



AZƏRBAYCAN ELM FONDU

**Azərbaycan Elm Fondunun
“Gənc Alim və Tədqiqatçıların 7-ci
qrant müsabiqəsi”nin (AEF-GAT-7-2023-2(44))
qalibi olmuş layihənin yerinə yetirilməsi üzrə aralıq
(rüblük olaraq 2-ci mərhələ)**

ELMİ-TEXNİKİ HESABAT

Layihənin adı: **Çirkli suların təmizlənməsində neftlə çirklənmiş torpaqlardan ayrılan yüksək lipolitik aktivliyə malik göbələklərdən istifadənin elmi-metodik əsaslarının hazırlanması**

Layihə rəhbərinin soyadı, adı və atasının adı: **Əhmədli Aqil Adəm oğlu**

Layihənin nömrəsi: **AEF-GAT-7-2023-2(44)-10/04/3-M-04**

Müqavilənin imzalanma tarixi: **17 noyabr 2023-cü il**

Qrant layihəsinin yerinə yetirilmə müddəti: **12 ay**

Layihənin icra müddəti (başlama və bitmə tarixi): **01 dekabr 2023-cü il - 01 dekabr 2024-cü il**

Layihənin II mərhələ üzrə (rüb) məbləği:

Hesabatda aşağıdakı məsələlər işıqlandırılmalıdır:

1 Layihənin həyata keçirilməsi üzrə cari rübdə yerinə yetirilmiş **elmi işlər**

Cari rübdə layihə üzrə görülməli planlaşdırılan bütün işlər götürülmüş öhdəliklərə uyğun olaraq həyata keçirilmişdir. Layihə komandası sözügedən mərhələdə birinci rübdə identifikasiya edilməmiş mikromisetlərin hamısının növ səviyyəsinə qədər təyinatını aparmışdır. Bildiyiniz kimi layihə çərçivəsində I rübdə daha öncə Azərbaycan Respublikasının neftlə çirklənmiş torpaqlarından 129 mikromiset ştamını təmiz kulturaya çıxarmışdır. Bu ştamların ən son identifikasiyası nəticəsində 16 cinsə 38 növə mənsub olması tərəfimizdən müəyyən olunmuşdur.

Eyni zamanda cari rübün planına uyğun olaraq 129 ştamın ilkin skriniqi aparılmış və bu ştamlar arasından 7 mirkomiset ştamı aktiv olaraq qiymətləndirilərək növbəti mərhələ üçün seçilmişdir. İlkin seçim Tween 20 və Tween 80 istifadə edilməklə konkret ştamın bərk fazalı fermentasiya mühitinə əmələ gətirdiyi lizis zonasının ölçülərinə əsasən aparılmışdır. Bu zaman lizis zonasının radiusu hesablanmış və radiusun ölçüləri böyük olan mikromisetlər növbəti mərhələ üçün seçilmişdir. Bu zaman 7 ştamın uyğun göstəriciləri “yaxşı” olaraq qəbul edilmiş və əsas seçimi titrimetrik üsulla tədqiq olunmuşdur. Titrilmə və ye titrimetrik üsulla aparılmış seçimə əsasən üç mikromiset ştamı aktiv ştam olaraq tədqiqatların növbəti mərhələsi üçün ayırılmışdır.

Məlum olmuşdur ki, bütün ştamplar bu və ya digər dərəcədə lipolitik aktivliyə malikdir, lakin yüksək lipolitik aktivliyə malik əsas cinslər *Aspergillus*, *Rhizopus* və *Penicillium* cinsləri olmuşdur ki, bu da həm onların aktiv ştamplarının sayında, həm də aktivlik göstəricilərində özünü göstərir.

Aktiv produsent kimi seçilən ştamplarda lipolitik fermentlərin maksimal sintezi üçün mühitin optimalaşdırılması zamanı aydın oldu ki, onlar bir-birlərindən bəzi komponentlərin kəmiyyəti göstəricisinə görə fərqlənsələrdə, ümumən oxşar mühitlərdə öz biosintetik qabiliyyətlərini maksimal şəkildə ortaya qoya bilirlər. Göründüyü kimi, optimallaşdırma nəticəsində hər üç ştamda aktivlik səviyyəsi skrininq zamanı istifadə edilən mühitlə müqayisədə 1,12-1,23 dəfə yüksəlir. Mühitin optimallaşdırılmasından sonra alınan aktivlik göstəricisinin lipolitik fermentlərin məlum produsentləri ilə müqayisə etdikdə aydın olur ki, aktivlik səviyyəsinə görə tədqiqatlarda aktiv produsent kimi seçilən ştamplar, ilk növbədə *Aspergillus* sp.-17 onlardan heç də geri qalmır və gələcəkdə praktiki məqsədlərdə istifadə üçün yeni perspektivlər açır.

Mikromisetlərin Hanson metoduna əsasən nefti biodeqradasiya etmə qabiliyyətinin təyini zamanı üç əsas göstərici nəzərə alınır: birincisi rəngin mavidən rənsiz formaya keçməsi, ikincisi kolbadakı neftin miqdarında azalma, üçüncüsü isə mitselinin böyüməsi. Belə ki, istifadə olunmuş bütün ştamplarda bu göstəricilərindən bir və ya bir neçəsi bu və ya digər şəkildə müşahidə olunsa da, *Aspergillus* sp.-17, *Rhizopus* sp.-81, *Penicillium* sp.-94 ştamplarında hər üç göstərici kifayət qədər yüksək olmuşdur. Belə ki, istər indikatorun rənsizləşməsi, neftin miqdarının azalması, istərsə də mitselinin böyüməsinə görə bu üç ştam digərlərindən daha yaxşı göstəricilər nümayiş etdirmişdir.

Yəni hər üç ştam nefti biodeqradasiya qabiliyyətinə görə neftlə çirklənmiş torpaqlarda bioremediasiya işləri üçün istifadə oluna bilər. Sözsüz ki, bu ştampların neftə tolerantlığını da bioremediasiya zamanı nəzərə almaq lazımdır. Bildiyiniz kimi, mikromisetlər neftlə 5-7% çirklənmiş torpaqlarda bioremediasiya qabiliyyətini saxlayırlar.

Ştampların 14 günlük inkişafdan sonra biokütləsinin ölçülməsiylə məlum olmuşdur ki, ən yüksək biokütləni *Aspergillus* sp.-17 (0,285 g/l) ştamı əmələ gətirmişdir, daha sonra *Rhizopus* sp.-81 ştamı (0,250 g/l), *Penicillium* sp.-94 ştamı isə (0,215 g/l) biokütlə əmələ gətirmişdir. Qeyd etmək lazımdır ki, təcrübə qoyulan zaman yeganə karbon mənbəsi kimi xam neft istifadə olunmuş, göbələklərin biokütləsinin xam nefti biodeqradasiya etmə qabiliyyəti ilə düz mütənasibdir. Belə ki, mikromisetlərin əmələ gətirdikləri biokütlə xam neftin parçalanmasından alınmışdır.

Nəticələrdən də göründüyü kimi ən böyük böyümə neftin 1%-lik qatılığında müşahidə olunmuş, belə ki hər üç ştam 50-75% arası böyümə göstərmişdir. Neftin qatılığı artdıqca ştampların böyümə faizi aşağı düşmüş və nəhayət neftin 20%-lik qatılığında mikromisetlərin kontrol olaraq götürülmüş nümunələrə olan böyümə faizi 10%-dən aşağı olmuşdur. Bu da ədəbiyyat məlumatlarından məlumdur ki, mikromisetlər 5-7%-ə qədər neftlə çirklənmiş torpaqlarda fəallıq göstərə bilər, qatılığın göstərilən həddən yuxarı olması mikromisetlərin inkişafına ciddi sürətdə mane olur və bu torpaqlarda bioremediasiya işlərinin aparılmasını mümkün edər.

Beləliklə aparılmış tədqiqatların yekunu olaraq deyə bilərik ki, *Aspergillus* sp.-17, *Rhizopus* sp.-81, *Penicillium* sp.-94 ştamları xam nefti biodeqradasiya qabiliyyətinə malik, neftin 1% qatılığında ən yüksək aktivliklərini göstərən, 5% qatılığında öz aktivliklərini saxlaya bilən Azərbaycan

| | |
|---|---|
| | <p>Respublikasının neftlə çirklənmiş torpaqlarında yayılan mikromisetlərdir. Öncəki tədqiqatlarda bu ştamların lipolitik aktivlikləri öyrənilmiş və məlum olmuşdur ki, hər üç ştam yüksək lipolitik aktivliyə malikdir. Nəticələri ümümləşdirsək, hər üç ştam neftlə çirklənmiş torpaqların bioremediasiyada bir başa torpağa yeritməklə və onlardan pereparat almaqla istifadə oluna bilər. Bizim tərəfdən gələn nəticə hər ikisinin birgə istifadəsinin daha effektiv olması istiqamətindədir.</p> |
| 2 | <p>Layihənin həyata keçirilməsi üzrə planda nəzərdə tutulmuş işlərin yerinə yetirilmə dərəcəsi (cari rüb üçün, faizlə qiymətləndirməli)</p> |
| | <p>II rübdə aşağıdakı işlər;</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Mikromisetlərin ilkin skriningi (99%) 2. Əsas seçimi – titrimetrik üsula əsasən (99%) 3. Mikromisetlərin nefti biodegradasiya etmə qabiliyyəti (99%) 4. Aktiv ştamların neftin müxtəlif qatılığına tolerantlıq qabiliyyəti (99%) <p>görülmüş və nəzərdə tutulan işlər plana uyğun yerinə yetirilmişdir (99%).</p> |
| 3 | <p>Hesabat dövründə alınmış elmi nəticələr, onların yenilik dərəcəsi</p> |
| | <p>Cari rübdə mikromisetlərin ilkin və əsas skriningi zamanı <i>Aspergillus sp.-17</i>, <i>Rhizopus sp.-81</i>, <i>Penicillium sp.-94</i> göbələk ştamlarının yüksək lipolitik aktivliyə malik olması, həmçinin bu ştamların nefti biodegradasiya etmə və neftin müxtəlif qatılığına tolerantlıq qabiliyyətləri tədqiq olunmuşdur.</p> <p>Gəldiyimiz nəticə <i>Aspergillus sp.-17</i>, <i>Rhizopus sp.-81</i>, <i>Penicillium sp.-94</i> göbələk ştamlarının nefti destruksiya etmə qabiliyyətinin tədqiqi, neftin müxtəlif qatılığında onların yaşaması və biokütlə miqdarının analizinin nəticələri hər üç ştamın neftlə zəif və orta dərəcəli (5-7%-ə qədər) çirklənmiş torpaqların və su hövzələrinin bioremediasiyasında istifadə oluna biləcəkləri haqqında müsbət fikir söyləməyə imkan verir. Həmçinin bu ştamların yüksək lipolitik aktivlik göstərməsi də tərəfimizdən müəyyən olunmuşdur. Buna görə də, sözügedən hər üç mikromiset ştamı yüksək lipolitik aktivliyə malik, nefti biodegradasiya edə bilən və neftin 5-7%-ə qədər qatılığında effektivlik göstərən göbələk ştamları kimi neftlə çirklənmiş torpaqların və su hövzələrinin bioremediasiyasında birbaşa istifadə oluna bilər. Digər tərəfdən bu ştamların yüksək lipolitik aktivliyə malik olmaları, onlardan alınan ferment pereparatlarının da bioremediasiyada istifadə oluna biləcəkləri istiqamətindədir. Bizim gəldiyimiz nəticə birbaşa göbələk ştamlarının və onlardan alınan ferment pereparatlarının birgə istifadəsinin daha yaxşı nəticələr verəbiləcəyi istiqamətindədir.</p> |
| 4 | <p>Layihənin yerinə yetirilməsi zamanı istifadə olunan üsul və yanaşmalar</p> |
| | <p>İlkin skriningi lizis zonasının ölçülərinə əsasən aparılmış, əsas skriningin aparılması üçün alınan təmiz kulturların lipolitik aktivliyə görə skriningi zamanı isə becərilmə duru Çapek mühitində 28°C temperaturda dərin becərilmə şəraitində (200 dövr/dəq) 5 gün müddətinə həyata keçirilmişdir onun da tərkibi (q/l): saxaroza – 20, NaNO₃ – 3; K₂HPO₄ – 1; MgSO₄ – 0,5; KCl – 0,5; FeSO₄ – 0,01-dan ibarət olmuşdur.</p> |

Lipolitik fermentlərin mənbəyi kimi bu və ya digər göbələyin Çapek mühitində 5 gün müddətinə əmələ gətirdiyi kultural məhlulundan (əmələ gətirdiyi biokütlə ayrıldıqdan sonra yerdə qalan mayedən) istifadə edilmişdir. Fermentin aktivliyi zamanı substrat kimi 2%-li polivinil spirtində hazırlanmış bitki yağının (zeytun yağı) 40%-li emulsiyasından istifadə edilmişdir. Reaksiya qarışığı isə 5 ml emulsiya, 4 ml fosfat buferi (pH=7) və 1 ml kultural məhluldan ibarətdir ki, inkubasiya 37°C-də 1 saat müddətinə aparılır. Müddət başa çatandan sonra oraya 30 ml etanol əlavə edilir və məhlul 1%-li fenoltaleinin iştirakı ilə NaOH (0,05N)-lə titrlənir. Kontrol kimi KM və ya EM əvəzinə 1 ml distillə suyu əlavə edilmiş məhluldan istifadə olunur.

Lipazanın aktivliyi (LS) aşağıda verilən formula əsasən hesablanır:

$$LS = AT \times (50/B)$$

burada da A – təcrübə və nəzarət məhlulların titr fərqləri, T – qələvinin titri, B – fermentin miqdarı (q/ml³).

Aktivlik vahidi kimi fermentin zeytun yağının 40%-li emulsiyasından 1 saat müddətinə pH 7,0 və 37°C-də 1 mkmol olein turşusunu hidroliz edən miqdarı qəbul edilir. Fermentin aktivliyi mkmol.dəq⁻¹ml⁻¹(bv.ml⁻¹) ilə ifadə olunmuşdur.

Mikromisetlərin nefti biodegradasiya etməsinə əsasən ilkin seçimi Hansonun metoduna əsasən aparılmışdır. Bunun üçün Bushnell-Haas (BH) broth qidalı mühiti: MgSO₄ (0.2 q/l), CaCl₂ (0.02 q/l), KH₂PO₄ (1 q/l), K₂HPO₄ (1 q/l), NH₄NO₃ (1 q/l) və FeCl₂ (0.05 q/l), distillə suyu (1000 ml), yekun pH 7.0 screening üçün istifadə edilmişdir. Bu zaman 250 ml-lik kolbada 50 ml Bushnell-Haas qidalı mühiti, 1% xam neft və 0,016 mq/ml redox idikatoru əlavə edilməklə məhlul hazırlanılır. Daha sonra ora 5 günlük kulturadan göbələk sporları inokulyasiya edilir (kontrol üçün bir kolbaya göbələk əkilmir) və bütün kolbalar 2 həftə 30° C temperaturatürdə dərin əkmə şəraitində 110 rpm dönmə sürətli termostatda inkubasiyaya qoyulur. İndikatorun mavi rəngdən məhlulda rəngsiz formaya keçməsi göbələklərin biodegradasiya etmə qabiliyyətini göstərir.

Göbələklərin neftə tolerantlığının müəyyən olunması Bushnell-Hans qidalı mühitinə aqar əlavə etməklə aparılmışdır. Bu zaman qidalı mühitin tərkibinə 1 %, 5% və 10% miqdarında xam neft əlavə edilmiş, daha sonra steril olunması üçün avtoklava qoyulmuşdur. Qidalı mühiti 8 mm-lik petri qablarına süzdükdən sonra oraya göbələklər inokulyasiya edilmişdir. Hər təcrübə dörd təkrarda qoyulmuşdur, kontrol üçün bir petri qabına neft əlavə edilməmişdir və göbələyin oradakı inkişafı kontrol olaraq qəbul edilmişdir. İnokulyasyıdan sonra nümunələr 28° C temperaturda bir həftəlik inkişaf üçün termostata qoyulmuşdur. İnkışafdan sonra kontrol olaraq qoyulmuş göbələklərin böyümə faizi 100% olaraq qəbul edilmişdir və buna əsasən digərlərinin böyümə faizi müəyyən olunmuşdur.

5

Layihə üzrə elmi nəşrlər (məqalələr, monoqrafiyalar, icmallar, konfrans materialları, tezislər) (dərç olunmuş, çapa qəbul olunmuş və çapa göndərilmişləri ayrılıqda qeyd etməklə) (*sürətlərini əlavə etməli!*)

1. Ahmadli, A. (2024). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by fungi strains of *Aspergillus* sp.-17, *Rhizopus* sp.-81, *Penicillium* sp.-94 isolated from oil-contaminated soils of Azerbaijan. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 100, p. 02007). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202410002007> (Scopus bazasına düşmüşdür)

2. Ahmadli A.A., Mammadova A.E., Muradov P.Z. (2024). Analysis of micromycetes found in oil-contaminated soils of Azerbaijan: species composition and biological activity. I Международная Научно-Практическая Конференция Инновационные Биотехнологии для охраны окружающей среды: от теории к практике, Минск 23-25 апреля 2024 г. p 114-115.

konfrans haqqında link- <https://mbio.bas-net.by/2024/>

| | |
|----|--|
| 6 | İxtira və patentlər, səmərələşdirici təkliflər (burada doldurmalı) |
| 7 | Layihə üzrə ezamiyyətlər Bağirova Tamara İlqar qızı Azərbaycan Dövlət Aqrar Universiteti Aqrarlıq fakültəsinin Biologiya kafedrasının Mikrobiologiya, Molekulyar biologiya və biotexnologiya laboratoriyalarında ezamiyədə olmuş və bu zaman lipolitik aktivliyin təyində istifadə olunan cihaz və avadanlıqlarla işləmək üçün lazım olan zəruri bilik və bacarıqlara yiyələnmiş, daha sonra qoyulmuş təcrübələrdə göbələklərin lipaza aktivliyinin ilkin və əsas seçiminin aparılması üzrə tədqiqatlar aparmışdır. O, həmçinin, layihənin öncəki mərhələsində identifikasiya edilməmiş bir neçə növ və cinsin təyinatını aparmış və beləliklə Bakı və Abşeron yarımadasının neftlə çirklənmiş torpaqlarında tərəfimizdən aparılmış tədqiqatların nəticələrinə əsasən 16 cinsə aid 38 növ mikromiset identifikasiya edilmişdir. Bu istiqamətdə Dünya praktikasına nəzər salaraq, ölkəmizdə istifadə oluna biləcək ən optimal metodologiyayı müəyyən etdik. Ezamiyyə zamanı əldə edilmiş elmi və praktiki nəticələrə əsasən demək mümkündür ki, hal-hazırda Respublikamızda bu tipdə görülmüş işlər yox deyiləcək dərəcədə azdır və ciddi elmi-praktiki əhəmiyyətə malikdir. Həmçinin ezamiyyə zamanı tullantı sularında mikrob biokütləsinin və biodegradasiya potensialının təyini üzrə tədqiqatlar zamanı bir sıra nəticələr əldə edilmişdir. |
| 8 | Layihə üzrə elmi ekspedisiyalarda iştirak (burada doldurmalı) |
| 9 | Layihə üzrə digər tədbirlərdə iştirak (burada doldurmalı) |
| 10 | Layihə mövzusu üzrə elmi məruzələr (seminarlar, konfranslar, dəyirmi masalar və s. çıxışlar) Cari rübdə Belarusiyanın Minsk şəhərində və Qazaxıstanda təşkil olunan elmi konfranslarda çıxış edilmişdir. Qazaxıstandakı konfransın materialları "Scopus" bazasına yerləşdirilmişdir. |
| 11 | Layihə üzrə əldə olunmuş cihaz, avadanlıq və qurğular, mal və materiallar (burada doldurmalı) |
| 12 | Yerli həmkarlarla əlaqələr (burada doldurmalı) |
| 13 | Xarici həmkarlarla əlaqələr (burada doldurmalı) |

| | |
|----|---|
| 14 | Layihə mövzusu üzrə kadr hazırlığı (burada doldurmalı) |
| 15 | Sərgilərdə iştirak (burada doldurmalı) |
| 16 | Təcrübəartırmada iştirak və təcrübə mübadiləsi (burada doldurmalı) |
| 17 | Layihə mövzusu ilə bağlı elmi-kütləvi nəşrlər, kütləvi informasiya vasitələrində çıxışlar, yeni yaradılmış internet səhifələri və s. (burada doldurmalı) |

Layihə rəhbərinin imzası _____ Əhmədli Aqil Adəm oğlu

Tarix _____

QEYD: bütün hallarda uyğun olan bəndlər doldurulmalıdır.