

**AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI
MİKROBİOLOGİYA İNSTİTUTU**

Əlyazması hüququnda

MEHDİ BAYRAM OĞLU QASEMİ

**KARBOHİDROGEN MƏNİMSƏYƏN
MİKROORQANİZMLƏRDƏ YÜKSƏK DOYMAMIŞ YAĞ
TURŞULARININ BIOSİNTEZİ**

2414.01 - Mikrobiologiya

**Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün
təqdim edilən dissertasiyanın**

A V T O R E F E R A T I

BAKİ – 2014

İş AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun mikrobiologiya şöbəsində yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbər: b.ü.f.d., dos. Y.Y. Atakişiyeva

Rəsmi opponentlər: b.e.d., dos. F.R. Əhmədova
b.ü.f.d., dos. T.Q. Abdullayeva

Aparıcı təşkilat: Azərbaycan Tibb Universiteti, tibbi
mikrobiologiya və immunologiya kafedrası

Dissertasiyanın müdafiəsi «_28_» mart 2014-cü il saat _____-da AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun nəzdindəki FD. 01.222 Dissertasiya Şurasında keçiriləcəkdir.

Ünvan: Az1073, Bakı ş., Badamdar şossesi 40(azmbi@mail.ru)

Dissertasiya işi ilə AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq olar.

Avtoreferat «___» fevral 2014-cü il tarixdə göndərilibdir.

FD 01.222 Dissertasiya Şurasının
elmi katibi, b.ü.f.d.,dos.

F.X.Qəhrəmanova

GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı. Lipidlər – prokariotlardan başlamış çoxhüceyrəli eukariotlara qədər bütün canlı orqanizmlərin həyat fəaliyyətində iştirak edir. Onlar həm enerji mənbəyi, həm də hüceyrə membranının struktur komponenti kimi mühüm həyatı rol oynayır.

Lipidlər qida məhsullarının əsas tərkib hissəsini təşkil edir, bəziləri isə hətta bu baxımdan əvəzəlməzdir. Orqanizmdə lipid mübadiləsinin pozulması bir çox xəstəliklərin, o cümlədən ateroskleroz və yağlanmaya səbəb olur. Aterosklerozun ürək-damar sistemində yaratdığı xəstəliklər ölümə nəticələnmə hallarına görə birinci yerdə durur.

Lipidlərin təbii mənbəyi bitki, heyvan və mikroorqanizmlərdir. Lakin insanlar tarixən qidalanmada yalnız bitki (məs., zeytun yağı, günəbaxan yağı) və heyvanlardan alınan yağdan (məs., kərə yağı, piy) istifadə etmişlər. Mikroorqanizmlər yağ, daha geniş mənada lipid mənbəyi kimi bitki və heyvanlardan çox geridə qalır. Mikrob yağı yaxud “tək hüceyrə yağı” (THY) nisbətən yeni anlayışdır və ilk dəfə 20-ci əsrdə təklif edilmişdir [Papanikolaou S. et al. 2007]. Tələb olunan tərkibdə mikrob yağı istehsalı üçün mikroorqanizmlər fermentyorlarda becərilərsə də alınan əksər bitki və heyvan yağlarına nisbətən baha qiymətə başa gəlir və bu səbəbdən yağların mikrobioloji yolla alınmasının gerçəkləşməsi hətta yaxın gələcəkdə belə real görünmür [Armenta R. and Mercia C., 2013]. Bununla əlaqədar, son dövrlər mikrobioloji yolla yağ istehsalı cəhdləri yalnız bitkilərin biosintez edə bilmədiyi yüksək qiyməti olan qida əlavələrinin – yüksək doymamış yağ turşularının (YDYT) istehsalı istiqamətinə yönəlmişdir [Laoteng K. et al, 2011, Sijtsma L. et al, 2004, Uemura H., 2012].

Tərkibində 18 və daha çox karbon atomu olan YDYT sintez edən mikroorqanizmlər ibtidai göbələklər, bakteriya və dəniz yosunlarıdır. Lakin bakteriyalar YDYT produsentləri kimi münasib deyil, çünki onların hüceyrəsində triasilqliserinlər yüksək miqdarda toplanmır və tərkibində digər sistemlərdə rast gəlinməyən qeyri-adi yağ turşuları və lipidlər olur. Oleogen mikromisetlər YDYT istehsalı üçün iqtisadi baxımdan həyata keçirilə bilən mənbədir. Tərkibində olan YDYT miqdarına görə mikromiset göbələklərin yağı balıq yağına alternativ ola bilər. Bu qrupa aid olan eukariot mikroorqanizmlərdə biosintez müəyyən istiqamətə yönəldilərsə,

hüceyrə daxilində lipid, o cümlədən heyvan və insan orqanizmi üçün əvəz olunmayan doymamış yağ turşularının toplanmasına nail olmaq olar.

Oleogen mikromisetlərdən YDYT alınmasının həyata keçirilməsi üçün mikroorqanizmlərin seleksiyası aparılmalı və becərmə texnikası optimallaşdırılmalıdır. Tədqiqatların davam etdirilməsi üçün mikrob yağlarının tərkibində yüksək miqdarda YDYT olmalı və seçilmiş mikroorqanizm substrat kimi ucuz xammaldan istifadə etməlidir.

Beləliklə, göbələk lipidlərinin biosintezi, metabolizmi və bir sıra proseslərin requlyatoru kimi tədqiqi nəinki nəzəri maraq kəsb edir, həmçinin tibb, baytarlıq və kənd təsərrüfatı sahələrində tətbiq baxımından çox əhəmiyyətli və aktualdır.

Dissertasiya işinin məqsədi. Təqdim olunan dissertasiya işinin məqsədi yüksək doymamış yağ turşuları sintez edən mikroorqanizm ştammlarının seçilməsi və yenilərinin ayrılması, tələb olunan məhsulun yüksək miqdarda sintezi üçün becərmə şəraitinin təyin edilməsi, habelə stress şəraitin lipogenez və yağ turşuları sintezinə təsirinin öyrənilməsi olmuşdur. Bunun üçün aşağıdakı tədqiqatlar aparılmışdır:

- Karbohidrogen mənimsəyən mikroorqanizmlər arasında YDYT-nin potensial produsentlərinin skriningi və yeni produsentlərin ayrılması;
- fəal produsentlərin böyümə dinamikasında lipid və yağ turşuları tərkibinin öyrənilməsi;
- biokütlədən ekstraksiya olunan lipidin əsas siniflərinin keyfiyyət və miqdarı tərkibi, yağ turşuları, xüsusilə YDYT-nin, fərdi siniflər arasında paylanması təyini;
- karbohidrogen və qlükoza substratlarında lipid metabolizmində iştirak edən əsas fermentlərin fəallığının öyrənilməsi;
- maksimum miqdarda biokütlə, lipid və YDYT sintezi üçün fiziki-kimyəvi amillərin tədqiqi;
- qida mühitinin müxtəlif modifikasiyalarının lipid və YDYT sintezinə təsirinin öyrənilməsi, optimal şəraitin tapılması;
- stress yaradan amillərin (polien antibiotik nistatin, neft, duzluluq) lipid və YDYT sintezinə təsirinin öyrənilməsi;

Dissertasiya işinin elmi yeniliyinə daxildir:

- İlk dəfə olaraq karbohidrogen mənimsəyən mikroorqanizmlər arasından YDYT sintez edən göbələk

- şammları - *Mucor globosus* 11 və *Cephalosporium humicola* IE və *Pythium irregulare* LX seçilmişdir;
- seçilmiş mikroorqanizmlərin maksimum miqdarda YDYT sintezi üçün uyğun mühitin tərkibi və becərilmə şəraiti (pH, temperatur, becərilmə müddəti, inokulumun miqdarı və s.) təyin edilmişdir;
 - *Pythium irregulare* LX-in YDYT sintezinin optimallaşdırılması üçün temperatur dəyişməsi rejimindən istifadə edilmiş və 28°C-də 5 və əlavə 15°C-də 2 günlük inkubasiyanın əlverişli olduğu təyin edilmişdir;
 - Müxtəlif yollarla yaranmış stress vəziyyətlə əlaqədar tədqiq olunan mikroorqanizmlərin YDYT tərkibinin dəyişməsi öyrənilmiş və elmi əsaslandırılmışdır;
 - Tədqiq edilmiş mikroorqanizmlərdən – *M.globosus* 11, *C. humicola* IE və *Pythium irregulare* LX-dən istifadə etməklə bazar qiyməti yüksək olan YDYT – γ -linolen, araxidon və eykozapentaen turşularının alınmasının mümkünlüyü göstərilmişdir.

İşin əməli əhəmiyyəti: Mikrobioloji yolla γ -linolen, araxidon və eykozapentaen turşularının alınması üçün optimal şərait tapılmışdır. İctimai yeməxanalarda yaranan yağ tullantıları, günəbaxan yağı istehsalında yaranan qalıqlar lipid və yağ turşuları biosintezi üçün əlverişli alternativ substrat ola bilər. Bu həm də yağ tullantıları ilə çirklənmənin qarşısının müəyyən dərəcədə alınmasına yardım olar.

Nəşr olunan əsərlər. Dissertasiyanın mövzusuna aid 10 əsər dərc edilmişdir. Onun 9 məqələdir.

İşin aprobasiyası. Dissertasiyanın nəticələri üzrə Azərbaycanın Sumqayıt şəhərində keçirilən “Ekologiya və həyat fəaliyyətinin mühafizəsi” VII Beynəlxalq Elmi Konfransda (2012), Bakı Dövlət Universitetinin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş «Biologiya, Elmi Nailiyyətlər» mövzusunda Respublika Elmi konfransında (Bakı, 22-23 may 2012), Novosibirskdə keçirilən “Biologiya, kimya və fizikanın inkişaf tendensiyası” internet-konfransda məruzələr edilmişdir.

İşin həcmi və strukturu. Dissertasiya işi girişdən, ədəbiyyat məlumatlarının icmalına həsr olunmuş iki və eksperimental hissəni əks etdirən dörd fəsildən, yekun xülasədən, nəticələrdən və 215 nəşrdən ibarət

ədəbiyyat siyahısından ibarətdir. Dissertasiyaya 31 cədvəl və 17 şəkil daxil edilmişdir.

Müdafiəyə çıxarılan əsas müddəalar:

- Yüksək miqdarda γ -linolen turşusu sintez edən *Mucor globosus* və *Chephalosporium humicola* ştammları, araxidon və eykozapentaen turşuları sintez edən *Pythium irregulare* ştammi seçilmişdir,
- Neft və alifatik karbohidrogenlər həm biokütlə, həm də onun tərkibində olan lipidlərin və YDYT-nın çıxımına əhəmiyyətli dərəcədə təsir göstərir,
- Tədqiq edilən mikroorqanizmlərin yüksək miqdarda uyğun YDYT sintezi üçün optimal şərait təyin edilmişdir,
- Xam neft, natrium xlorid duzu və antibiotik ilə yaranan stress vəziyyətə göbələklərin adaptasiyasının biokütlədə olan lipidlərdə fosfolipid payının (tərkibində yüksək miqdarda doymamış yağ turşuları olan) artması ilə getdiyi sübut edilmişdir.

MATERIALLAR VƏ METODLAR

Tədqiqatlarda AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun Mikroorqanizm Kulturalarının Kolleksiyasından seçilmiş mikromiset, həmçinin neftlə çirklənmiş torpaq nümunələrindən ayrılmış göbələk ştammlarından istifadə olunmuşdur. Göbələklərin ayrılması və identifikasiyası üçün mikologiyada qəbul edilmiş standart üsullardan, həmçinin dövrü mətbuatda dərc edilmiş yeni ədəbiyyatdan istifadə edilmişdir.

İbtidai göbələklərin becərilməsi üçün ac aqar, Çapek-Doks, suslo-aqar mühitlərindən istifadə edilmişdir. Aqarlı mühitdə inkubasiya aerob şəraitdə stasionar vəziyyətdə, maye mühitdə kolbalarda becərildikdə isə yelləncəklərdə 220 dövrə/dəqiqə sürətlə çalxalanmaqla aparılmışdır.

Göbələklərin oleogenliyinin ilkin təyini Qara Sudan B ilə boyama metodu ilə aparılmış, sonra seçilmiş göbələklər kolbalarda dövrü becərilmə üsulu ilə maye mühitdə uyğun substratda becərilmiş və biokütlədə lipidin miqdarı çəki üsulu ilə dəqiqləşdirilmişdir. Quru çəki süzülmüş biokütlə 65°C-də sabit çəkiyə gətirilməklə təyin edilmişdir.

Lipidlərin ekstraksiyası üçün Folç və Blay-Dayer üsulundan istifadə edilmişdir. Polyar lipidlər neytral lipidlərdən soyuq aseton ilə çökdürülməklə ayrılmışdır.

Polyar lipidlərin fraksiyalara ayrılması xloroform - metil spirti - su (65:25:4), neytral – lipidlər üçün heksan - dietil efiri – sirkə turşusu (85:25:4) həllediciləri sistemlərində nazik qatlı xromatoqrafiya üsulu ilə aparılmış, standart lipid preparatları və bu sistemlər üçün ədəbiyyatdan məlum olan Rf göstəriciləri ilə müqayisə etməklə identifikasiya edilmişdir.

Lipidlərin yağ turşuları tərkibi yüksəkeffektli maye xromatoqrafiya (YEMX) ilə təyin edilmişdir.

Yod ədədi titrlənmə ilə aşağıdakı tənliklə hesablanmışdır:

$$Y.Ə = (B_1 - B_2) \times 0,0127 / a$$

Y.Ə. – 100 q lipidə birləşən yodun qramlarla miqdarı ilə ölçülür, B₁ - yoxlama variantın titrlənməsinə sərf olunmuş 0,1 n. tiosulfat məhlulu (ml), B₂ - təcrübə variantın titrlənməsinə sərf olunmuş 0,1 n. tiosulfat məhlulu (ml), 0,0127 – tiosulfatın yoda görə titri, a - lipid nümunəsinin çəkisi (q).

Reduksiyaedici şəkərlərin miqdarı Şomodi-Nelson metodu, həll olan oksigenin (HO) miqdarı INGOLD polyaroqrafik O₂ sensorla (diametri 12 mm, qeydəalma limiti 100 nM, dəqiqliyi 30 nM) ölçülmüşdür.

Lipid metabolizmində iştirak edən fermentlərin aktivliyi uyğun metodik vəsaitlər və <http://www.worthington-biochem.com>–da verilmiş qaydaların əsasında hüceyrə ekstraktında təyin edilmişdir.

İŞİN ƏSAS MƏZMUNU

1. Yüksək doymamış yağ turşuları sintez edən ştammların skriningi və lipid metabolizmi

Aparılan tədqiqatlarda AMEA Mikrobiologiya İnstitutunun Mikroorqanizm Kulturalarının Kolleksiyasından yüksək miqdarda γ-linolen turşusu sintez edən lipogen *M. globosus* 11 və *C. humicola* 1E ştammları seçilmişdir. Araxidon və eykozapentaen turşularının produsenti *P. irregularis* LX ştammi neftlə çirkənlənmiş torpaqlardan ayrılmışdır.

Alınmış nəticələr qlükoza substratı ilə müqayisədə neft və alifatik karbohidrogenlərdə tədqiq edilən mikroorqanizmlərin həm biokütlə, həm də onun tərkibində olan lipidlərin çıxımında əhəmiyyətli dərəcədə fərq olduğunu göstərmişdir. Hər üç kulturanın karbohidrogen substratında

böyüməsi daha aşağı sürətlə gedir və biokütlənin miqdarının maksimum göstəricisi qlükozada olan səviyyəyə çatmır. *M.globosus 11*-in xam neft, undekan və heksadekan substratından alınan maksimum biokütlə göstəricisi qlükozada toplanan maksimum biokütlənin miqdarının 27,2%, 38,5% və 60,7% -ni, eyni sıra ilə, *C. humicola IE* – ilə aparılan eksperimentlərdə 28,6%, 34,3% və 51,0% -ni və *P. irregulare LX* –də isə 47,2%, 43,6% və 52,7%-nə bərabər olur. Karbohidrogen substratı olan maye mühitin bir litrindən *C. humicola IE* –nin 7,13 qram (heksadekan), 4,9 qram (undekan), 4,0 qram (xam neft), *M.globosus* un 9,2 qram (heksadekan), 4,3 qram (undekan), 4,6 qram (xam neft), *P. irregulare LX*- in isə 7,6 qram (heksadekan), 6,33 qram (undekan), 3,9 qram (xam neft) biokütləsi toplanmışdır. Eyni ardıcılıqla quru biokütləyə görə lipidin faizlə göstəriciləri *C. humicola IE* üçün 44,3% (heksadekan), 50,2% (undekan), 58,4% (xam neft), *M.globosus 11* in 37,4% (heksadekan), 45,6% (undekan), 56,7% (xam neft), *P. irregulare LX*-in isə 37,4% (heksadekan), 48,8% (undekan), 64,1% (xam neft) olmuşdur, halbuki qlükozalı mühitdə biokütlədə lipidlərin miqdarı 3-3,5 dəfəyə qədər aşağı miqdarda qeydə alınmışdır.

Lipid fraksiyaları tərkibinin müqayisəli analizi hər üç göbələyin lipid tərkibində karbohidrogenlər, triasilqliseridlər, diasilqliseridlər, monoqliseridlər, sərbəst yağ turşuları və polyar lipidlərin olduğunu göstərdi (cədvəl 1).

Qlükoza variantlarında hər üç göbələyin biokütləsindən ekstraksiya olunan ümumi lipidlərin soyuq asetonla fraksiyalara bölünməsi neytral lipidlərin polyar lipidlərə nisbətən daha çox miqdarda olduğunu aşkar etmişdir. Bu göstərici *C. humicola IE* -də 59,0%, *M.globosus 11*-də 64,0%, *P. irregulare* -də isə 69,0% olmuşdur. Daha çox miqdarda qeydə alınan neytral lipid sinfi triasilqliseridlərdir. Ümumi lipidin tərkibində triasilqliseridlərin yüksək miqdarı – 48,0% *P. irregulare*-də qeydə alınmışdır. Digər iki göbələkdə isə uyğun göstəricilər bir qədər aşağı (42,0% və 38,0%) olmuşdur.

Göbələk mitselilərinin ümumi lipidinin yağ turşuları tərkibinin müqayisəli analizi heksadekan substratında becərilmədə alınan lipidin yağ turşuları tərkibinin qlükoza substratındakı göstəricilərdən fərqli olduğunu göstərmişdir (cədvəl 2). Heksadekanlı mühitdə toplanan biokütlənin lipid tərkibində qlükoza substratında qeydə alınmayan bir çox yağ turşuları da müəyyən edilmişdir.

Cədvəl 1

Heksadekan və qlükozalı maye mühitdə becərilmiş göbələklərin ümumi lipidlərinin fraksiya tərkibi

Fraksiyalar	Cəmi lipidlərin tərkibində, %-lə					
	Qlükoza	C ₁₆ H ₃₄	Qlükoza	C ₁₆ H ₃₄	Qlükoza	C ₁₆ H ₃₄
	<i>M.globosus</i> 11		<i>C.humicola</i> 1E		<i>P.irregularis</i> LX	
Neytral lipidlər	50,0±2,6	50,0±2,6	65,0±3,3	60,0±3,0	69,0±3,2	47,2±2,2
Triasilqliseridlər	23,0±0,8	23,0±1,0	52,0±2,6	11,0±0,62	42,2±2,0	16,3±0,4
Diasilqliseridlər	8,0±0,4	8,0±0,5	4,0±0,2	2,0±0,08	3,3±0,15	2,2±0,11
Monoasilqliseridlər	3,0±0,15	3,0±0,1	1,5±0,07	0,3±0,01	2,2±1,0	0,3±0,05
Sərbəst sterinlər	4,0±0,2	4,0±0,15	0,5±0,05	0,1±0,005	6,8±0,3	1,5±0,2
Sərbəst yağ turşuları	2,0±0,1	2,0±0,08	2,0±0,1	0,6±0,03	3,1±0,1	0,6±0,03
Karbohidrogenlər və sterin efirləri	10,0±0,4	10,0±0,6	5,0±0,25	46,0±3,0	11,4±0,5	26,3±1,2
Polyar lipidlər	48,0±2,2	48,0±3,2	22,0±0,85	27,0±1,3	13,0±0,5	33,8±1,4
Kardeolipin	2,0±0,1	2,0±0,08	0,8±0,04	0,8±0,04	1,1±0,04	1,2±0,04
Qlikolipidlər	33,0±1,4	33,0±2,1	16,0±0,75	22,1±1,0	2,9±0,12	10,3±0,4
Fosfatidilserin	1,0±0,05	1,0±0,05	İzi	İzi	3,6±0,15	7,2±0,3
Fosfatidilxolin	2,0±0,1	2,0±0,08	1,6±0,08	1,6±0,08	2,4±0,1	8,3±0,4
Fosfatidiletanol-amin	2,0±0,1	2,0±0,08	1,6±0,08	0,9±0,05	2,0±0,1	5,0±0,2
Lizofosfatidilxolin	2,0±0,1	2,0±0,08	İzi	İzi	İzi	İzi
Fosfatid turşusu	6,0±0,3	6,0±0,4	2,0±0,1	1,6±0,08	1,0±0,04	1,8±0,08
İdentifikasiya olunmamış fraksiya	2,0±0,1	2,0±0,9	13,0±0,6	13,0±0,68	18,0±0,4	19,0 ±0,4

Qlükoza və heksadekan substratında göbələk lipidlərinin yağ turşuları tərkibi

Yağ turşuları	Ümumi miqdara görə %-lə					
	Qlükoza	C ₁₆ H ₃₄	Qlükoza	C ₁₆ H ₃₄	Qlükoza	C ₁₆ H ₃₄
	<i>M.globosus</i> 11		<i>C.humicola</i> IE		<i>P. irregulare</i> LX	
C <14	3,0	2,6	2,6	1,9	izi	izi
C16:0	49,0	40,0	52,0	26,0	26,5	20,3
C16:1	4,7	12,5	2,0	7,3	12,0	5,5
C18:0	23,0	5,9	16,0	3,5	4,3	2,6
C18:1	8,3	10,0	18,0	15,0	15,3	5,0
C18:2	izi	9,0	4,4	9,0	17,1	13,4
C18:3	12,0	14,0	5,0	16,9	3,6	12,2
C20:1	0	2,0	0	0	2,2	1,2
C20:3	0	2,0	0	3,4	2,0	10,0
C20:4	0	2,0	0	7,0	9,2	15,3
C20:5	0	0	0	0	7,8	14,5

Qeyd: Bütün göstəricilərdə $P < 0,05$

C. humicola IE –nin heksadekan substratında lipid tərkibində diqqəti cəlb edəcək miqdarda eykozapolien turşuları da (C20) aşkar edilir. Qlükozalı mühitlə müqayisədə bu mühitdə lipidlərin tərkibində palmitin turşusu (C16:0) 2 dəfə, stearin turşusu (S18:0) 4,5 dəfə, olein turşusu (C18:1) 1,9 dəfə azalır, əksinə palmitolein turşusunun miqdarı (C16:1) 4,3 dəfə, linol turşusunun miqdarı (C18:2) 3,6 dəfə artır. Qeyd etmək lazımdır ki, göbələklərin biokütləsində karbohidrogenli mühitdə lipidlərin ümumi səviyyəsinin yüksəlməsi doymamış yağ turşularının payının artması və doymuş yağ turşularının payının azalması ilə yanaşı gedir.

Hər iki substratda lipid fraksiyalarında doymuş və doymamış yağ turşularının paylanması ümumi qanunauyğunluq nəzərə çarpmışdır: polyar lipidlərin doymamışlıq dərəcəsi neytral lipidlərə nisbətən yüksəkdir və bu nisbət karbohidrogen substratında daha da artır.

Alınmış göstəricilər YDYT-nin müxtəlif lipid fraksiyalarının tərkibinə müəyyən qayda ilə daxil olduğunu göstərir. *M. globosus* 11 və *C.humicola* IE –nin YDYT-ı di- və triasilqliserinlərdə, həmçinin polyar lipidlərin tərkibində daha çoxdur, sərbəst yağ turşularında isə demək olar ki, yoxdur. Araxidon turşusu və eykozapentaen turşuları *P. irregulare* LX-

da polyar lipidin, sərbəst yağ turşularının və diasilqliseridlərin tərkibində də toplanır. Triasilqliseridlərin tərkibində C20:4 və C20:5 turşularının səviyyəsi tam böyümə müddətində çox aşağı olur.

Beləliklə, *P. irregulare* LX-in YDYT-ı *M. globosus* 11 və *C. humicola* IE –d'n fərqli olaraq sərbəst yağ turşularında da yığılır. Xüsusi olaraq qeyd etmək lazımdır ki, C20:4 və C20:5 turşularının polyar lipidlərin tərkibində daha çox miqdarda olması onların hüceyrə membranının tərkibində plastik funksiya yerinə yetirməsi ilə əlaqədar olduğunu göstərir.

Tədqiqatlarda *C. humicola* IE və *M. globosus* 11 oleofilliyinin biokimyasında real yaxud potensial iştirak edən fermentlərin fəallığı da öyrənilmişdir (cədvəl 3).

Cədvəl 3

Qlükoza və heksadekanda becərilən *Cephalosporium humicola* IE və *Mucor globosus* 11 fermentativ aktivliyi (nmol/min/mq zülal)

Enzyme	<i>C. humicola</i> IE		<i>M. globosus</i> 11	
	Glucose	Hexadecane	Glucose	Hexadecane
ME	35±1,6	18±0,9	22±1,1	11±0,5
ACL	30±1,5	-	26±1,2	-
G-6PGDH	1100±55	200±10	980±46	120±5,5
FAS	33±1,6	40±2,0	23±1,1	22±1,0
ACC	2,5±0,09	4.8±2,3	3,1±1,4	5,3±0,2
DAGAT	0,7±0,03	2,1±0,01	0,4±0,02	1,7±0,08
ICL	-	58±2,5	5±0,22	40±1,8
CAT	34±1,5	350±15	22±1,0	230±11
PK	820±40,0	160±8	600±30	67±3,2

ME-malik enzim, ACL- ATF-sirat liaza, G-6PGDH- Qlükoza-6-fosfat dehidrogenaza, FAS - Yağ turşuları sintazası, ACC - Asetil CoA-karboksilaza, DAGAT- Diasilqliserol asiltransferaza, ICL- ATF-sirat liaza, CAT- Karnitin acetyltransferaza, PK-Piruvat kinaza

Qeyd etmək lazımdır ki, göbələklər arasında xüsusi fermentativ aktivliyə görə müəyyən dərəcədə fərq olsa da onların aktivliyinin dəyişmə dinamikası demək olar ki, eynidir. Yağ turşuları sintazasının aktivliyi həm qlükozada, həm də heksadekanda qeydə alınmışdır. Bu, yağ turşularının *de novo* biosintezini təsdiq edir. Yağ turşularının sintazasının aktivliyi hər iki variantda kiçik fərqlərlər nəzərə alınmazsa, çox oxşardır. Bu iki ferment birincili və ikincili metabolizmlər arasında metabolik əlaqə yaradır. ICL

qlükozada becərilmiş hüceyrələrdə tapılmamış, heksadekanda isə qeydə alınmışdır. ATF:sitrat liaza qlükozada becərilmiş hüceyrələrdə tapılmışdır. Bu sitozol fermenti mitoxondriya eksport olunmuş limon turşusundan sitozol Asetil CoA-nın yaranmasında iştirak edir. Heksadekanda becərilmiş göbələk hüceyrələrində isə ATF:sitrat liaza aktivliyi qeydə alınmamışdır. Karnitin asetil transferaza fermenti Asetil CoA-nın hüceyrəyə doğru yerdəyişməsinə iştirak edir. Qlükoza substratında böyümə zamanı qeydə alınmış karnitin asetil transferaza fermenti aktivliyi heksadekanda 10 dəfə artmışdır. Tədqiq etdiyimiz göbələklərdə malik enzimin olması doymamış yağ turşularının biosintezində desaturasiya və elonqasiyası reaksiyalarının NADPH-la təmin olunmasını göstərir.

Piruvat kinazanın yüksək aktivliyi qlükozada yetişdirilən biokütlədə qeydə alınmış, heksadekanda isə 80-90% azalmışdır. Bu, piruvat kinazanın göbələk hüceyrələrində piruvatın yaranmasının biosintezə cəlb olunmadığını göstərir. Heksadekanda becərilmiş hüceyrələrdə qlükoza 6-fosfat dehidrogenazanın aşağı aktivliyi heksoza monofosfat yolunda karbon axınının azaldığını göstərir.

Lipid nümunələrində doymuş və doymamış yağ turşularının tərkibinin müqayisəsi qlükozalılı mühitdə *M.globosus* 11-in ümumi yağ turşularının 20,0%-nin, *C.humicola* IE -nin isə 28,0 %-nin doymamış yağ turşuları olduğunu göstərmişdir. Qlükoza heksadekanla əvəz olunduqda bu göstəricilər uyğun olaraq 40 və 41,3 %-ə yüksəlmişdir. Bu isə, öz növbəsində karbohidrogen substratının 18:1 yağ turşusunun 18:2 yağ turşusuna çevrilməsini kataliz edən $\Delta 12$ -desaturaza və 18:2 yağ turşusunun 18:3 yağ turşusuna çevrilməsini kataliz edən $\Delta 12$ -desaturaza fermentlərinin aktivliyini yüksəltməklə 18:2 və 18: 3 yağ turşularının biosintezini artırdığını sübut edir.

2. Yüksək miqdarda YDYT-nın biosintezi üçün mühitin fiziki-kimyəvi amillərinin seçilməsi

Aparılmış tədqiqatların ümumi analizi becərmə şəraitinin – qida mühitinin tərkibinin, hüceyrələrin oksigeni hansı dərəcədə əldə edə bilmə qabiliyyətinin, pH və temperaturun mikrooqanizmlərin lipid, həmçinin YDYT toplanmasına böyük təsir etdiyini göstərir. Tədqiq olunan fərdi orqanizmlərin təbiəti, optimal şəraiti ştam saviyyəsində fərqlənir.

Alınmış göstəricilər mühitin ilkin pH-nın dəyişməsinin tədqiq edilən göbələklərin həm biokütlə, həmçinin onun tədqiq edilən yüksək

doymamış yağ turşuları tərkibinə müəyyən təsir etdiyini göstərir. *M. globosus* 11 və *C.humicola* 1E –nin lipid sintezi üçün hər iki mühitdə əlverişli pH 7,0, *P. irregulare* LX üçün 8,0 olmuşdur. Beləliklə, tədqiq etdiyimiz mikroorqanizmlərin biokütlə və lipid biosintezinə becərilmə mühitinin ilkin pH-ı fərqli təsir etmişdir. Tədqiq etdiyimiz göbələklərin lipid tərkibində uyğun doymamış yağ turşularının nisbətən yüksək miqdarı pH-ın neytrala yaxın göstəricilərində aşkar edilmişdir. Alınan nəticələr doymamış yağ turşuları payının artmasının araxidon turşusunun hesabına baş verdiyini göstərir. Araxidon turşusunun maksimum miqdarda sintezi pH 7,0-8,0 göstəricilərinə uyğun gəlir. Lipidin tərkibində olan doymuş turşuların daha yüksək miqdarı ilkin pH-ın 4,0 göstəricisində qeydə alınmışdır (ümumi yağ turşularının 33%-i). Karbon zəncirində 18-dən yuxarı karbon atomu olan doymamış turşuların miqdarı isə pH 4-dən 8-ə qədər yüksəldikcə tədricən artmışdır.

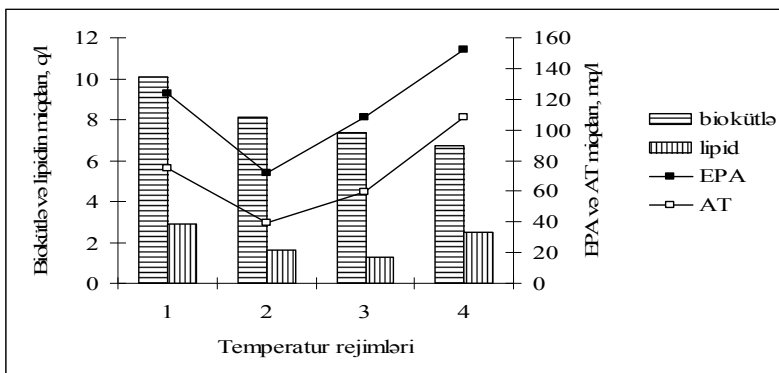
Tədqiq etdiyimiz göbələklər üç temperatur rejimində lifli göbələklərə xas inkişaf xüsusiyyətləri göstərir. Qlükoza mühitdə böyümə əyrisi *M. globosus* 11 28°C-də 5, 21°C -də 6 və 15°C -də 7 gün ərzində formalaşır. Uyğun göstəricilər *C.humicola* 1E və *P. irregulare* LX üçün 28°C-də 4 və 5, 21°C –də 6 və 7, 15°C –də isə 9 və 11 gün olmuşdur.

Yoxlanılan temperatur rejimlərində ümumi lipidlərin tərkibində olan əsas yağ turşularının profili çox yaxın olsa da miqdarı analizin nəticələrində müəyyən fərqlər olmuşdur. YEMX analizinin göstəriciləri becərmə tempeturu azaldıqca *M. globosus* 11 və *C.humicola* 1E-nin lipidinin tərkibində əsasən C16:1 və C18:1 yağ turşularının payının artdığını göstərmişdir. Bu göbələklərdə əsas tədqiqat obyekti olan YDYT-nin biokütlə lipidinin faizlə ifadə edilmiş miqdarında nəzərə çarpacaq dəyişiklik olmamışdır.

Tədqiqatlarda tədqiq edilən *P. irregulare* LX göbələk kulturasının eykozapentaen və araxidon turşuları məhsuldarlığını yüksəltmək məqsədi ilə “temperaturun dəyişdirilməsi” üsulundan istifadə edilmişdir. Biokütlə və lipid, eykozapentaen və araxidon turşuları məhsuldarlığına temperatur dəyişməsinin təsirinin yoxlanılması üçün kulturalar 3, 4 və ya 5 gün 25°C-də becərilmiş, sonra inkubasiya hərərəti 15°C-ə endirilmiş və 7-ci gün biokütlə yığılmışdır. Becərilmə müddətində götürülmüş nümunələrin biokütlə, lipid və doymamış yağ turşularının miqdarı şəkildə verilmişdir.

Təqdim edilmiş göstəricilər sabit temperaturda inkubasiyada maksimal miqdarda lipid, eykozapentaen və araxidon turşularının

produksiyası üçün optimal temperatur 28°C, temperatur dəyişməsi şəraitində isə 28°C-də 5 və əlavə 15°C-də 2 günlük inkubasiya olmuşdur. Qeyd etmək lazımdır ki, əkin zamanı inokulumun miqdarını dəyişməklə də ayırdığımız *P. irregulare* LX mikromiset ştamminin biokütləsində lipidlərin yağ turşuları tərkibinin müəyyən dərəcədə dəyişdirilməsi mümkündür.



Pythium irregulare LX -nin "temperaturun dəyişdirilməsi" rejimlərində biokütlə, lipid, eykozapentaen (EPT) və araxidon turşularının (AT) göstəriciləri

- 1 – 6 gün 28°C; 2 – 3 gün 28°C+4gün 15°C;
 3 – 4 gün 28°C+3gün 15°C; 4 – 5 gün 28°C+2 gün 15°C.

Mühitə əlavə edilən azot birləşmələrinin lipidin tərkibində olan YDYT-nın miqdarına təsiri fərqlənmişdir. Azot mənbəyi kimi ammonium duzları əlavə edilən mühitdə tədqiq etdiyimiz mikroorqanizm ştammlarının lipidinin tərkibində maksimum miqdarda YDYT qeyd alınmışdır. Üzvi azot mənbələri kimi istifadə edilən pepton yaxud maya göbələyi ekstraktı istifadə edilən mühitdə hər üç göbələyin böyüməsi üçün maya göbələyi ekstraktı, lipid sintezi üçün pepton əlverişli olmuşdur. YDYT sintezi üçün bu iki qeyri-üzvi azot mənbəyi demək olar ki, fərqlənməmişdir. Azot mənbəyinin biokütlə, lipid və YDYT sintezinə təsiri heksadekan substratı olan mühitdə də analogi olmuşdur.

Hər üç göbələyin biokütləsinin maksimum miqdarı C:N-nin 20:1 göstəricilərində, maksimum miqdarda lipid sintezi isə *M. globosus* II-də C:N 50:1, digər iki göbəkəkdə isə 75 olduqda alınmışdır. Lakin nəzərə çarpan lipid artımı onun tərkibində olan YDYT-nın azalmasına səbəb olmuşdur.

Mikroorqanizmlərdə tələb olunan YDYT produksiyasının yaxşılaşdırılmasının potensial yollarından biri də ekzogen yağ və yağ turşularının əsas yaxud əlavə karbon mənbəyi kimi istifadə edilməsidir.

Qida mühitinə əlavə edilmiş yağ turşuları və bitki yağları tədqiq edilən göbələklərin lipid tərkibində olan yüksək doymamış yağ turşularının ümumi yağ turşularının cəminə görə miqdarı cədvəl 4-də təqdim olunan göstəricilərə uyğun olaraq dəyişmişdir.

Aldığımız nəticələr mühitə əlavə edilən 0,9 q/l qlutamatın təsirindən *P.irregulare LX* böyüməsinin sürətləndiyini, eykozen turşularının produksiyasının artdığını və qlükoza-6-fosfat dehidrogenaza fermentinin aktivliyinin yüksəldiyini göstərir.

Tədqiq etdiyimiz göbələklərdə lipogenezin intensivliyinə mühitə əlavə edilmiş fosfatın miqdarı da təsir etmişdir. Fosfor defisiti *M.globosus II* -in sintez etdiyi linol və linolen turşularının azalmasına, beləliklə lipidin doymamışlıq dərəcəsinin azalmasına səbəb olmuşdur.

Cədvəl 4

Ekzogen yağ və yağ turşularının yüksək doymamış yağ turşularının miqdarına (%) təsiri

Yüksək doymamış yağ turşuları	Mikroorqanizmlər		
	<i>M. globosus II</i>	<i>C.humicola IE</i>	<i>P. irregulare LX</i>
Palmitin turşusu	27,5±0,9	29,0±1,2	47,0±2,1
Stearin turşusu	19,0±0,8	25,5±1,1	42,0±2,0
Miristin turşusu	16,0±0,6	25,0±1,0	42,0±1,9
Kətan yağı	26,0±1,2	31,0±1,5	49,0±2,4
Pambıq yağı	28,0±1,3	31,0±1,5	50,0±2,4
Kontrol	16,0±0,8	25,0±1,1	42,0±2,0

Digər iki göbələyə fosfatın qatılığının təsiri fərqli olmuşdur. *C.humicola*-da palmitin turşusunun artması hesabına linolen turşusu azalmışdır. *P. irregulare* -nın lipidində isə fosfor çatışmazlığı eykozen turşularının da azalmasına səbəb olmuşdur. Bütün hallarda mikrob lipidlərinin doymuşluq dərəcəsinin artması polyar lipid fraksiyasının, xüsusilə fosfolipidlərin azalması ilə müşayiət edilmişdir.

Yağ qalıqlarının yağ turşularına konversiyası tədqiqatlarında *P. irregulare LX*-dən istifadə edilmişdir. Əsas substrat qlükoza, əlavə substrat kimi müxtəlif yağ tullantılarından - tərəvəz, balıq, cücə və mal ətinin

qızardılmasından qalan yağ tullantısından (10q/l qlükoza+5q yağ qalığı+Tween 80) istifadə edilmiş mühitlərdə alınmış göstəricilər yağ tullantılarının lipid və yağ turşuları biosintezi üçün əlverişli alternativ substrat olduğunu göstərmişdir. Bərk fazada kətan yağı əlavə edilmiş günəbaxan yağı istehsalı qalıqlarının fermentasiyası nəticəsində alınan göstəricilər də qənaətbəxş olmuşdur.

3. Müxtəlif stress vəziyyətə uyğunlaşmada mikroorqanizmlərin lipid və yağ turşuları tərkibinin dəyişməsi

Növbəti təcrübələrimizdə nistatinin müxtəlif qatılıqlarının tədqiq etdiyimiz göbələklərin böyümə və lipid tərkibinin dəyişməsinə təsiri öyrənilmişdir. Bu məqsədlə tərkibində substrat kimi qlükoza olan maye mühitə 1,0; 2,5; 5,0; 10 vahid/ml nistatin əlavə edilmişdir. Polien antibiotik nistatinin təsiri ilə biokütlənin azaldığı və lipidlərin doymamışlıq dərəcəsinin yüksəldiyi aydınlaşdırılmışdır.

YDYT sintezinin intensivləşdirilməsinin yollarından biri də produsentin yüksək duzluluğu olan mühitdə becərilməsidir. Bununla əlaqədar, *C.humicola* IE, *M.globosus* II və *P. irregulare* LX –nın hər iki substratda – qlükoza və heksadekanda, 1,0-5,0% natrium xlorid əlavə edilmiş maye mühitdə artım və YDYT sintezi müqayisəli öyrənilmişdir. Aşkar edilmişdir ki, natrium xloridin yoxlanılan bütün qatılıqları hər iki substratda biokütləyə görə lipidlərin ümumi miqdarına nəzərə çarpacaq dərəcədə təsir etmir, lakin mikroorqanizmlərin ümumi lipidinin YDYT-nın miqdarı nəzərə çarpacaq dərəcədə yüksəlir.

Qlükozalı mühitə əlavə edilmiş xam neftin tədqiq etdiyimiz göbələklərin lipid tərkibinə təsirinin öyrənilməsi üçün xam neft 1,0; 2,0; 3,0; 5,0 və 10,0% qatılıqda əsas mühitə (substrat qlükozadır) əlavə edilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, mühitdə xam neftin qatılığının yüksəlməsi tədqiq edilən göbələk ştamminin böyüməsini əhəmiyyətli dərəcədə ləngidir. Bununla yanaşı mitselinin biokütləsində ümumi lipidlərin biokütləyə görə nisbi miqdarı və yağ turşularının doymamışlıq dərəcəsi (yod ədədi ilə) artır. Mühitə əlavə edilmiş xam neft ayrı-ayrı lipid siniflərinin miqdarca dəyişməsinə səbəb olur. Mühitdə neftin miqdarı yüksəldikcə triqliseridlərin miqdarı azalır, polyar lipid hissəsinin miqdarı isə artır. Sərbəst və efirlənmiş sterinlərin nisbi tərkibində əhəmiyyətli dərəcədə miqdarı dəyişikliklər qeydə alınmamışdır. Lakin membran lipidlərinin PL (polyar lipidlər) : SSt (sərbəst sterinlər) nisbəti neftin

qatılığı artdıqca yüksəlmişdir. Bu göstərici membranın quruluşunun pozulmağını, lakin onun rigidliyinin azalmasını sübut edir. Belə bir vəziyyətdə - axıcılığın yüksəlməsi və membranın struktur-funksional xüsusiyyətlərinin saxlanılması daha çox doymuş asil zənciri olan yağ turşularının sintezi mexanizminin reqlasiyası ilə həyata keçə bilər. Tədqiqatlarımızda lipidlərin doymamışlıq dərəcəsinin yüksəlməsinə səbəb PL payının artması olmuşdur. Buna aydınlıq gətirmək üçün neytral və polyar lipidlərin yağ turşuları tərkibi analiz edilmişdir. Xam neftin təsirindən neytral fraksiyanın tərkibindəki olein və linol turşularının miqdarı dəyişmişdir. Mühitə əlavə edilən neftin qatılığı 3,0%-ə qədər qaldırıldıqda olein turşusunun miqdarı tədricən artmış, 5,0% və 10%-də isə azalmışdır. Linol turşusunun miqdarı 17,1%-dən 7,2%-ə qədər enmiş, 5,0% və 10%-də bir qədər çoxalmışdır. Diqqəti cəlb edən dəyişikliklərdən biri də karbon atomlarının sayı 14-dən aşağı olan yağ turşularının miqdarının artmasıdır. Göstərilən böyümə şəraitində polyar lipidlərin yağ turşuları tərkibi və doymamışlıq dərəcəsi neytral lipidlərə nisbətən daha çox dəyişmişdir. Mühitə xam neftin miqdarı yüksəldikcə polyar fraksiyada doymuş və monodoymamış yağ turşularının miqdarı artmışdır. Qısa zəncirli yağ turşularının miqdarı isə 5-10%-ə qədər yüksəlmişdir.

Tədqiq edilən *P. irregulare* LX-in polyar lipidlərin doymamışlıq dərəcəsi neytral lipidlərə nisbətən yüksəkdir, lakin mühitə əlavə edilən neftin qatılığı yüksəldikcə azalmışdır. Buna baxmayaraq, ümumi lipidlərin tərkibində polyar lipidlərin payının artması qeyd edilən azalmanın (yod ədədinin azalması) qarşısını almış, nəticədə doymamışlıq dərəcəsi artmışdır. Polyar lipidlərin doymamışlıq dərəcəsinin azalması hüceyrə membranının axıcılığının da azalmasına təsir göstərə bilər. Lakin bizim tədqiqatlarda lipidlərin tərkibində qısa zəncirli yağ turşularının miqdarı artmışdır və bunu axıcılığın müəyyən səviyyədə saxlanılması üçün hüceyrənin müdafiə reaksiyası kimi izah etmək olar. Linol turşusunun payının azalması yağ turşularının D12-desaturaza fermentinin fəallığının azaldığını, palmitin turşusunun artması və stearin turşusunun azalması xam neftin təsirindən elonqaza fermentlərinin fəallığının azaldığını göstərir.

Beləliklə, membran lipidlərinin axıcılığının reqlasiyasında yağ turşularının, xüsusilə yağ turşularının elonqasiya və desaturasiyası mexanizmləri mühüm rol oynayır. Neftlə yaranmış stress vəziyyətində göbələklərin adaptasiya prosesi membranda tərkibində yüksək miqdarda

doymamış yağ turşuları olan fosfolipidlərin payının artması ilə həyata keçir.

NƏTİCƏLƏR

1. Mikroskopik göbələklər arasında aparılmış skrining nəticəsində γ -linolen turşusunun produsentləri kimi *Cephalosporium humicola* IE (qlükoza substratında quru biokütlə - 14 q/l, ümumi lipidlər – 18-20%, ümumi lipidin tərkibində γ -linolen turşusunun miqdarı -12,0%), *Mucor globosus* II (uyğun göstəricilər 15 q/l, 18% və 5,0%), araxidon və eykozapentaen turşularının produsenti kimi *Pythium irregulare* LX ştammi (qlükoza substratında quru biokütlə - 14,5 q/l, ümumi lipidlər – 18-20%, ümumi lipidin tərkibində araxidon və eykozapentaen turşuları 9,2 və 7,8%) ayrılmışdır.
2. Substrat kimi karbohidrogendən (heksadekan) istifadə etdikdə tədqiq edilən göbələklərin biokütləsinin tərkibində olan lipidlərin miqdarı dörd dəfəyə qədər, yüksək doymamış yağ turşularının miqdarı isə 1,2-3,4 dəfə artır.
3. Tədqiq edilən göbələklərin yağ turşularının sintaza sisteminin əsas fermentlərinin fəallığı karbohidrogen və qlükoza substratlarında fərqlidir və hər üç göbələkdə oxşar dinamika ilə dəyişir.
4. *M. globosus* II- və *C. humicola* IE -nin ümumi lipidlərində γ -linolen turşusunun faizlə maksimum miqdarı mühitin pH-ı neytrala yaxın, becərmə temperaturu 28°C, inokulumun həcmi 2,0-4,0%, azot mənbəyi NH_4NO_3 , azot/karbon /nisbəti 34:1, araxidon və eykozapentaen turşularının biosintezi üçün *P. irregulare* LX-in uyğun göstəriciləri pH 7,0-8,0, 28°C (temperatur dəyişməsi şəraitində isə 28°C-də 5 və əlavə 15°C-də 2 günlük inkubasiya), NH_4Cl , 50:1 göstəricilərində alınır.
5. Bitki yağları və yağ turşuları, böyümə stimulyatorları, qlutamat və fosfatlardan, habelə bərk fazalı fermentasiya yolu ilə günəbaxan yağı istehsalı tullantısından istifadə etməklə tədqiq edilən göbələklərdə məqsədə uyğun YDYT-nin sintezini artırmaq mümkündür. İctimai iaşə müəssisələrində yaranan yağ tullantıları yüksək doymamış yağ turşuları biosintezi üçün əlverişli alternativ substratdır.
6. Göbələklərin xam neft, natrium xlorid duzu və nistatin antibiotiki ilə yaranan stress vəziyyətdə adaptasiya prosesi lipid fraksiyalarının tərkibcə dəyişməsi ilə deyil, fosfolipid payının artması ilə həyata keçir.

**Dissertasiyanın mövzusu üzrə dərc olunmuş
elmi əsərlərin siyahısı**

1. Qasemi M.B., Atakişiyeva Y.Y. Mikroorqanizmlərdə polidoymamış yağ turşuları sintezi // AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun elmi əsərləri. Bakı:Elm, 2008, c. VI, s.321-326
2. Atakişiyeva Y.Y., Qasemi M.B. *Pythium irregulare*-nin yüksək doymamış yağ turşuları produksiyasına qida mühitinin və karbon-azot nisbətinin təsiri // AMEA Xəbərlər (Biologiya və tibb elmləri) 2012, c. 67, №1, s.122-127
3. Qasemi M.B., Atakişiyeva Y.Y. Biosynthesis of lipids in two oil-degrading fungi - *Cephalosporium humicola* and *Mucor globosus* // Вестник МГОУ, серия «Естественные науки», 2012, №1, с.26-32
4. Qasemi M.B., Atakişiyeva Y.Y. Yağ qalıqlarının *Pythium irregulare* LX-in köməyi ilə yağ turşularına konversiyası /«Ekologiya və həyat fəaliyyətinin mühafizəsi». VII beynəlxalq elmi konf. Mater. SDU-50. Sumqayıt-2012. s. 98-100
5. Qasemi M.B., Atakişiyeva Y.Y., Asadi A. The changes in lipid composition of *Pythium irregulare* Lx oomycetes at a stressful situation created with crude oil // Molecular Biology Research Communications, 2012, v.1, № 1, p.33-38
6. Атакишиева Я.Ю., Касеми М.Б. Липогенез нефти деградирующего микроскопического гриба *Cephalosporium humicola* / Материалы межд. заоч. научно-практической конф. “Тенденции развития биологии, химии, физики”. Новосибирск. 2012 г. с. 49-53
7. Qasemi M.B.,Atakişiyeva Y.Y. *Pythium irregulare* –nin biokütlə, lipid və yüksək doymamış yağ turşuları sintezinə inokulumun həcmnin təsiri / «Ekologiya: təbiət və cəmiyyət problemləri» II beynəlxalq elmi konf. Mater. Bakı, ADU, 7-8 noyabr, 2012. s.357-358
8. Qasemi M.B., Atakişiyeva Y.Y., İsmayılova L.M. *Pythium irregulare*-nin eykozen turşuları sintezinə qlutaminin təsiri // AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun elmi əsərləri, 2012, c.10, №2 , s.172-176
9. Qasemi M.B., Atakişiyeva Y.Y and K. Radjabalizadeh. Temperature Optimization for Arachidonic and Eicosapentanoic

- Acids Production by Oomycete *Pythium irregulare* LX. Temperature Optimization for Arachidonic and Eicosapentanoic Acids Production by Oomycete *Pythium irregulare* LX//J. Animal and Veterinary Advances, 2012, v.11, №23, p.4360-4363
10. Qasemi M.B., Atakişiyeva Y.Y., İsayeva K.X., İsmayılova L.M. Natrium xlorid duzunun mikromisetlərin lipid tərkibinə təsiri. //AMEA-nın Mikrobiologiya İnstitutunun elmi əsərləri, 2013, c.11, №1 , s.25-29

КАСЕМИ МЕХТИ БАЙРАМ ОГЛЫ**БИОСИНТЕЗ ВЫСОКОНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ
КИСЛОТ УГЛЕВОДОРОД ДЕГРАДИРУЮЩИМИ
МИКРООРГАНИЗМАМИ**

В результате проведенных скринингов продуцентов γ -линоленовой (ГЛК), арахидоновой (АК) и эйкозапентаеновой кислот (ЭПК), среди микроскопических грибов отобраны штаммы грибов *Cephalosporium humicola* IE (на глюкозе, как источник углерода, сухая биомасса - 14 г/л, общие липиды – 18-20%, общее количество ГЛК в липидах -12,0%), *Mucor globosus* II (соответственно - 15 г/л, 18% и 5%) и *Pythium irregulare* LX (сухая биомасса – 14,5 г/л, общие липиды – 18-20%, АК - 9,2% и ЭПК - 7,8% в составе общих липидов). На гексадекане, как на единственном источнике углерода, количество биомассы указанных грибов снижается в 3-4 раза, тогда как количество липидов повышается в 4 раза, а высоконенасыщенных жирных кислот в 4 и 1,2-3,4 раза.

Максимальное количество ГЛК в общих липидах *M. globosus* II и *C. humicola* IE накапливается при нейтральном pH среды. Оптимальный объем инокулята составил 2,0-4,0%, источником азота являлся NH_4NO_3 , соотношение углерода к азоту составило 34:1. Для биосинтеза АК и ЭПК штаммом *P. irregulare* LX оптимальным pH среды был 7,0-8,0, источником азота являлся NH_4Cl и соотношение углерода к азоту (C/N) составило 50:1. В постоянном температурном режиме оптимальные количества липида, АК и ЭПК наблюдались при температуре инкубации 25°C. Высокие показатели получены в переменном температурном режиме: пятидневная инкубация при 25°C, с последующей двухдневной инкубацией при 13°C.

Установлено, что при выращивании *P. irregulare* LX в среде с различными концентрациями сырой нефти, хлорида натрия и антибиотика (нистатин) процесс адаптации исследованного гриба к стрессовой ситуации, происходит в мембране за счет увеличения доли фосфолипидов, содержащих высокое количество ненасыщенных жирных кислот.

QASEMI MEHDI BAYRAM

BIOSYNTHESIS OF HIGHLY UNSATURATED FATTY ACIDS BY HYDROCARBON DEGRADING MICROORGANISMS

A screening of producers of γ -linolenic (GLA), arachidonic (AA), and eicosapentaenoic (EPA) acids among hydrocarbon degrading microscopic fungal strains was carried out. As a result, three strains were selected : *Cephalosporium humicola* IE (dry biomass - 14 g/l, the total lipids – 18-20%, in which 12,0% of GLA), *Mucor globosus* II (15 g/l, 18% and 5% respectively) and *Pythium irregulare* LX (dry biomass – 14,5 g/l, the total lipids – 18-20%, 9,2 and 7,8% of AA and EPA, respectively as a part of the total lipids) while growing on glucose as a carbon source. On hexadecane as the sole source of carbon the amount of biomass of the specified fungi decreases by 3-4 times whereas the quantity of lipids and highly unsaturated fatty acids raises in four and 1,2-3,4 times, respectively.

The maximum of γ -linolenic acid accumulation in lipids of *M. globosus* II and *C. humicola* IE detected at neutral pH. The inoculate volume of 2,0-4,0%, NH_4NO_3 as a nitrogen source, and a carbon-nitrogen ratio 34:1 were indicated as optimal conditions.

For biosynthesis of AA and EPA by *P. irregulare* LX the optimum nitrogen source was NH_4Cl , pH of medium – 7,0-8,0 and C/N - 50:1.

During the incubation in constant temperature conditions, the optimal lipid, EPA and AA production occurred at 25°C; when the temperature shifting technique was implemented, greater yields occurred for cultures incubated for 5 days at 25°C followed by 2 days at 13°C.

It has been found that cultivation of *P. irregulare* fungi on the nutrient media with different concentrations of crude oil caused an increase in the lipid content and fatty acid unsaturation degree. Represented data shows that the process of adaptation of fungi to a stressful situation created with crude oil motivated the increase of the rate of membrane phospholipids with high quantity of unsaturated fatty acids.

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ**

На правах рукописи

КАСЕМИ МЕХТИ БАЙРАМ ОГЛЫ

**БИОСИНТЕЗ ВЫСОКООНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ
КИСЛОТ УГЛЕВОДОРОД ДЕГРАДИРУЮЩИМИ
МИКРООРГАНИЗМАМИ**

2414.01 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации, представленной на
соискание ученой степени доктора философии
по биологии**

БАКУ – 2014