

UOT: 579.222

BƏZİ MİKROMİSETLƏRDƏ PEROKSİDAZA AKTİVLİYİNƏ QİDALI MÜHİTİN TƏSİRİ

İsayeva V.K., Qasımova S.Y., Babayeva İ.X., Əliyeva L.A.
AMEA Mikrobiologiya İnstitutu, AZ 1004, Bakı, Badamdar yolu, 40

Mikromiset göbələklərinin peroksidaza aktivliyinə qidalı mühitin təsiri öyrənilmişdir. Təcrübələr nəticəsində məlum olmuşdur ki, göbələklərin boyuməsi və onların peroksidaza aktivliyi qidalı mühitə daxil olunmuş müxtəlif azot, karbon mənbələri və spesifik substratlardan asılıdır. Göbələklərin inkişafına və peroksidaza sintezinin aktivliyinə eyni azot mənbələri müxtəlif təsir edir. Ştammlarda spesifik substratların təsiri altında öyrənilmişdir. Aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, peroksidaza induksiyası yalnız mühitə yüngül mənimsənilən karbon mənbəyini daxil etdikdə baş verməsi mümkündür.

Açar sözlər: mikromisetlər, peroksidaza aktivliyi, azot mənbəyi, spesifik substratlar

Giriş

Müasir mikrobiologiyada, xüsusilə mikologiyada, mikroorqanizmlər arasında müxtəlif ferment produsentlərin axtarışı aktual məsələlərdən biridir [5,6]. Belə ki, materialların biodegradasiya problemi və ksenobiotiklərin bioloji istifadəsi məsələlərlə əlaqədar olaraq oksidoredüktazalar geniş tədqiq olunur. Bu aspektdən də göbələklərdə peroksidaza fermenti xüsusi maraq kəsb edir. Məlumdur ki, qidalı mühitin tərkibi bazidial göbələklərdə peroksidazanın sintezi zamanı mühüm rol oynayır [1,2,4]. Lakin, mikromiset göbələklərlə bağlı analoji tədqiqatlar haqqında məlumatlar o qədər də yetərli deyir [7,9]. Buna görə də, işin məqsədi mikromiset göbələklərdə peroksidaza aktivliyinə qidalı mühitin təsirinin öyrənilməsi olmuşdur.

Material və metodika

Göbələklərin skrining nəticəsində aktiv göbələklər kimi *Geotrichum*, *Penicillium*, *Helminthosporium* cinslərinə aid ştammlar ayrılmışdır və təcrübələr bu göbələklərin üzərində aparılmışdır [3]. Ayrılmış aktiv göbələk ştammlarının maye kulturasında peroksidazanın əmələ gəlməsinin optimal şəraitini müəyyən etmək üçün müxtəlif tərkibli qidalı mühitlərin təsiri tədqiq edilmişdir: sintetik Çapek, spesifik kök tərkibli və palıd kökü həlimi tərkibli sintetik mühitlər.

Müxtəlif azot mənbələrinin peroksidaza sintezinə təsirini öyrənmək üçün spesifik kök tərkibli mühiti əsas götürülmüşdür. Kontrol kimi azotsuz mühitdən istifadə edilmişdir. Azot mənbəyi kimi mühitə aşağıdakı birləşmələr daxil edilmişdir: ammonium sulfat, natrium nitrat, ammonium nitrat, azot ekvivalent miqdarında (N= 0,15%), asparagin, sidik cövhəri. Spesifik substratlar kimi tannin, qal turşusu, piroqalol, askorbin turşusu və palıd kökü həlimi istifadə olunmuşdur. Sterilizasiyadan sonra optimal pH (4,8-5) saxlanılır. Peroksidazanın aktivliyi Lukomski və Qorodesko metodu ilə təyin olunmuşdur [8].

Nəticələr və onların müzakirəsi

Təcrübələr nəticəsində məlum olmuşdur ki, aktiv ştammların sintetik Çapek mühitində becərilmə zamanı onların mayekulturasında peroksidazanın sintezi dayanmışdır. Yüksək miqdarda dəmir və maqan, həmçinin peroksidaza oksidləşməsinin spesifik substratı kimi palıd kökü həlimindən ibarət sintetik və spesifik kök tərkibli mühitlərdə becərilmiş aktiv ştammlarda maye kulturaya peroksidaza sintezi müşahidə olunmuşdur (cəđ. 1).

Mikromiset göbələklərin inkişafına və peroksidaza aktivliyinə qidalı mühitin tərkibinin təsiri

Cədvəl 1

Kultura	Ştamm	Spesifik kök tərkibli mühit		Sintetik çəpek mühiti		Palıd kökündən ibarət sintetik mühit	
		inkişaf	aktivlik	inkişaf	aktivlik	inkişaf	aktivlik
<i>Geotrichum sp.</i>	1	+	+	+	-	+	+
<i>Penicillium funiculosum</i>	4	+	+	+	-	+	-
<i>Helminthosporium sp.15</i>	15	+	+	+	-	+	-

Mühitə əlavə edilmiş müxtəlif azot birləşmələrinin təsirinin öyrənilməsi bağlı tədqiqatlardan aydın olur ki, peroksidaza sintezinin aktivliyi mühitə əlavə edilmiş azot birləşmələrinin formasından

Cədvəl 2

Mühitə daxil edilmiş azot mənbələrinin kifli göbələklərin peroksidaza əmələ gətirmə aktivliyinə və inkişafına təsiri

Təcrübə variantı	Peroksidaza aktivliyi			İnkişaf	
	5-ci sutka	10-cu sutka	20-ci sutka	5-ci sutka	20-ci sutka
<i>Geotrichum sp.1</i>					
Nəzarət	+++	+++	+++	++	+++
(NH ₄) ₂ S ₀ ₄	++++	++++	++++	+++	++++
NaNO ₃	++	+++	+++	++	++
NH ₄ NO ₃	++++	+++++	+++	+++	++++
Asparagin	++++	++++	+++++	+++	+++
Sidik cövhəri	++++	+++++	++	+++	++
<i>Penicillium funiculosum sp.4</i>					
Nəzarət	++	++	±	++	+++
(NH ₄) ₂ S ₀ ₄	++	++	±	++	+++
NaNO ₃	+++	++++	+++	++	+++
NH ₄ NO ₃	+++	++++	++++	++	+++
Asparagin	+++	++++	++++	++	+++
Sidik cövhəri	+++	++++	++++	+	+
<i>Helminthosporium sp. 15</i>					
Kontrol	++	++	±	++	+++
(NH ₄) ₂ S ₀ ₄	++	++	±	++	+++
NaNO ₃	+++	++++	+++	++	+++
NH ₄ NO ₃	+++	++++	++++	++	+++
Asparagin	+++	++++	++++	+	++
Sidik cövhəri	+++	++++	++++	+	++

asıldır. Hər bir göbələk ştamında özünəməxsus qanunauyğunluq müşahidə edilir (cə. 2).

Geotrichum sp.1 ştamında yüksək peroksidaza aktivliyi müşahidə edilmişdir

Bu, mühitə ammonium sulfat və ammonium nitrat, həmçinin sidik turşusu və asparaginin əlavə edilməsi ilə əlaqədardır. Mühitə natrium nitrat əlavə etdikdə 5-ci sutkada aktivlik nəzarətə nisbətən aşağı, sonra isə ona bərabər olmuşdur, lakin ondan artıq olmamışdır. 10-cu sutkada nisbətən yüksək aktivlik ammonium nitrat və sidik cövhərinin iştirakı ilə, 20- ci sutkada isə asparaginin iştirakı ilə müşahidə olunmuşdur.

Mühitədə ammonium sulfatın iştirakı ilə *Penicillium funiculosum sp.4* ştamında zəif peroksidaza aktivliyi aşkar edilmişdir. Becərlmənin 10-cu sutkasında NaNO₃, NH₄NO₃-in iştirakı ilə peroksidazanın əmələ gəlməsinin maksimal aktivliyi müşahidə edilmişdir. Asparagin və sidik cövhərinin iştirakı nəticəsində 20-ci sutkada yüksək aktivlik müşahidə edilmişdir.

Helminthosporium sp.15 ştamı *Penicillium funiculosum* ştamı kimi ammonium sulfatın iştirakı ilə zəif peroksidaza aktivliyinə malikdir. Mühitə natrium nitrat və ammonium nitrat əlavə etdikdə becərlmənin 10-cu sutkasında maksimal aktivlik müşahidə olunur, sidik cövhəri və asparagin olan mühitədə isə yüksək aktivlik becərlmənin 20-ci sutkasında izlənilir.

Beləliklə, tədqiq edilmiş mikromisetlərdə peroksidaza aktivliyin yüksək qiymətləri, əsasən, ammonium nitrat və sidik cövhərinin iştirakı ilə baş vermişdir. Mikromisetlərdə peroksidazanın əmələ gəlmə aktivliyi ilə böyümə göstəricisi arasında heç də həmişə korrelyasiya, asılılıq olmur. Belə ki, zəif *Penicillium funiculosum* ştamında sidik cövhəri tərkibli mühitədə zəif inkişaf müşahidə edildiyi zaman aktivlik yüksək olmuşdur.

Peroksidazanı adaptiv ekzoferment kimi almaq məqsədilə, spesifik substratların peroksidaza oksidləşməsinin peroksidaza sintezinin aktivliyinə təsirin öyrənilməsinin zəruriyyəti yaranır. Buna görə də tədqiq olunan mikromisetlərin peroksidaza aktivliyi və kulturanın böyüməsi 5, 10, 15 sutka ərzində öyrənilmişdir.

Aparılan təcrübələr nəticəsində məlum olmuşdur ki, göbələklərin mühitədə inkişafı getsədə, peroksidaza induksiyası müşahidə olunmur. Məhz buna görə mühitə peroksidazanın sintezi üçün

Cədvəl 3

Mühitə daxil edilmiş şəkərin *Geotrichum sp. 1* ştamının inkişafına və peroksidaza əmələ gətirmə aktivliyinə təsiri

Təcrübə	Sutka						Bütün mitselinin quru çəkisi		pH
	10		15		20		mq/100 ml mühitə	N,%	
	İ	A	İ	A	İ	A			
Nəzarət	+++	–	+++	–	+++	–	43,6	100	6,5
Saxaroza	+++	±	+++	+	+++	–	103,6	236,2	6,03
P.k.h. + saxaroza	++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	370,5	849,7	5,39
Palıd kökü həlimi	+++	–	+++	–	+++	–	47,7	109,3	6,29

Əlavə: İ- inkişaf, A- aktivlik, N-nəzarət, P.k.h.- Palıd kökü həlimi

spesifik substratlar daxil edilmişdir. Təcrübələr 20 sutka ərzində mühitə saxaroza əlavə edərək aparılmışdır. Aydın olmuşdur ki, saxaroza fermentin sintezinə müsbət təsir göstərməmişdir (cə.d.3).

Şəkərin qatılığının azalması ferment aktivliyinin də aşağı düşməsinə səbəb olmuşdur (cə.d.4).

Buna görə növbəti təcrübələrdə peroksidaza oksidləşməsinə spesifik substrat kimi təsir edən saxaroza mühitə 30 q/l daxil edilmişdir, eyni zamanda təcrübədə palıd kökündən və 0,1% qatılıqda pirohalloldan istifadə olunmuşdur. Alınan nəticələr cədvəl 5-də əks olunmuşdur

Geotrichum sp.1 ştamında əlavə olunan bütün substratlar qvayakol istisna olmaqla, peroksidazanın induksiyasına səbəb olmuşdur. Palıd kökü həlimi əlavə etdikdə kultural mayədə ferment aktivliyi kontrola nisbətən 42 dəfə, tannini əlavə etdikdə isə 8 dəfə artır.

Cədvəl 4

Şəkər konsentrasiyasının *Geotrichum sp. 1* ştamınının (palıd kökü həlimi olan sintetik mühitdə) inkişafına və peroksidaza əmələ gətirmə aktivliyinə təsiri

Təcrübə	Sutka						Bütün mitselinin quru çəkisi		pH
	10		15		20		mq/100 ml mühitə	N,%	
	İ	A	İ	A	İ	A			
Kontrol	++++	++++	++++	+++++	++++	+++++	104,2	100	5,7
Şəkərin 0,5 norması	++	+++++	++++	+++++	++++	+++++	89,6	86	6,6
Şəkərin 0,1norması	++	++	+++	++	+++	++++	58,3	56	7,8

Eyni zamanda spesifik substratların, palıd kökü həlimi və askorbin turşusu istisna olmaqla, təsiri altında mitselinin çəkisi azalmışdır. Güman olunur ki, onlar kulturalının böyüməsinə inhibitor kimi təsir edirlər.

Penicillium funiculosum sp. 4 ştamda istifadə olunmuş substratlardan heç biri peroksidazanın induksiyasını yaratmamışdır. Askorbin və hal turşusu mitselini 1,5-2 dəfə artırmış, yerdə qalan substratlar isə, əksinə, nəzarətə nisbətən mitselinin çəkisini aşağı salmışdır. Kulturaları kök tərkibli mühitə təkrar ədikdə peroksidaza aktivliyi bərpa olunmuşdur.

Helminthosporium sp. 15 ştamı peroksidaza oksidləşməsinin spesifik substratlarının mühitə daxil edilməsinə kəskin reaksiya vermişdir. Tannin və pirohallol mitselinin çəkisini nəzarətə nisbətən 6-8 dəfə artırmışdır. Digər substratlarda mitselinin çıxımını əhəmiyyətli

dərəcədə artırmışdı, lakin peroksidaza induksiyası müşahidə olunmamışdır. Bu ştamında peroksidaz aaktivliyi kök tərkibli mühitə əkildikdə bərpa olunur.

Aparılan tədqiqatlar göstərdi ki, ştammların əksəriyyətində peroksidazainduksiyası mümkündür. Buna peroksidaza oksidləşməsinin xüsusi substratları – tannin, halturşusu, pirohallol, askorbin turşusu və palıd kökü həlimi- təsir edir.

Ştammlarda peroksidaza induksiyasının əsas xüsusiyyəti odur ki, bu proses yalnız mühitə yüngül mənimsənilən karbon mənbəyini daxil etdikdə baş verir, induktorlar isə göbələklərin böyümə inhibitorlarıdır.

Göbələklərin peroksidaza əmələ gətirmə aktivliyi və inkişafının peroksidaza oksidləşdirən spesifik substratlardan asılılığı Cədvəl 5

Təcrübə variantları	<i>Geotrichum sp. 1</i>			<i>Penicillium funiculosum sp. 4</i>			<i>Helminthosporium sp. 15</i>		
	mitseli		PO aktivliyi	mitseli		PO aktivliyi	mitseli		PO aktivliyi
	mq/100 ml mühitə	Kontrol 100%		mq/100 ml mühitə	Kontrol 100%		mq/100 ml mühitə	Kontrol 100%	
Kontrol	107,6	100	0,02	299,2	100	–	99	100	–
Palıd kökü həlimi	300,9	279,7	0,84	194,2	64,9	–	553,3	554,5	–
Tannin	90,4	84,0	0,16	196,0	65,5	–	607	608,8	–
Hal turşusu	90,4	84,0	0,09	395,3	132,1	–	643,0	654,3	–
Qvayakol	35,5	32,9	–	95,2	31,8	–	107,4	107,7	–
Pirohallol	90,5	84,3	0,04	288,1	96,3	–	775,1	776,6	–
Askorbin turşusu	107,9	100,3	0,04	679,5	227,1	–	582,6	583,7	–

Belə nəticəyə gəlmək olar ki tədqiq olunan mikromisetlərdə peroksidaza induksiyası spesifik substratlardan asılıdır və bu substratlar isə karbon mənbəyi kimi deyil, böyümə inhibitoru rolunu oynayır.

Ədəbiyyat

1. **Abbasova D.M.** Hidrolaza və oksidazaların aktivliklərinin tullantılarının mikrobioloji konversiyası prosesində dəyişilməsi //B.e.n... dissert. avtoreferatı, Bakı, 2008, 22 s.
2. **Abbasova D.M.** Trametes versicolor göbələyində lakkazanın sintezinin dərin becərilmə şəraitində optimallaşdırılması // AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun elmi əsərləri, Bakı, "Elm", 2006, III c., s. 278-282.
3. **İsayeva V.K.,** Babayeva İ.İ., Baxşəliyeva K.F., Əliyeva L.A. Bəzi mikromisetlərdə peroksidaza fermentin aktivliyinin tədqiqi // "Gənc tədqiqatçı" Elmi-praktiki jurnal, 2016, II c., N 2, s.84-87.
4. **Muradov P.Z.,** Səmədova R.F., Qəhrəmanova F.X., Babayeva Ş.A., Keyseruxskaya F.Ş., Abbasova D.M., Qasımova T.C. Karbon və azot mənbələrinin makromisetlərdə hidrolaza və oksidazaların aktivliyinə təsiri // Botanika İns-n elmi əsərləri. Bakı, "Elm", 2004, s. 537-542.
5. **Борисова В.Н.,** Двойное Л.М. О распространенности в природе микромицетов, образующих пероксидазу в качестве экзофермента // Материалы IV съезда Укр.ботан.общ-ва. - Киев, сент.1969г. - Киев: Наук. думка, 1969, с.86.
6. **Касатова Е. С.** Активность экзооксидоредуктаз микроскопических грибов в связи с биодеструкцией ими природных и синтетических полимеров. Автореферат дисс.. канд. наук, 2011, 18с.

7. **Касатова Е.С.,** Ватолина О.И.,Макарова С.В.,Смирнов В.Ф. Динамика каталазной, пероксидазной и фенолоксидазной активности гриба биодеструктора *Aspergillus terreus* //Мат. Докл. VII Съезда Общества физиологов растений России “Физиология растений фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий” ч.1., 2011, с. 319-320.
8. **Купревич В.Ф.,** Щербакова Т.А. Почвенная энзимология. Минск, 1966, 863 с.
9. **Лазарева Е.С.** Регулирование активности грибных фенолоксидаз путем изменения состава среды культивирования // Сб. тезисов и докл. XIII нижегородской сессии молодых ученых, 2008, с. 21- 22

Исаева В.К., Касумова С.Ю., Бабаева И.Х., Алиева Л.А

ВЛИЯНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ НЕКОТОРЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

Изучено влияние питательной среды на пероксидазную активность микромицетов. В результате экспериментов выявлено, что развитие грибов и их пероксидазная активность зависит от различных источников азота, углерода и специфических субстратов, включенных в питательную среду. Одни и те же источники азота по-разному влияют на развитие гриба и активность синтеза пероксидазы. Исследование влияния специфических субстратов (танин, пирагаллол, аскорбиновая кислота и др.) показало, что перечисленные субстраты индуцируют синтез пероксидазы у исследованных грибов.

Ключевые слова: микромицеты, пероксидазная активность, источники азота, специфические субстраты

Isayeva V.K., Qasimova S.Y., Babayeva I.Kh., Aliyeva L.A.

INFLUENCE OF NUTRIENT MEDIUM PEROXIDASE ACTIVITY OF SOME MICROMYCETES

The effect of the nutrient medium on the peroxidase activity of micromycetes was studied. As a result of the experiments, it was found that the development of fungi and their peroxidase activity depends on various sources of nitrogen, carbon and specific substrates included in the nutrient medium. The same nitrogen sources affect the development of the fungus and the activity of peroxidase synthesis in different ways. Investigation of the effect of specific substrates (tannin, pyragallol, ascorbic acid, etc.) showed that the listed substrates induce peroxidase synthesis in the fungi studied.

Keywords: micromycetes, peroxidase activity, nitrogen sources, specific substrates

Redaksiyaya daxil olma tarixi: 25.X.2018