların biokütlə çıxımına görə aparılmışdır ki, bu da göbələklərin 5 gün müddətində duru qlükoz – peptonlu qidalı mühitdə (DQPM) dərin becərilmə (DB) şəraitində əmələ gətirdiyi biokütlənin çıxımına (q/l) əsasən həyata keçirilmişdir. Fermentativ aktivliyin tədqiqi zamanı göbələklərin Qeyd edilən qidalı mühitə becərilməsi zamanı əmələ gətirdiyi biokütlədən və kultural məhluldan (KM) istifadə edilmişdir. Biokütlədən proteolitik fermentlərin mənbəyi kimi

⁷ Методы экспериментальной микологии/Под. ред. Билай В.И. Киев: Наукова думка, 1982, 500с.

⁸ Бондарцева, М.А. Определитель грибов России. Порядок афиллофоровые. М.А. Бондарцева, / СП. : Наука, -1998, вып. 2, -391с.

⁹ Мухин, В. А. Полевой определитель трутовых грибов./Б.А.Мухин. - Екатеринбург, -1997, -104 с.

¹⁰ Bernicchia A. Polyporaceae s.//Fungi Europaei., 2005, v.10, 808p.

istifadə zamanı əmələ gələn biokütlə 3 dəfə fosfat buferində (pH=7) 3 dəfə yuyulduqdan sonra yenə bəlli miqdarda həmin buferdə toxuma xırdalayıcısında hüceyrə strukturu dağıdılır (3 dəfə, 3 dəqiqə), sentrifüqalaşdırılır və alınan supernatant hüceyrədaxili (endo) ferment mənbəyi kimi istifadə edilir.

Kulturaların ümumi proteolitik aktivliyi həm “spektrofotometrik”¹¹, həm “viskozimetrik”¹² üsulla təyin edilmişdir. Substrat kimi müvafiq olaraq Na-kazeinat və jelatindən istifadə edilmişdir.

Zülalların miqdarı da “spektrofotometrik”¹¹ üsulla təyin edilmişdir.

Bütün təcrübələr ən azı 4-6 təkrarda qoyulmuş və alınan nəticələr “statistik”¹³ işlənmişdir.

FƏSİL III

AZƏRBAYCANDA YAYILAN KSİLOTROF GÖBƏLƏKLƏRİN AYRILMASI VƏ NÖV TƏRKİBİNƏ GÖRƏ XARAKTERİSKASI

3.1. Tədqiq edilən meşələrdən ayrılan ksilotrof makromisetlərin ümumi xarakteriskası

Azərbaycanın müxtəlif ərazilərindən 25 növə məxsus bazidioma nümunələri götürülmüşdür, onlardan 107 ksilotrof göbələk ştamlarının təmiz kulturaları alınmışdır (cəđ. 3.1). Göründüyü kimi, ayrı-ayrı cinslərə məxsus növlərin, eləcə də ştamların sayı fərqlidir. Məsələn, *Trametes* cinsinə aid 4, *Pleurotus* cinsinə isə 1 növ aiddir. Onların ştam sayı isə müvafiq olaraq 20 və 5-ə bərabərdir.

¹¹ Практикум по биохимии (Под. ред. Н.П.Мешковой и С.Е.Северина.). М: МГУ, -1979, -430 с.

¹² Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. - 240 с.

¹³ Кобзарь, А. И. Прикладная математическая статистика - Москва: ФИЗМАТЛИТ, - 2006, - 816 с.

Qeydə alınan göbələk növləri eyni zamanda bəzi xüsusiyyətlərinə, ilk növbədə ekotrofiki əlaqələrinə, təbii şəraitdə törətdikləri çürümənin rənginə, hifal sistemlərinə, təbiətdə formalaşdırdığı MC-ni yaşama müddətinə və çəkisinə görə də müxtəlifliklə xarakterizə olunurlar. Məsələn, *Inonotus hisbidus* ekotrofiki əlaqələrinə görə biotrof, təbii şəraitdə qonur çürümə törədir və hifal sistemi monomitikdir. Anoloji göstərici *Trametes versicolor* göbələyində isə müvafiq olaraq saprotrof, ağ və trimitikdir.

Bundan başqa, qeyd edilən göbələklər həm də standart qidalı mühitlərdə böyümə qabiliyyətinə görə də fərqlənirlər ki, bu da onların böyümə əmsalının fərqli göstəricilərlə xarakterizə olunmasını şərtləndirir. Buna baxmayaraq, qeydə alınan göbələklərin hamısı sürətli böyümə qabiliyyətinə malik olurlar və bu səbəbdən də proteolitik fermentlərin aktivliyinə görə skriningi zamanı hamısının yoxlanılması məqsəduyğun hesab edilmişdir. Digər tərəfdən, fermentin sintezi ilə biokütlə çıxımının miqdarı arasında aydın ifadə olunmuş bir asılılığın olmasını təsdiq edən tədqiqat materialına rast gəlinmir.

Cədvəl 3.1

Azərbaycanın müxtəlif meşələrindən ayrılmış ksilotrof makromisetlərin taksonomik strukturu

Sınıf	Sıra	Fəsilə	Cins	Növ(ştam)
Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae	Cerrena	1(4)
			Fomitopsis	3(12)
			Fomes	1(4)
			Polyporus	2(7)
			Trametes	4(20)
		Ganodermataceae	Ganoderma	2(8)
		Meruliaceae	Bjerkandera	1(4)
		Fomitopsidaceae	Laetiporus	1(4)
	Hymenochaetales	Hymenochaetaceae	Inonotus	3(15)
			Phellinus	4(16)
	Agaricales	Agaricaceae	Pleurotus	1(5)
			Schizophyllum	1(4)
			Physalacriaceae	Armillaria
Cəmi	3	7	13	25 (107)

3.2. Qeydə alınan göbələklərin annotasiya olunmuş siyahısı

Tədqiqatların gedişində qeydə alınan ksilotrof makromisetlərə (Bazidiomycota) aid 25 növ göbələyin annotasiya olunmuş siyahısı aşağıda qeyd edilən məlumatlar əsasında tərtib edilmişdir:

1. Göbələyin Beynəlxalq Mikologiya Assosiasiyasının rəsmi saytındakı hazırkı adı və sistematik vəziyyəti;
2. Göbələyin tədqiqatların gedişində ilk dəfə qeydə alındığı substrat;
3. Göbələyin təbii şəraitdə törətdiyi çürümənin rəngi və ekotrofiki əlaqəsinin tipi;
4. Formalaşdırdığı MC-nin yaşama müddəti və identifikasiya zamanı diqqət yetirilən bəzi əlamətlər.

FƏSİL IV

AZƏRBAYCAN MEŞƏLƏRİNDƏN AYRILAN KİSİLOTROF MAKROMİSETLƏRİN PROTEOLİTİK AKTİVLİYƏ GÖRƏ QIYMƏTLƏNDİRİLMƏSİ

4.1. Ksilotrof makromisetlərin protelitik aktivliyə görə skriningi

Ədəbiyyat məlumatlarının analizi əsasında müəyyən edilmişdir ki, ksilotrof makromisetlər duru qlükoza-peptonlu qidalı mühitdə (DQPM) *“daha çox biokütlə əmələ gətirir”*¹⁴. Bu fakt *“son illərdə aparılan tədqiqatlarda da öz təsdiqini”*¹⁵ tapıb. Bu səbəbdən də tədqiqatların gedişində ayrılan göbələkləri proteolitik fermentlərin aktivliyinə görə qiymətləndirilməsi, yəni skrining zamanı da bu mühitdən istifadə edilməsi məqsədəuyğun hesab edilmişdir.

¹⁴ Muradov P.Z. Bitki tullantılarının biokonversiyası prosesində ksilotrof göbələklərin fermentativ aktivliyinin dəyişməsi./b.e.d. dissertasiyasının avtoreferatı/-Bakı, 2004, -48s.

¹⁵ Musayeva V.H. Yağ istehsalı tullantılarının utilizasiyasının biotexnoloji əsasları:/ab.ü.f.d. dissertasiyasının avtoreferatı/-Bakı, 2021, -32 s.

Skrininq prosesinin ilkin mərhələsində göbələklərin becərilməsi 5 gün müddətinə aparılmışdır ki, bununla bağlı əldə edilən nəticələrdən göbələk ştamlarının aktivlik səviyyəsinə görə bir-birindən hətta ştam səviyyəsində fərqlənməsi aydın oldu (cədv.4.1). Göründüyü kimi, göbələklərdə müşahidə olunan proteolitik aktivliyinin maksimal və minimal kəmiyyət göstəricilərinin arasındakı fərq 2,8 dəfə təşkil edir ki, bu halda ən minimal göstərici *Trametes zonatus*, maksimal göstərici isə *Inonotus hispidus* göbələyinə xas ştamlarda müşahidə olunur. *Armillaria mellea*, *Fomitopsis pinicola*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma applanatum* və *Laetiporus sulphureus* göbələyinə aid ştamların proteolitik aktivliyi digərlərinə nisbətən yüksək olmuşdur və maraqlıdır ki, onların da hamısı ekotrofiki əlaqələr baxımından saprotorflara aid deyil, yəni ya biotrofdurlar (*Armillaria mellea*, *Fomes fomentarius* və *Inonotus hispidus*), ya da biotrofluğu və ya saprotrofluğu həqiqi xarakter daşımır.

Cədvəl 4.1

Ksilotrof makromisətlərə aid göbələk ştamlarının proteolitik aktivliyə görə qiymətləndirilməsi

№	Göbələk növləri	Aktivlik (bv/ml)
1	<i>Armillaria mellea</i>	0,43-0,63
2	<i>Cerrena unicolor</i>	0,41-0,54
3	<i>Fomitopsis cytisina</i>	0,40-0,52
4	<i>F.pinicola</i>	0,52- 0,65
5	<i>F.rozea</i>	0,40- 0,48
6	<i>F. fomentarius</i>	0,51-0,64
7	<i>Polyporus squamosus</i>	0,26-0,36
8	<i>P.varius</i>	0,29-0,34
9	<i>Trametes hirsute</i>	0,29-0,40
10	<i>T. pubescens</i>	0,42-0,53
11	<i>T. vericolor</i>	0,25-0,36
12	<i>T.zonatus</i>	0,24- 0,32
13	<i>Ganoderma applanatum.</i>	0,52-0,63
14	<i>G.lucidum</i>	0,38-0,50

Cədvəl 4.1-in davamı		
15	<i>Bjerkandera adusta</i>	0,41-0,53
16	<i>Laetiporus sulphureus</i>	0,55-0,62
17	<i>Inonotus dradeus</i>	0,38-0,57
18	<i>İ.hispidus</i>	0,56-0,68
19	<i>İ.pini</i>	0,36-0,54
20	<i>Phellinus iqniarius</i>	0,41-0,56
21	<i>Ph.pini</i>	0,35-0,53
22	<i>Ph.pomaseus</i>	0,36-0,52
23	<i>Ph.robustus</i>	0,38-0,54
24	<i>Pleurotus ostreatus</i>	0,26-0,43
25	<i>Schizophyllum commune</i>	0,32-0,37

Həqiqi saprotroflarda (*Polyporus varius*, *Trametes hirsuta*, *T.versicolor*, *T.zonata* və *Schizophyllum commune*) proteolitik aktivliyin kəmiyyət göstəricisi nisbətən aşağı göstərici ilə xarakterizə olunur. Bu faktın özü də, proteolitik fermentlərin göbələklərin ekotrofiki mənsubiyyətində müəyyən indiqator keyfiyyətinə malik olmasını qeyd etməyə imkan verir.

Həqiqi saprotroflarda (*Polyporus varius*, *Trametes hirsuta*, *T.versicolor*, *T.zonata* və *Schizophyllum commune*) proteolitik aktivliyin kəmiyyət göstəricisi nisbətən aşağı göstərici ilə xarakterizə olunur. Bu faktın özü də, proteolitik fermentlərin göbələklərin ekotrofiki mənsubiyyətində müəyyən indiqator keyfiyyətinə malik olmasını qeyd etməyə imkan verir. Daha dəqiqi, proteolitik fermentlər göbələklərin parazit həyat tərzinin reallaşmasında aktiv rola malik olan ferment kimi xarakterizə oluna bilər. Bu fikri nəzərə alaraq, tədqiqatların növbəti mərhələsində proteolitik fermentlərin sintezi ilə bağlı məsələlərə aydınlıq gətirilməsinə görə ekotrofiki əlaqələr baxımdan həqiqi biotroflara və politroflara aid olan göbələklərlə tədqiqatların aparılması məqsəduyğun hesab edilmişdir.

Proteolitik fermentlərin aktivliyi yüksək olmayan *B.adusta* P-40, *C.unicolor* M-3, *P.ostreatus* F-118, *T.hirsute* M-5 və *T.versicolor* D-13 kimi göbələk liqnosellüoza tərkibli bitki

substratlarının biokonversiyası (mikrobioloji və enzimoloji konversiya) üçün daha perspektivli hesab edilmiş və gələcəkdə onlardan bu məqsədlə istifadənin effektivliyi əsaslandırılmışdır.

4.2 Karbon və azot mənbələrinin proteolitik fermentlərin sintezinə təsiri və mühitin optimallaşdırılması

Tədqiqatların sonrakı mərhələsində kolleksiyada olan ştamlardan həm proteazaların aktiv produsenti kimi istifadə edilməsi, həm də onlarda fermentin sintezi ilə bağlı olan məsələlərə aydınlıq gətirmək üçün proteazanın aktiv produsenti kimi seçilən *Ganoderma applanatum* və *Inonotus hispidus*, eləcə də *Bjerkandera adusta* kimi növlərə aid ştamlardan istifadə edilməsi məqsədəuyğun hesab edilmişdir. Bu göbələklərin praktiki məqsədlərdə istifadəsi üçün ilk olaraq onların proteazaları maksimal sintez etməsi üçün tələb olunan mühitin optimallaşdırılması ilə bağlı tədqiqatlar aparılmışdır. Belə ki, tədqiqatların gedişində klassik parametrlərdən karbon və azot (üzvi və mineral) mənbəyinə, əkin materialının hazırlanma üsuluna və müddətinə, becərmənin müddətinin müəyyənləşdirilməsi, eləcə də əkin üçün istifadə edilən kulturanın saxlanma şəraitinə görə tədqiq edilməsi məqsədəuyğun hesab edilmişdir. Digər göstəricilər, məsələn mühitin ilkin turşuluğu, ədəbiyyat məlumatlarına əsasən dəqiqləşdirilmişdir. Belə ki, aparılan bir çox tədqiqatlarda zəif turş mühit, daha dəqiqi göbələklərin becərməsi üçün istifadə edilən qidalı mühitlərin (təbii, sintetik və yarımsintetik) hazırlanaraq sterilizasiya edildikdən sonra malik olduğu pH (5-6 arası), mineral azot mənbəyi kimi NH_4NO_3 , becərmənin isə dərin becərmə (DP) şəraitində aparılması məqsədəuyğun hesab edilmişdir. Digər parametrlərin dəqiqləşdirilməsi ilə bağlı aparılan tədqiqatlardan alınan nəticələrdən aydın oldu ki, onların becərməsi üçün tələb olunan mühitin parametrləri həm universal, həm də spesifik xarakter daşıyır (cəđ. 4.2). Göründüyü kimi, əkin materialının hazırlanması üsuluna və müddətinə görə hər üç göbələk eyni göstərici ilə xarakterizə olunurlar, yəni hər üç kultura üçün göbələklərin 5-6 gün DQPM-də DB şəraitində becərməsi zamanı alınan biokütləsi daha effektiv əkin materialı hesab edilir və onlardan istifadə etdikdə fermentin aktivliyi maksimal göstərici ilə xarakterizə olunur. Üzvi azot mənbəyi kimi pepton fərqli

miqdarda olsa da, hər üçü üçün daha əlverişlidir. Bunu qalan göstəricilərə, ilk növbədə karbon mənbəyinə, becərilmə müddətinə də aid etmək olar.

Parametrlər kəmiyyət və keyfiyyət göstəricilərinə görə bir-birindən fərqləndiyi kimi, göbələklər də proteolitik aktivliyə görə bir-birindən fərqlənirlər. Məsələn, karbon mənbəyi kimi qlükozanın mühitə əlavə edilməsi *Ganoderma applanatum* göbələyində proteazaların daha intensiv sintez olunmasına səbəb olur. Analoji hal saxarozadan istifadə etdikdə *Bjerkandera adusta* göbələyində müşahidə olunur. *İ.hispidus* isə əlverişli karbon mənbəyi hesab edilən qlükoza və saxarozadan fərqli olaraq onun ayrıldığı substratdan alınan ekstraktda daha çox biokütlə əmələ gətirir ki, bu da proteolitik fermentlərin aktivliyinin yüksəlməsinə də səbəb olur.

Fərqi müşahidə olunduğu parametrlərdən biri də tədqiqatların sonrakı mərhələsi üçün seçilən *B.adusta*, *G.applanatum* və *İ.hispidus* göbələklərinə aid ştamların işçi kulturalarının saxlanması şəraitidir. Belə ki, bazidili göbələklərə aid ştamların saxlanması bir qayda olaraq ASS (2-4⁰B)-də həyata keçirilir. Bu öz təsdiqini bizim tədqiqatlarda da tapdı, belə ki, *B.adusta* və *G.applanatum* göbələklərinin də işçi kulturalarının saxlanması üçün məhz ASS (2⁰B) əlverişlidir. *İ.hispidus* da isə həmin mühitə göbələyin ayrıldığı substratdan toz halına salınmış hissəciklərin əlavə edilməsi prosesin effektivliyinin yüksəlməsinə səbəb olur.

Qeyd edək ki, aktiv produsent kimi seçilmiş göbələklərdə fermentin sintezinin baş verməsi üçün mühitin optimallaşdırılması zamanı bir sıra məsləhətlərə də aydınlıq gətirilmişdir ki, onlardan da aşağıdakıları qeyd etmək yerinə düşərdi:

1. Göbələklərdə proteolitik fermentlərin sintezi Jakob-Mone nəzəriyyəsinə görə konstitutiv yolla baş versə də, unitar nəzəriyyəyə görə isə induktiv yolla baş verir, karbon mənbəyinin tərkibinin mono-, di- və poli-saxarid istiqamətinə mürəkkəbləşdirilməsi sintez olunan fermentin hüceyrə xaricinə ifraz olunan hissəsinin xüsusi çəkisinin artmasına səbəb olur.

2. Karbon mənbəyi kimi *İ.hispidus* əlverişli karbon mənbəyi hesab edilən qlükoza və saxarozadan fərqli olaraq onun ayrıldığı

substratdan alınan ekstraktı daha çox biokütlə əmələ gətirir ki, bu da proteolitik fermentlərin aktivliyinin yüksəlməsinə də səbəb olur. Digər tərəfdən, işçi kulturanın saxlanması zamanı da sahib bitkidən alınan və toz halına salınan materialın qidalı mühitə əlavə edilməsi də müsbət istiqamətdən xarakterizə olunan nəticələrin alınmasına səbəb olur. Bunların səbəbi onunla bağlıdır ki, göbələk həqiqi biotroflara aid olsa da, onun biotrofluğu ekoloji xarakter daşıyır, lakin buna baxmayaraq onunda biotrof həyat tərzindən irəli gələn müəyyən uyğunlaşma əlaməti qazanmışdır. Bu da özünü məhz sahib-bitkiyə aid materiallarda daha yaxşı böyüməsi ilə özünü biruzə verir.

3. Qeyri-üzvi azot mənbəyi kimi onun ammoniyak formasında mənimsəməsi bir çox bazidili göbələklərdə daha əlverişli olması müəyyən edilsə də, bu hal özünü *I.hispidus* göbələyində biruzə vermir, belə ki, göbələk mineral azotun həm ammoniyak, həm də nitrat formasını eyni dərəcədə mənimsəyə bilər.

Bütün parametrlərə görə, optimallaşdırılan mühitdə göbələklərin becərilməsi zamanı proteolitik fermentlərin maksimal aktivliyinin müşahidə olunan müddətinə görə də fərqlənirlər(şək. 4.1). Belə ki, *G.applanatum* göbələyi digər 2 göbələklə müqayisədə daha tez maksimal aktivliyə malik olur, *I.hispidus* göbələyi isə daha gec nail olur. Buna baxmayaraq, bütün hallarda, hətta digər iki göbələyin öz maksimumuna çatdığı halda belə *I.hispidus* göbələyində aktivlik səviyyəsi daha yüksək olur. Bu hal öz növbəsində proteolitik fermentlərin patogeneza prosesində mühüm rol oynamasını bir daha qeyd etməyə imkan verir.

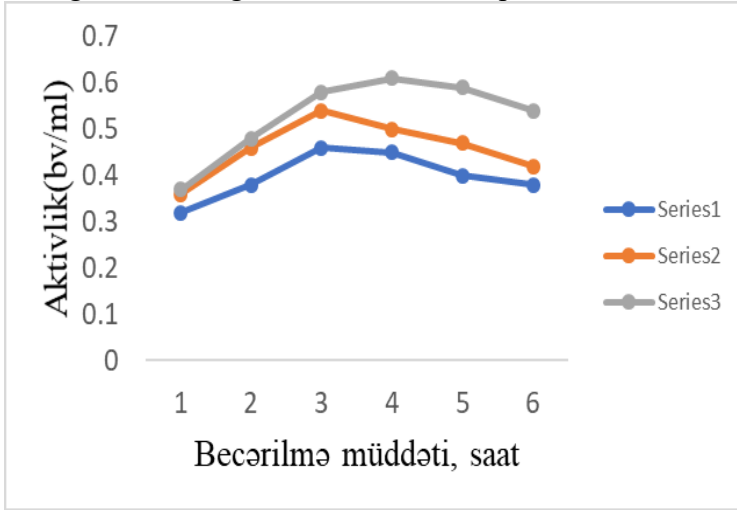
Cədvəl 4.2

Fermentlərin aktiv produsenti kimi seçilmiş göbələk ştamları üçün optimallaşdırılmış mühitin əsas parametrləri

№	Növün adı	Mənbə və miqdarı (q/l)		Əkin materialı üçün istifadə edilən kulturanın saxlanması	Əkin materialının hazırlanması üsulu və müddəti	Becərilmə müddəti (saat)
		C	Üzvi azot(q/l) Mineral azot(% azota görə)			
1	<i>B.adusta</i>	Saxaroza, 11	Pepton(2,8) NH ₄ NO ₃ (0,36)	ASŞ(2 ⁰ B)	DQPM, 5-6 gün, DB	148
2	<i>G. appplanatum</i>	Qlükoza, 10	Pepton 3,0 NH ₄ NO ₃ (0,35)	ASŞ(2 ⁰ B),		140
3	<i>İ. Hispidus</i>	Göbələyin substratında n hazırlanan ekstrakt, 10 ml/l	Pepton, 3,2 NH ₄ NO ₃ (0,34) və ya NaNO ₃ (0,34)	Ayrıldığı substratdan alınmış toz halında bərk hissəciklərin əlavə edildiyi, ASŞ(2 ⁰ B),		160

4.3. Proteolitik fermentlərin fiziki-kimyəvi və bioloji xüsusiyyətləri

Qeyd etmək lazımdır ki, "proteolitik fermentlər katalitik mərkəzlərinin strukturuna görə də sistemləşdirilir"¹⁶ və hazırkı baxışlara görə onları dörd qrupa bölürlər: serin-, sistein-, metallo- və tio-proteazalara. Bu proteazalar həm aktiv mərkəzlərin yerləşməsinə, həm də təsir effektinin maksimal göstərməsi üçün pH-ın optimal göstəricisinə görə bir-birindən fərqlənir.



Şəkil 4.1. Göbələklərdə proteolitik aktivliyin becərilmə müddətindən asılı olaraq (1x48 hesabı ilə) dəyişməsi

1. *Bjerkandera adusta*;
2. *Ganoderma applanatum*
3. *Inonotus hispidus*

Bu və ya digər produsentin sintez etdiyi proteolitik fermentləri bu aspektdən xarakterizə edilməsi analoji işlərdə həyata keçirilən vəzifələrdən biridir. Bunun nəzərə alaraq tədqiqatlarda proteolitik aktivliyi nisbətən yüksək olan göbələk ştamlarında bunun həyata keçirilməsi məqsəduyğun hesab edilmişdir. Bir qayda olaraq, bu

¹⁶ Mótýán JA, Tóth F, Tózsér J. Research applications of proteolytic enzymes in molecular biology // *Biomolecules*, 2013, v.8, 3(4). -p.923-942.

məqsədlərdə müxtəlif spesifik ingibitorlardan istifadə edirlər. Məsələn, sistein proteazaları üçün Yodasetamid (YAA), metalloproteazalar üçün Etilendiamintetra sirkə turşusu (EDTST), serinproteazalar üçün isə Fenilmetilsulfonil-florid (FMSF), Xlormetilketon tiozil-L-fenilalanin(XMKTF) və Xlormetilketon tiozil-L-lizin (XMKTL) spesifik ingibitor hesab edilir. Sonuncu üçün spesifik ingibitor olmadığı üçün, qeyd edilənlərin 3-nün eyni zamanda istifadəsi onun varlığının təsdiqi üçün yetərli hesab edilə bilər.

Alınan nəticələrdən aydın oldu ki, tədqiq edilən göbələklərin sintez etdikləri proteolitik fermentlər qruplar nöqtəyi nəzərdən də bir-birindən fərqlənirlər, belə ki, istifadə edilən ferment ingibitorlarının təsirinə qarşı fərqli reaksiya göstərirlər (cə. 4.3). Göründüyü kimi, göbələklərin sintez etdiyi proteazalar arasında hamısına rast gəlinir, lakin onların nisbəti göbələklərdən asılı olaraq dəyişir. Burada göbələklərin ekotrofiki bölgüsü ilə proteazaların tipi arasında aydın şəkildə ifadə olunmuş bir asılılığa rast gəlinmir, lakin məsələyə başqa bir məqamdan, yəni göbələklərin əvvəlki bölgüsünə görə fakültativ saprotrofluq, fakültativ biotrofluq və həqiqi biotrofluq istiqamətinə proteazaların ayrı-ayrı tiplərinin nisbi miqdarı daha genişliklə müşayət olunur. Bu da bir daha yuxarıda söylənilən fikrin, yəni proteolitik aktivliklə biotrofluq arasında əlaqənin olmasını gücləndirən faktordur.

Qeyd etmək yerinə düşərdi ki, göbələk və bitki arasındakı münasibətiləri ümumi şəkildə simbiotik, parazitlik və neytralizm kimi xarakterizə edilir, lakin məsələyə bir qədər başqa aspektdən yanaşdıqda bu məsələnin bir qədər dəqiqləşdirilməsinə bir qədər ehtiyac yaranır. Belə ki, biotrofluğa xas olan xüsusiyyət üzvi maddəyə olan tələbatın məhz canlıların hesabına ödənilməsi ilə bağlıdır. Simbiotluq, yəni qarşılıqlı faydaya əsaslanan birgə yaşayış zamanı da göbələyin üzvi maddəyə olan tələbatı da canlıların hesabına ödənilir.

Cədvəl 4.3

Ksilotrof göbələklərin ekzoprotezalarının sintezinə inhibitorların təsiri

İngibitorlar	qatlıq, mM	Qalıq aktivlik, %						
		B.adusta	P. streatus	G.applanatum	L.sulphureus	İ.hispidus	F.pinicola	T.versicolor
YAA	4	95	92	91	78	65	60	100
EDTST	10	14	80	43	47	51	54	72
FMSF	1	81	60	60	58	53	43	50
XMKTF	3	86	100	98	75	68	60	98
XMKTL	2,5	93	94	96	83	76	72	97
YAA+ EDTST+ FMSF	4:10:1	16	12	19	24	27	25	11

Digər tərəfdən, biotrof həyat tərzinə malik göbələyin təsirindən təsirindən bitkinin həyat fəaliyyətinin tədricən zəifləməsi və uzun müddət davam etdiyi müddətdə məhv olması baş verir. *I.hispidus* göbələyinin nümunəsində baş vermədiyini nə bizim tədqiqatlar, nə də ədəbiyyat məlumatları təsdiq edir. Fikrimizcə, bu münasibət forması parazitlik və simbiotluq arasında keçid bir forma kimi qeyd edilə bilər. Daha dəqiqi, bitki-göbələk münasibətləri arasında olan münasibətləri 3 yerə deyil, parazitlik və neytralizm kimi iki yerə bölünməsi və parazitliyində aşağıdakı kimi xarakterizə edilməsi məntiqli olardı:

- Simbiotofluq, yəni qarşılıqlı faydaya əsaslanan birgə yaşayış tərzü.

- Mülayim parazitlik, uzun müddət sahib bitki ilə ciddi ziyan vurmada birgə yaşayış tərzü

- Kəskin parazitlik, yəni sahibinə ciddi ziyan vurmaqla birgə yaşayış tərzü.

Qeyd edilən bölgüyə müvafiq proteolitik fermentlərin aktiv produsentləri kimi seçilmiş göbələkləri xarakterizə etsək, onda *I.hispidus* və *G.applanatum* göbələyini mülayim parazitlər kimi xarakterizə etmək olar.

TƏDQIQATIN YEKUN TƏHLİLİ

Fermentlər, yəni bioloji katalizatorlar canlılarda baş verən proseslərin reallaşmasını və bunun da yüksək sürətlə baş verməsini təmin edirlər. Bu səbəbdən fermentlərə canlıların bütün taksonomik qruplarına adi növlərində rast gəlinir və bu gün fermentlərin alınma mənbələri arasında həm bitkilər, həm heyvanlar, həm də mikroorqanizmlər (bakteriya və göbələklər) yer alır. Müxtəlif mənbələrdən alınmasına baxmayaraq eyni struktura malik olan və eyni funksiyaları yerinə yetirilən fermentlər özləri də kataliz etdikləri reaksiyaların təbiətinə görə sistemləşdirilir ki, bu qruplardan biri də hidrolazlardır. Həm saylarına, həm də istifadə sahəsinə görə geniş

müxtəlifliklə xarakterizə olunan hidrolazaların arasında proeolitik fermentlər xüsusi əhəmiyyət daşıyır. Hüceyrənin müxtəlif hissələrində, o cümlədən plazmatik membranda yerləşən bu ferment sadə, lakin bütün canlılarda zülal katabolizminin və amin turşuların sintezinin baş verməsi üçün zəruri olan güclü destruktiv ferment kimi təsir göstərir. Bundan başqa, proteazalar həm birhüceyrəli, həm də çoxhüceyrəli canlılarda həm bir bir sıra bioloji, fizoloji və patofizioloji proseslərdə mühüm rol oynayırlar. Bütün bunlarda onların daim diqqət mərkəzində olmasına səbəb olur və həmişə müxtəlif aspektlərdə aparılan tədqiqatların predmetinə çevrilir. Bu da proteazaların və onların produsentlərinin tədqiqatlar üçün aktual bir obyekt olmasını da qeyd etməyə imkan verir.

Bunu nəzərə alaraq, təqdim olunan işdə Azərbaycan şəraitində yayılan makromisetlərin ksilotroflara aid növlərin həm biokonversiyaya yararlılığına, həm də proteolitik fermentlərin sintezinə görə qiymətləndirilməsi bir məqsəd olaraq qarşıya qoyulmuşdur.

Qarşıya qoyulan məqsədə nail olmaq üçün ilk olaraq Azərbaycanın müxtəlif ərazilərində yerləşən təbii və süni meşələrində yayılan bazidili göbələklərin ksilotroflara aid növlərinin götürülən meyvə cisimindən 107 ştam təmiz kulturaya çıxarılmış və növ tərkibləri müəyyənləşdirilərək kolleksiyaya daxil edilmişdir. Kolleksiya daxil olan ştamlar ümumilikdə ksilotrof makromisetlərin 25 növünə aiddir və onlar müxtəlif göstəricilərə (ekotrofiki əlaqələrə, çürümənin rənginə, hifal sistemlərinə, MC-nin yaşama müddətinə və çəkisinə, eləcə də böyümə əmsalına görə müxtəlifliklə xarakterizə olunurlar. Bu müxtəlifliklərdə məhz onların ferment sistemində, o cümlədən proteolitik aktivliyində nəzərə çarpan və tədqiqatların gedişində təsdiqini tapan fərqlərin əsasında dayanır.

Belə ki, böyümə əmsalına görə o qədər də fərqli göstəricilərlə xarakterizə olunmayan *Armillaria mellea*, *Bjerkandera adusta*, *Fomitopsis pinicola*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *Laetiporus sulphureus*, *Inonotus hispidus* kimi göbələklərə məxsus ştamların proteolitik aktivliyi digərlərinə nisbətən daha yüksək olmuşdur və maraqlıdır ki, bu göbələklərin hamısı ekotrofiki

əlaqələr baxımından saprotroflara aid deyil, yəni ya biotrofdurlar (*Armillaria mellea*, *Fomes fomentarius* və *Inonotus hispidus*), ya da biotrofluğu və ya saprotrofluğu həqiqi xarakter daşımır.

Həqiqi saprotroflarda (*Polyporus varius*, *Trametes hirsuta*, *T.versicolor*, *T.zonata* və *Schizophyllum commune*) proteolitik aktivliyin kəmiyyət göstəricisi nisbətən aşağı göstərici ilə xarakterizə olunur. Bu fakt ilk olaraq onu qeyd etməyə imkan verir ki, proteolitik ferment sistemi göbələklərin patogenlik fəaliyyətləri ilə əlaqədardır, yəni proteolitik aktivliyin yüksək olması onun produsentinin patogenlik fəaliyyətinin güclənməsinə imkan yaradır. Bu fakt özünün təsdiqini “mikromisetlərlə aparılan tədqiqatlarda tapıbdır”¹⁷ ki, Azərbaycanda yayılan makromisetlərin nümunəsində isə bu fakt öz təsdiqini məhz bu tədqiqatların nəticəsində tapıbdır.

Digər tərəfdən alınan nəticələrə əsasən, proteolitik fermentlərin aktivliyi yüksək olmayan *B.adusta* P-40, *.unicolor* M-3, *P.ostreatus* F-118, *T.hirsute* M-5 və *T.versicolor* D-13 kimi göbələklərin də harada yararlı olmasına da tədqiqatların gedişində aydınlıq gətirilmiş və onların liqnosellüoza tərkibli bitki substratlarının həm mikrobioloji, həm də enzimioloji konversiyasında istifadə edilməsinin perspektivli olması əsaslandırılmışdır.

Tədqiq edilən ksilotrof makromisetlərə aid ştamların skrininqinin ilkin nəticəsində *G.applanatum* və *İ. hispidus* kimi göbələklər aktiv produsent kimi növbəti mərhələ üçün seçilmişdir. Növbəti mərhələdə göbələklərə xas proteolitik ferment sisteminin müqayisəli tədqiqatı üçün *B.adusta* göbələyinə aid ştamdan da istifadə edilməsi məqsədəuyğun hesab edilmişdir.

Tədqiqatların ikinci mərhələsində seçilən ştamlarda proteolitik fermentlərin sintezi, onun karbon və azot mənbələrindən asılı olaraq tənzimlənməsi, göbələklərin sintez etdikləri proteazaların tipinin müəyyənləşdirilməsi ilə bağlı məsələlərə

¹⁷ León R.K., Higuera B.L. and Martínez S.T. Induction of proteases secreted by *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in the presence of carnation root cell walls. biochemical characterization of a serine protease // Journal of Plant Pathology, 2017, v.99, N3, p.609-617.

aydınlıq gətirilmişdir. Aydın olmuşdur ki, proteazaların sintezi hər 3 göbələkdə klassik yanaşmaya (Jakob-Mone) görə konstitutiv yolla sintez olursa da, unitar nəzəriyyəyə görə bu proses induktiv yolla realaşır. Digər tərəfdən, aydın olmuşdur ki, proteazaların hüceyrə xaricinə ifraz olunan hissəsinin miqdar göstəriciləri karbon mənbəyindən asılı olaraq dəyişir və karbon mənbələrinin, daha dəqiqi saxaridlərin polimerləşmə dərəcəsi yüksəldikcə ifraz olunan fermentin miqdar göstəriciləri də yüksəlir.

Bu məlumatlar da karbon mənbəyindən asılı olaraq proteolitik fermentlərin sintezinə aydınlıq gətirən məlumatlar kimi dəyərləndirilə bilər. Belə ki, ferment istehsalı zamanı “*ekzogen fermentlər biotexnoloji baxımdan daha əhəmiyyətli hesab edilir*”¹⁸.

Məlumdur ki, proteolitik fermentlər aktiv mərkəzlərinin strukturuna, təsir effektinin baş verdiyi mühitin turşuluğuna görə də xarakterizə edilirlər. Aparılan tədqiqatlardan aydın oldu ki, göbələklərin sintez etdikləri proteazalar bu baxımdan da müxtəlifliklə xarakterizə olunurlar və simbiotofluqdan biotrofluuq istiqamətində bu müxtəliflik dəyişir. Düzdü, göbələklərin ekotrofiki bölgüsü ilə proteazaların tipi arasında aydın şəkildə ifadə olunmuş bir asılılığa rast gəlinməsə də, politroflar və həqiqi biotroflarda proteazaların ayrı ayrı tiplərinin nisbi miqdarı daha genişliklə müşayət olunur. Bu məlumatlarda göbələklərin sintez etdikləri proteazaların istifadə sahəsinin müəyyənləşdirilməsi üçün vacibdir.

Digər tərəfdən, qeyd edildiyi kimi, tədqiqatlarda aktiv produsent kimi seçilən 3 göbələk növü bir-birindən həm də ekotrofiki əlaqələr, yəni həyat fəaliyyəti üçün lazım olan üzvi maddənin alınma mənbəyinin bioloji vəziyyətinə görə də fərqlənir. Belə ki, *I.hispidus* həqiqi biotroflara, *G.applanatum* politroflara, *B.addusta* isə saprotroflar xas xüsusiyyətlər daşıyır. Fikrimizcə, göbələklərdəki bu ekotrofiki fərqlilik göbələklərin proteolitik fermentləri sintezində müşahidə olunan spesifik əlamətlərin

¹⁸ Giehl A., dos Santos A.A., Cadamuro R.D. et al. Biochemical and Biotechnological Insights into Fungus-Plant Interactions for Enhanced Sustainable Agricultural and Industrial Processes.//Plants, 2023. 12(14):2688. <https://doi.org/10.3390/plants12142688>

formalaşmasının əsas səbəblərindən biridir. Bu nöqteyi nəzərdən alınan nəticələrə yanaşsaq aydın olur ki, politröflərə aid göbələklərdə proteolitik fermentlər daha güclü və müxtəlifliklə xarakterizə olunur, bu müxtəliflik həm biotroflarda, həm də saprotroflarda nisbətən kəsad göstəricilərlə xarakterizə olunur. Buna da səbəb politrofların qidalanma üçün lazım olan üzvi maddəni bioloji vəziyyətinə görə geniş spektrli - yəni həm canlı, həm də canlılığını itirmiş mənbələrdən alması üçün ferment sistemi təkamül nəticəsində güclənmişdir, yəni hər iki vəziyyətdə olan üzvi maddələrin deqradasiyasını və transformasiyasını kataliz edən ferment sisteminə malik olmuşlar. Həm saprotroflarda, həm də biotroflarda isə üzvi maddələri aldığı mənbəyə müvafiq ferment sistemi formalaşdırmışdır.

Tədqiqatlarda əldə edilən bu məlumatlar aşağıdakı 5 nəticə şəklində ifadə olunmuşdur:

NƏTİCƏLƏR

1. Azərbaycanın Böyük Qafqaz, Kür-Araz ovalığında və Talış dağlarında yerləşən təbii və süni meşələrindən müxtəlif ərazilərindən toplanan ksilotrof makromisetlərin 25 növünə aid 107 ştam təmiz kulturaya çıxarılmış və onlardan ibarət kolleksiya yaradılmışdır. Kolleksiya daxil edilən göbələk növləri təbii şəraitdə törətdikləri çürümənin rənginə, hifal sistemlərinə, təbii şəraitdə əmələ gətirdikləri meyvə cisminin formasına, yaşama müddətinə, çəkisinə və sintez prosesinin mühit parametrlərinə görə müxtəlifliklə xarakterizə olunurlar. [3, 11, 14].

2. Müəyyən edilmişdir ki, ekotrofiki əlaqələr baxımından həqiqi biotroflara və politroflara aid göbələklərin proteolitik aktivliyi həqiqi saprotroflara aid olanlarla müqayisədə daha yüksək olur, lakin sonuncuların liqnotitik və sellülitik aktivliyi onlardan yüksək olması ilə xarakterizə olunur. Bu da politrof və biotrofların proteolitik, saprotrofların isə liqnosellüoza tərkibli substratların konversiyasında istifadə edilməsinin məqsədəuyğun olmasını qeyd etməyə imkan vermişdir. [5-6, 8, 10-11].

3. Ksilotorf makromisetlərin sintez etdiyi proteazalar katalitik mərkəzlərinin strukturuna görə fərqlənirlər və onların sintez etdiyi proteazalar arasında serin-, sistein- və metallo-proteazalara rast gəlinir, lakin onların nisbəti göbələklərdən asılı olaraq dəyişir. Göbələklərin ekotrofiki bölgüsü ilə proteazaların tipi arasında aydın şəkildə ifadə olunmuş bir asılığa rast gəlinməyə də, politroflar və həqiqi biotroflarda proteazaların ayrı ayrı tiplərinin nisbi miqdarı daha genişliklə müşayət olunur. [8, 10, 14].

4. Proteolitik fermentlərin aktiv produsenti kimi seçilmiş ksilotrof makromisetlərdə proteolitik fermentlərin sintezi Jakob-Mone nəzəriyyəsinə görə konstitutiv yolla, unitar nəzəriyyəyə görə isə induktiv yola baş verir və karbon mənbəyinin tərkibinin mono-, di- və poli-saxarid istiqamətinə mürəkkəbləşdirilməsi sintez olunan fermentin hüceyrə xaricinə ifraz olunan hissəsinin xüsusi çəkisinin 12-18%-ə qədər artmasını şərtləndirir. [2, 4, 7, 9].

5. Məskunlaşdığı substratdan alınan sulu ekstraktın mühitə əlavə edilməsi zamanı *Inonotus hispidus* göbələyində daha çox biokütlə toplanması baş verir ki, bu da proteolitik fermentlərin aktivliyinin yüksəlməsinə də səbəb olur. Digər tərəfdən, işçi kulturanın saxlanması zamanı da sahib bitkidən alınan və toz halına salınan materialın qidalı mühitə əlavə edilməsi də müsbət istiqamətdən xarakterizə olunan nəticələrin alınmasına səbəb olur, bunun da səbəbi göbələyin biotrof həyat tərzindən irəli gələn müəyyən uyğunlaşma əlaməti qazanmasıdır. Bu eyni zamanda göbələyə mineral azot mənbəyinin həm ammoniyak, həm də nitrat formasının eyni dərəcədə mənimsəməsinə də imkan verir. [1, 2, 12-13].

**Dissertasiyanın mövzusunə aid dərc edilmiş
elmi əsərlərin siyahısı**

1. Həsənova V.Y., Hüseynova G.İ. Ksilotrof bazidiomisetlərdə bioloji aktiv maddələrin əmələ gəlməsinin bəzi dinamik xüsusiyyətləri // AMEA-nin Mikrobiologiya institutunun elmi əsərləri, 2018, cild16 № 1, s.88-91.
2. Hüseynova G.İ. Ksilotrof makromisetlərdə proteolitik fermentlərin sintezinin bəzi xüsusiyyətləri// AMEA-nin Mikrobiologiya institutunun elmi əsərləri, 2018, c.16 № 2, s. 120-124.
3. Hüseynova G.İ. Azərbaycanın müxtəlif meşələrindən ayrılan ksilotrof makromisetlərin ümumi xarakteriskası//“Müasir biologiyanın aktual problemləri” mövzusunda elmi-praktiki konfransın materialları. -Bakı, 2019, s.92-94
4. Hüseynova G.İ. Karbon mənbələrinin Ganoderma applanatum göbələyində ferment sintezinə təsirinin öyrənilməsi//Naxçıvan Dövlət Universitetinin elmi əsərləri, ”Təbiət və tibb elmləri seriyası, 2020, c.104. №3, s.88 - 92
5. Hüseynova G.İ. Ksilotrof makromisetlərdən proteolitik fermentlərin produsenti kimi istifadənin tədqiqat üsulları// Azərbaycan Dövlət Pedaqoji Universitetin xəbərləri, Riyaziyyat və təbiət elmləri seriyası, 2020, c.68, №3, s.118-126.
6. Hüseynova G.İ.Ksilotrof makromisetlərdə fermentativ aktivliyin təyini//Azərbaycan Texnologiya Universitetinin “Elmi xəbərləri”, 2020, c.32, №1, s.67-73.
7. Гусейнова Г.И. Изучение протеолитической активности грибов Ganoderma applanatum в питательной среде // “Qlobal elm və innovasiya” mövzusunda Beynəlxalq elmi konfrans materialı. Beynəlxalq elmi-praktik jurnal,Nur-sultan (Kazakhstan), 2020, cild11, № 6, səh 74 – 77.
8. Hüseynova G.İ. Proteolitik fermentlərin bioprodusenti kimi ksilotrof makromisetlərdən istifadənin elmi əsasları //“Universitet sənaye əlaqələrinin keyfiyyət təminatının əsas problemləri” mövzusunda Beynəlxalq elmi- praktik konfrans materialı. Gəncə, 2020, s. 62-64.

9. Hüseynova G.İ. Azotun *Ganoderma applanatum* göbələyinin proteaza ifrazına təsir xüsusiyyətləri// “Pandemiya dövründə gənclərin tədqiqat problemləri” mövzusunda Respublika elmi-praktik konfrans materialları. Gəncə, 2021, s.9-11.
10. Гусейнова Г.И., Гасанова А.Р., Сулейман Ф.М., Гашимова П.М. Некоторые особенности протеолитической активности ксилотрофных макромицетов // Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики» Серия:Естественные и технические науки, 2021, №9,сəh 11-14.
11. Нейматова У.В., Гусейнова Г.И., Мурадова С.М., Мамедова П.М. Микробиологическая и энзимологическая конверсия растительных отходов с лигноцеллюлозной структурой.//Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия:Естественные и технические науки, 2021, №12, сəh 44-47.
12. Hüseynova G.İ.The role of proteolytic enzymes in the pathogenesis of fungal pathologies in plants // “Müasir elmin icmalı” mövzusunda III Beynəlxalq konfransın materilları. – Sürix (İsveçrə), 2023, № 3, s. 68-69.
13. Hüseynova G.İ Characteristics of influence on proteolytic activity of eco-trophic relationships of xylo-troph macromycetes in forest ecosystem // “Müasir elm: fundamental və tətbiqi aspektləri” mövzusunda II beynəlxalq elmi konfransın materialları. -Roma (İtaliya), 2023, s.3-4.
14. Hüseynova G.İ Physiological-biochemical aspects of impact mechanism of proteolytic enzymes in fungal pathologies.// “Gənc alimlərin elmin inkişafına istiqamətlənmiş tendensiyaları” mövzusunda XXVII beynəlxalq elmi və praktiki konfransın materialları. -Edmonton (Canada), 2023, s. 8-10.

Dissertasiyanın müdafiəsi 15 mart 2024-cü il tarixində saat 14⁰⁰-da AR ETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən FD 1.07 Dissertasiya şurasının iclasında keçiriləcəkdir.

Ünvan: AZ1004, Bakı ş., M. Müşfiq küçəsi, 103.

Dissertasiya ilə AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun Kitabxanasında tanış olmaq mümkündür.

Dissertasiya və avtoreferatın elektron versiyaları ARETN-nin Mikrobiologiya İnstitutunun rəsmi internet saytında yerləşdirilmişdir (<https://azmbi.az/index.php/az/>).

Avtoreferat 01 fevral 2024-cü il tarixində zəruri ünvanlara göndərilmişdir.

Çapa imzalanıb: 22.01.2024

Kağızın formatı: A5

Həcm: 38873

Tiraj: 100