

**BİOLOGİYA**

UOT 579.083.1

**AKTİNOMİSETLƏRİN KULTURALAR KOLLEKSİYASINDA  
SAXLANMA METODLARININ MÜQAYİSƏLİ ÖYRƏNİLMƏSİ****X.Q.QƏNBƏROV, S.M.ƏBDÜLHƏMİDOVA, N.Q.ZAKİROVA,  
S.A.HƏSƏNOVA, S.M.QULİYEVƏ***Bakı Dövlət Universiteti**khuda.49@mail.ru*

*Bakı Dövlət Universitetinin mikrobiologiya kafedrasının kolleksiyasından götürülmüş 15 aktinomiset ştamının həyat qabiliyyəti dövrü əkilmə metodu ilə aqarlı qidalı mühitdə, "ac" mühitdə və spor halında saxlandıqdan sonra öyrənilmişdir. Birinci metod ilə saxlanmanın 6 və 10-cu ayı ərzində aktinomisetlərdə tez böyümə (3-5 gün ərzində) müşahidə edilmişdir, baxmayaraq ki, onların bəzilərinin hüceyrə ölçüsündə kiçilmə baş vermişdir. Kulturaların sağ qalma dərəcəsi 6 ay saxladıqdan sonra 86-98%, 10 ay saxladıqdan sonra isə 83-95% intervalında olmuşdur. İkinci metodla 6 və 10 ay ərzində saxlanma zamanı kulturaların həyat qabiliyyətində azalma müşahidə olunmuşdur, lakin Az6 ştamının hüceyrələrinin sağ qalma qabiliyyəti həm 6, həm də 10 ay ərzində stabil qalmışdır. Kulturaların sağ qalma dərəcəsi 6 və 10 ay ərzində saxladıqdan sonra 78-89%, 10 ay saxladıqdan sonra isə 70-86% intervalında olmuşdur. Quru spor halında 6 ay saxlamadan sonra hüceyrələrin sağ qalma dərəcəsi 57-78%, 10 ay saxlamadan sonra isə 50-79% intervalında dəyişmişdir. Hər üç metod ilə sağ qalma dərəcəsini müqayisə etdikdə məlum olur ki, aktinomiset kulturaları Gauze qidalı mühitində daha yaxşı saxlanılır, çünki aktinomisetlərin inkişafı üçün mühitdə olan lazımi maddələr kulturaların stabil saxlanmasını təmin edir.*

**Açar sözlər:** aktinomisetlər, həyat qabiliyyəti, mikroorqanizmlərin saxlanması, kulturalar kolleksiyası

Hal-hazırda aktinomisetlərdən antibiotiklərin və bioloji aktiv maddələrin alınması üçün istifadə olunur. Bu məqsədlə onların saxlanması xüsusi tipli kulturalar kolleksiyasında həyata keçirilir. Aktinomisetlərin həyat qabiliyyətinin və əsas xüsusiyyətlərinin uzun müddət ərzində saxlanması kolleksiya işlərinin başlıca məsələlərindən biridir. Bütün saxlama metodları üçün ümumi olan cəhət metabolik proseslərin tormozlanmasından ibarətdir. Mikroorqanizmlərin bütün qrupları üçün uyğun olan ümumi saxlanma metodları hələ ki məlum deyil. Ona görə də müxtəlif mikroorqanizm kolleksiyasını fərqli üsullarla saxlayırlar. Bundan başqa mikroorqanizmin itməməsi üçün hər bir ştam bir

yox, bir neçə fərqli metodlarla saxlanılır (1).

Aktinomisetlərin saxlanması daha geniş istifadə olunan üsulları aqarlı qidalı mühitə dövrü əkilmə – subkultivasiya, qurutma (10-12 % nəmliyə qədər), mineral yağda saxlama, liofilizasiya, qumda, torpaqda saxlama, vakuum altında qurudulma (L-qurudulma), həmçinin dondurulmuş halda, fizioloji və 10%-li saxaroza məhlulunda, spor halında, maye azotda, çox aşağı və mənfi temperaturlarda saxlanmadır (6, 8).

Aktinomisetlərin saxlanması üçün müxtəlif metodlar mövcuddur. Onlardan əksəriyyəti konservasiyaya - anabioz halında saxlamağa əsaslanır. Anabioz orqanizmin elə halıdır ki, bu zaman həyati proseslər o dərəcədə zəifləyir ki, onları aşkar etmək praktik cəhətdən mümkün olmur. Bundan başqa praktikada aktinomisetlərin həyati proseslərini dayandırmadan başqa üsullarla da saxlamaq olar. Ümumiyyətlə, mikroorqanizmlərin saxlanması üsulları aşağıda göstərilən faktorlara əsaslanır: 1) ştamın həyat qabiliyyəti, 2) onun genetik stabilliyi və 3) sonrakı istifadənin rahatlığı (7).

Laboratoriya praktikasında dövrü əkilmə metodu ilə aqarlı qidalı mühitdə saxlamaq geniş istifadə olunur, baxmayaraq ki, bu metod iqtisadi cəhətdən o qədər də səmərəli deyil. Bu, bir tərəfdən, metodun sadəliyi ilə, digər tərəfdən, kulturaların konservasiyası üçün xüsusi cihazların istifadə olunmaması ilə izah olunur. Bu və ya digər ştamın xüsusiyyətlərindən asılı olaraq kulturaların dəyişkənliyini aşağı salmaq üçün tez-tez müxtəlif sintetik və ya təbii qidalı mühitlər götürməklə yanaşı, həmçinin bu mühitin ayrı-ayrı inqrediyentlərini seçmək lazım gəlir. Bundan əvvəlki tədqiqat işimizdə aktinomisetləri dövrü əkilmə metodu ilə aqarlı qidalı mühitdə, “ac” aqar mühitində və quru spor halında saxlama üsullarından istifadə etmişik (2, 3).

Təqdim olunan tədqiqat işinin məqsədi 6 və 10 ay ərzində aktinomisetlərin saxlanma metodlarının müqayisəli öyrənilməsi olmuşdur.

### **Material və metodlar**

Tədqiqatın obyektini Bakı Dövlət Universitetinin Mikrobiologiya kafedrasının kulturalar kolleksiyasından götürülmüş aktinomisetlərin 15 ştamı olmuşdur. Bu ştamlar Azərbaycanın müxtəlif rayonlarının meyvə ağaclarından və torpaqlarından ayrılmışdır: Əz (əzgil) 1 və 6; S (Salyan rayonu) 5, 9, 10, 14; U (Ucar rayonu) 4; Ən (əncir) 7 və 12; C (Cəlilabad rayonu) 21 və 24; L (Lənkəran rayonu) 5 və 8; M (Masallı rayonu) 1 və 3.

Aktinomisetlər 6 və 10 ay ərzində 3 metodla 4-6°C temperaturda saxlanılmışdır:

- a) Dövrü əkilmə metodu ilə aqarlı qidalı mühitdə saxlama.
- b) “Ac” aqar mühitində saxlama.
- c) Quru spor halında saxlama.

**Dövrü əkilmə metodu ilə aqarlı qidalı mühitdə saxlama** zamanı ştamlar həm 6, həm də 10 ay müddətinə sınaq şüşələrinə əkilərək 4-6°C temperaturda həyat qabiliyyətini öyrənmək məqsədilə saxlanılmışdır. Aktinomisetlər əkilmiş

materialdan təzə aqarlı qidalı mühitə 26-28°C temperaturda 1 həftə ərzində becərmə məqsədilə köçürmə aparılmışdır. Bu məqsədlə aşağıda göstərilən tərkibə malik Qauze qidalı mühiti istifadə edilmiş və 30 dəq. ərzində 1 atm. təzyiqdə 117°C temperaturda sterilizasiya edilmişdir, qr/l: nişasta – 20,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub> – 0,5; KNO<sub>3</sub> – 1,0; NaCl – 0,5; FeSO<sub>4</sub> – 0,01; Aqar-aqar – 30,0; pH – 7,2-7,4 (5).

**“Ac” aqar mühitində saxlama** zamanı ayrılmış materialdan “ac” aqar mühitinə 1 həftə ərzində 26-28°C temperaturda əkmə aparılmışdır. “Ac” aqar mühitinin tərkibinə daxildir: 1 l su, 15 q aqar-aqar, ph-7,0. Qidalı mühit 117°C temperaturda 30 dəq. ərzində sterilizasiya edilmişdir [5]. Becərilmiş ştamlar 4-6°C temperaturda 6 və 10 ay müddətində soyuducuda saxlanmışdır.

**Quru spor halında** saxlama zamanı əvvəlcə aktinomisetlər Qauze qidalı mühitində 1 həftə ərzində becərilmişdir. Aktinomiset kulturalarının formalaşmış 7 sutkalıq sporları qazondan ayıraraq quru steril sınaq şüşələrinə yerləşdirilmişdir. Sınaq şüşələri pambıq tıxacla örtülmüş və 1-2 sutka ərzində 25°C temperaturda qurudulmuşdur. Daha sonra sınaq şüşələri 4-6°C temperaturda 6 və 10 ay müddətində saxlanılmışdır.

Mikroorqanizmlərin sağ qalma dərəcəsi həyat qabiliyyətini saxlamış hüceyrələrin sayı ilə ilkin (saxlanmadan əvvəlki) hüceyrələrin sayının münasibətinə əsasən təyin edilmişdir. Belə ki, həyat qabiliyyətini saxlamış hüceyrələrin sayını 100 %-ə vurub ilkin mikroorqanizmlərin sayına nisbəti hesablanmışdır. Kontrol kimi 3 ay ərzində kolleksiyada saxlanılan kulturalar istifadə edilmişdir.

Bütün təcrübələr 4 təkrarda aparılmış və statistik işlənmişdir (4).

### **Nəticələr və onların müzakirəsi**

Aktinomiset kulturalarının kolleksiyada saxlanma prosesində hansı dəyişikliklərə uğraması öyrənilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, həm 6, həm də 10 ay ərzində dövrü əkilmə metodu ilə aqarlı qidalı mühitdə saxlama prosesində aktinomisetlərin tez yetişməsi (3-5 sutka) baş verir. İnkubasiya prosesində 6 və 10 ay keçdikdən sonra kulturaların həyat qabiliyyəti eyni dərəcədə saxlanmışdır, baxmayaraq ki, bəzi ştamların hüceyrələrinin ölçüsü müəyyən qədər kiçilmişdir. Belə ki, əsasən 3 ştamın - Əz1, Əz6 və U4 hüceyrələrinin ölçüsündə kiçilmə müşahidə olunmuşdur.

İnkişaf etmiş aktinomiset koloniyalarının miqdarını kontrolla müqayisə edərək kulturaların sağ qalma dərəcəsini müəyyən etmək mümkün olmuşdur. Cədvəl 1-dən görüldüyü kimi dövrü əkilmə metodu ilə 6 ay saxlandıqdan sonra kulturaların həyat qabiliyyətində kontrolla müqayisədə cüzi miqdarda (1-1,2 dəfə) azalma müşahidə olunmuşdur. Ən çox azalma C24 ştamında – 1,14 dəfə, ən az azalma isə Əz1 ştamında – 1,02 dəfə müəyyən edilmişdir. Əz6, L8 və U4 ştamlarında kontrolla müqayisədə ən yüksək sağ qalma dərəcəsi - 98%, C24 ştamının sağ qalma dərəcəsi isə - 88% olmuşdur. Digər ştamların hüceyrələrinin sağ qalma dərəcəsi 91-97% intervalında dəyişmişdir.

“Ac” aqar mühitində saxlama zamanı aktinomiset hüceyrələrinin həyat qabiliyyəti 6 ay saxlamadan sonra kontrollu müqayisədə cüzi dərəcədə (1-1,3 dəfə) dəyişmişdir (cədvəl 1). Ən çox azalma (1,3 dəfə) C24 ştamında, ən az azalma (1,08 dəfə) isə Əz6 və S10 ştamlarında müşahidə olunmuşdur. Deməli, “ac” aqar mühitində 6 ay ərzində saxladıqdan sonra aktinomiset hüceyrələrinin sağ qalma dərəcəsi Əz6, S10 və U4 ştamlarında 90-92%, C24, L5, M1 və M3 ştamlarında isə 75-78% olmuşdur. Tədqiq olunan digər aktinomiset ştamlarının sağ qalma dərəcəsi isə kontrollu müqayisədə 82-89% intervalında dəyişmişdir (cədvəl 1).

Aktinomisetləri spor halında 6 ay saxladıqdan sonra hüceyrələrin həyat qabiliyyətində kontrol ştamlarla müqayisədə 1,2-1,5 dəfə azalma müşahidə olunmuşdur. Ən yüksək həyat qabiliyyəti (1,2 dəfə azalma) U4, L8, S5, S9 və S14 ştamlarında, ən aşağı həyat qabiliyyəti isə (1,7 dəfə azalma) M3 ştamında müəyyən edilmişdir. Deməli, sağ qalma dərəcəsi U4, L8, S14 ştamlarında - 83%, S5 və S9 ştamlarında - 82%, M3 ştamında isə ən aşağı - 57% olmuşdur. Digər aktinomiset kulturalarının sağ qalma dərəcəsi isə kontrollu müqayisədə 67-78% intervalında dəyişmişdir (cədvəl 1).

Cədvəl 1

**Aktinomisetlərin kulturalar kolleksiyasında 6 ay saxlamadan sonra həyat qabiliyyətinin dəyişməsi**

Ştamların №-si	Hüceyrələrin sayı, KƏV/ml 10 <sup>5</sup>			
	Kontrol	Dövrü əklmə metodu ilə saxlama	“Ac” aqar mühitində saxlama	Spor halında saxlama
1. Əz1	180±16	175±15	150±14	120±11
2. Əz6	246±22	240±22	226±21	185±16
3. Ən7	90±7	85±8	80±6	70±5
4. Ən12	65±6	60±5	57±4	45±4
5. S5	250±24	240±22	220±20	205±18
6. S9	190±18	180±16	160±14	155±14
7. S10	206±16	200±18	190±18	160±14
8. S14	157±15	150±12	140±13	130±12
9. C21	85±8	80±6	75±4	65±6
10. C24	80±6	70±5	60±5	57±5
11. L5	115±9	105±10	90±8	90±8
12. L8	290±26	285±26	250±22	250±22
13. U4	300±28	295±27	270±25	250±22
14. M1	140±13	130±12	110±11	105±10
15. M3	115±10	110±10	90±7	65±6

Dövrü əklmə metodu ilə 10 ay saxladıqdan sonra aktinomiset hüceyrələrinin həyat qabiliyyətində kontrollu müqayisədə 1,1-1,2 dəfə azalma müşahidə edilmişdir. Ən çox azalma (1,2 dəfə) C24, M3 və S14 ştamlarında, ən az azalma isə (1,05 dəfə) S10 ştamında müşahidə edilmişdir. Deməli, sağ qalma dərəcəsi S10 ştamının hüceyrələrində – 95%, C24 ştamının hüceyrələrində isə 81% olmuşdur. Digər aktinomiset ştamlarının sağ qalma dərəcəsi 83-93%

intervalında dəyişmişdir (cədvəl 2).

“Ac” aqar mühitində saxlama zamanı aktinomiset hüceyrələrinin həyat qabiliyyəti 10 aydan sonra kontrollə müqayisədə 1,1-1,4 dəfə azalmışdır. Belə ki, ən az azalma (1,1 dəfə) Əz6 ştamında, ən çox azalma isə (1,4 dəfə) M1 və L5 ştamlarında müşahidə edilmişdir (cədvəl 2). Deməli, aktinomiset kulturalarının sağ qalma dərəcəsi 10 aydan sonra 70-86% intervalında dəyişmişdir. Belə ki, kontrollə müqayisədə hüceyrələrin sağ qalma dərəcəsi C24 ştamında - 63%, L5 və M1 ştamlarında, müvafiq olaraq 70% və 71%, Əz6 ştamında - 89%, U4 ştamında isə 88% olmuşdur. Tədqiq olunan digər aktinomiset ştamlarının sağ qalma dərəcəsi isə 72-86% arasında dəyişmişdir.

Spor halında saxlama zamanı aktinomiset hüceyrələrinin həyat qabiliyyəti 10 ay saxlamadan sonra kontrollə müqayisədə 1,4-1,6 dəfə dəyişmişdir. Ən aşağı həyat qabiliyyəti (1,9 - 2 dəfə azalma) Ən12 və M3 ştamlarında, ən yüksək həyat qabiliyyəti isə (1,2 dəfə azalma) U4, L8 və S5 ştamlarında müşahidə edilmişdir. Deməli, aktinomiset hüceyrələrinin sağ qalma dərəcəsi kontrol ştamlarla müqayisədə 61-75% intervalında dəyişmişdir. Belə ki, hüceyrələrin sağ qalma dərəcəsi U4, L8 və S5 ştamlarında 80-82%, M3 ştamında 50%, Ən12 ştamında isə 54% olmuşdur. Digər aktinomiset ştamlarının sağ qalma dərəcəsi isə 61-79% arasında dəyişmişdir (cədvəl 2).

Cədvəl 2

**Aktinomisetlərin kulturalar kolleksiyasında 10 ay saxlamadan sonra həyat qabiliyyətinin dəyişməsi**

Ştamlar №	Hüceyrələrin sayı, KƏV/ml 10 <sup>5</sup>			
	Kontrol	Dövri əkilmə metodu ilə saxlama	“Ac” aqar mühitində saxlama	Spor halında saxlama
1. Əz1	180±16	155±14	150±12	115±10
2. Əz6	246±22	230± 21	220±21	180±17
3. Ən7	90±7	80±6	65±6	60±5
4. Ən12	65±6	55±5	50±4	35±3
5. S5	250±24	230±21	215±20	200±18
6. S9	190±18	170±16	155±14	150±12
7. S10	206±16	195	170±16	155±14
8. S14	157±15	130±12	135±12	95±9
9. C21	85±8	77±7	70±5	60±4
10. C24	80 ±6	65±6	50±4	45±4
11. L5	115 ±9	100±10	80±6	75±4
12. L8	290 ±26	270±26	245±23	235±21
13. U4	300 ±28	275±27	265±25	245±23
14. M1	140 ±13	120±11	100±10	95±9
15. M3	115 ±10	95±9	85±8	57±5

Aldığımız nəticələrə əsasən müəyyən olunmuşdur ki, aktinomiset kulturalarını müxtəlif metodlarla saxlama zamanı onların içərisində ən əlverişlisi

dövri əkilmə metodu ilə aqarlı qidalı mühitdə saxlamadır. Bu nəticələr ədəbiyyatda mövcud olan məlumatlara uyğundur (1).

Hər üç metodun müqayisəsi göstərdi ki, dövri əkilmə metodu ilə aqarlı qidalı mühitdə kulturaları saxlayarkən hüceyrələrin sağ qalma dərəcəsi digər iki metodla müqayisədə daha yüksək olur. Müəyyən edilmişdir ki, verilmiş kulturalardan “ac” aqar mühitində saxlanmaya daha davamlı Əz6 ştamı, spor halında saxlanmaya isə U4, L8 və S5 ştamlarıdır. M3 və Ən12 ştamlarından başqa qalan bütün ştamlar üçün quru spor halında saxlama metodu məqsəddəuyğundur.

#### ƏDƏBİYYAT

1. Аркадьева З.А. Коллекция микроорганизмов кафедры микробиологии МГУ. Материалы международной конференции. «Проблемы экологии и физиологии микроорганизмов», к 100-летию со дня рождения профессора Е.Е.Успенского: М., 2000, с.33-37.
2. Ганбаров Х.Г., Абдулгамидова С.М., Джафаров М.М., Агабекова Р.А. Хранение актиномицетов в виде сухих спор // АМЕА-nın Mikrobiologiya İnstitutunun elmi əsərləri, 2014, УДК: 576.8, с.12, №1, s.10-13.
3. Куплетская М.Б., Нетрусов А.И. Жизнеспособность лиофилизированных микроорганизмов после 50 лет хранения // Микробиология, 2011, т.80, №6, с.842-846.
4. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: МГУ, 1998, 150 с.
5. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Перевезева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2005, 256 с.
6. Филиппова С.Н. и др. Многолетнее хранение коллекционных культур актинобактерий. Микробиология, 2012, №5, т. 81, с.682-690.
7. Canovas M., Iborra J. Culture Collections and Biochemistry // International Microbiology, 2003, v.6, No 2, p.105-112.
8. Morgan C.A, Herman N.F, White P.A., Vesey G.I Preservation of Microorganisms by Dying; A review, Journal of Microbiological Methods, 2006, v.166, Is.2, p.183-193.

#### СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ХРАНЕНИЯ АКТИНОМИЦЕТОВ В КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР

**Х.Г.ГАНБАРОВ, С.М.АБДУЛГАМИДОВА,  
Н.Г.ЗАКИРОВА, С.А.ГАСАНОВА, С.М.ГУЛИЕВА**

#### РЕЗЮМЕ

Была изучена выживаемость 15 штаммов культур актиномицетов из коллекции кафедры микробиологии Бакинского Государственного Университета после хранения методом периодических пересевов на агаризованной питательной среде, на «голодной» среде и в виде сухих спор. В процессе хранения первым методом в течение 6 и 10 месяцев актиномицеты сохранили быстрый рост (в течение 3-5 суток), хотя у некоторых из них наблюдались уменьшение в размерах клеток. Процент выживаемости культур после 6 месяцев составил в пределах 86-98%, а после 10 месяцев хранения выживаемость варьировалась в пределах 83-95%. В процессе хранения вторым методом в течение 6 и 10 месяцев наблюдались незначительные уменьшения жизнеспособности, за исключением штамма Азб, который сохранил высокий процент выживаемости клеток при обоих методах хранения. Процент выживаемости культур актиномицетов после 6 месяцев хранения составил в пределах 78-89%, а после 10 месяцев хранения составил в

пределах 70-86%. При хранении актиномицетов в виде сухих спор процент выживаемости культур после 6 месяцев составил в пределах 57-78%, а после 10 месяцев хранения варировалось в пределах 50-79%. При сравнении степени выживаемости культур трех методов следует, что предпочтительно хранить данные культуры на питательной среде Гаузе, где имеются необходимые вещества для сохранения культур актиномицетов в стабильном состоянии.

**Ключевые слова:** актиномицеты, выживаемость, хранение микроорганизмов, коллекция культур.

## COMPARISON OF DIFFERENT METHODS OF STORAGE OF ACTINOMYCETES IN CULTURE COLLECTION

**Kh.G.GANBAROV, S.M.ABDULHAMIDOVA,  
N.G.ZAKIROVA, S.A.HASANOVA, S.M.GULIYEVA**

### SUMMARY

The survivability of 15 strains of actinomycetes cultures from the collection of the Department of Microbiology of Baku State University after storage by periodic subculture on agar nutrient medium, "starvation" medium and as dry spores was studied. During the storage for 6 and 10 months by the first method actinomycetes maintained rapid growth ( within 3-5 days) , although some of them observed a reduction in cell size. The percentage of culture survival after 6 months of preserving was about 88-98% and 83-95% after 10 months. During storage for 6 and 10 months by the second method we observed a significant decrease in survivability with the exception of Az6 strain, which had retained a high percentage of cell survival for both methods of storage. The percentage of survival of actinomycete cultures after 6 months of storage was within 78-89 %, and after 10 months storage was within 70-86 %. In storage of actinomyces as dry spores the survival percentage of culture after 6 months was between 57-78% and after 10 months of storing varied between 50-79%. The comparison of three methods shows that the quantity of viability of cells is higher than other two methods when keeping cultures in agar containing nutrient medium with periodic seeding method.

**Key words:** actinomycetes, survival, storage of microorganisms, culture collection.

*Redaksiyaya daxil oldu: 08.04.2015-ci il*  
*Çapa imzalandı: 25.06.2015-ci il*