

АБДУЛЬМЯНОВА ЛИЛИЯ ИЛЬЯСОВНА

ЎЗБЕКИСТОН ДОРИВОР ЎСИМЛИКЛАРИ
ЭНДОФИТ ЗАМБУРУҒЛАРНИНГ ХИЛМА-ХИЛЛИГИ ВА
БИОЛОГИК ФАОЛЛИГИ

03.00.04. – микробиология ва вирусология

БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Ташкент - 2021

Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)

Contents of dissertation abstract of doctor of science (DSc)

Абдульмянова Лилия Ильясовна

Ўзбекистон доривор ўсимликлари эндофит замбуруғларнинг
хилма-хиллиги ва биологик фаоллиги.....3

Абдульмянова Лилия Ильясовна

Разнообразие и биологическая активность эндофитных грибов
лекарственных растений Узбекистана.....29

Abdulmyanova Liliya

Diversity and biological activity of endophytic fungi
of medicinal plants of Uzbekistan.....55

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works.....59

АБДУЛЬМЯНОВА ЛИЛИЯ ИЛЬЯСОВНА

ЎЗБЕКИСТОН ДОРИВОР ЎСИМЛИКЛАРИ
ЭНДОФИТ ЗАМБУРУҒЛАРНИНГ ХИЛМА-ХИЛЛИГИ ВА
БИОЛОГИК ФАОЛЛИГИ

03.00.04. – микробиология ва вирусология

БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Ташкент – 2021

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси хузуридаги Олий аттестация комиссияда В2017.2.DSc/B48 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Микробиология институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме). Илмий кенгаш веб-саҳифаси (microbio@academy.uz) ҳамда «ZiyoNet» ахборот-таълим портали (www.ziynet.uz) манзилларига жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:	Гулямова Тошхон Гафуровна, биология фанлар доктори, профессор
Расмий оппонентлар:	Исмаилов Зафар Файзуллаевич, биология фанлар доктори, профессор Нуралиев Неккадам Абдуллаевич тиббиёт фанлар доктори, профессор Мячина Ольга Владимировна, биология фанлар доктори
Етакчи ташкилот:	Ўзбекистон Миллий Университети

Диссертация ҳимояси Микробиология институти DSc.02/30.12.2019.B.38.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «21» декабрь соат 10:00даги мажлисида бўлади (Манзил: 100128, Тошкент шаҳар, Шайхонтохур тумани, А.Қодирий кўчаси, 7Б уй, Микробиология институти конференция залида). Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс: (+99871) 241-92-71, e-mail: microbio@academy.uz.

Диссертация билан Микробиология институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин. () рақамли билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100128, Тошкент шаҳар, Шайхонтохур тумани, А.Қодирий кўчаси, 7Б уй, Микробиология институти маъмурий биноси, 5-қават, кутубхона). Тел.: (+99871)241-92-28.

Диссертация автореферати 2021 йил «__» _____ кунлари тарқатилди.

(2021 йил «__» _____ рақамли реестр баённомаси).


Арипов Тахир Фатихович
Илмий даража берувчи Илмий кенгаш раиси
б.ф.д., профессор, академик
Жураева Роҳила Назаровна
Илмий даража берувчи Илмий кенгаш
илмий котиби, катта илмий ходим, б.ф.н.
Ахмедова Захро Раҳматовна
Илмий даража берувчи Илмий кенгаш қошидаги
Илмий семинар раис ўринбосари, б.ф.д., профессор

КИРИШ (фан доктори (DSc) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда атроф-муҳитга минимал таъсир кўрсатувчи янги юқори самарали табиий биологик фаол моддаларни излашга алоҳида эътибор қаратилмоқда. ЖССТ тахминига кўра ҳар йили 70 миллион ўлимнинг 30% патогенларнинг дори воситаларига чидамлиги ошиши билан боғлиқ, спонтан ёки кўзғатилган мутацияга учраш натижасида келиб чиқади. Янги касалликлардан нафас олиш синдромлари: SARS, MERS, COVID-19 вирусларидан ҳалок бўлаётган инсонлар популяциясининг кўпайиши ҳамда иммун тизимининг заифлашуви билан боғлиқ касалликларнинг оқибатлари янги дори-дармонларни ишлаб чиқаришни талаб этмоқда. Диабет ва семизлик, сурункали юрак-қон томир ва асаб-дегенератив касалликларни даволашда ҳам янги самарали дорилар муҳим аҳамиятга эга.

Жаҳонда ўсимликлар асосидаги табиий маҳсулотлар потенциали дори-воситаларини кашф этиш учун муҳим манба бўлиб қолмоқда. Бироқ, ўсимликлардан турли фаол моддаларни экстракция қилиш бир қатор ноқулайликларни келтиради, бу мавсумий бўлиши ва иқлим шароитларига боғлиқлиги экологик муаммоларга олиб келиши мумкин. Шунингдек, юқори қийматли биоактив маҳсулотларнинг битмас-тугамас, арзон ва қайта тикланадиган ресурсларини ишлаб чиқиш учун микроорганизмлардан яъни эндофитлардан фойдаланган ҳолда биотехнологик ёндашувлар алтернатив ҳисобланади. Жумладан, эндофитлар - ҳайратланарли хилма-хил, лекин кам ўрганилган ўсимлик микробиомнинг қисмини ташкил этади, улар эндосферада яшайдиган ва касаллик белгиларини келтирмайдиган, ўзларининг хос ўсимлик-хўжайинлари билан сезилмас алоқада бўлиб, ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини яхшилашда илмий аҳамиятга эга. Эндофит микробиоми бирикмалар, ўсимликка аналогик ёки ўхшаш моддалар янги номаълум доривор воситалар манбаи сифатида потенциалга эга биофаол ишлаб чиқариш қобилиятига эга ҳисобланади. Шунга кўра, эндофитлар биохилма-хиллигининг бой захираси ва биофаол бирикмаларнинг муқобил манбаи бўлганлиги сабабли уларни ўрганиш фундаментал ҳамда амалий аҳамиятга эга.

Республикамызда ички бозорни импорт ўрнини босувчи, юқори сифатли ва самарали дори воситалари билан таъминлаш мақсадида маҳаллий микроорганизм штаммлар асосида ишлаб чиқарилаётган илмий ишланмаларга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Бу борада, фаол эндофит замбуруғларнинг иккиламчи метоболитларини аниқлаш ва уларнинг илмий ва амалий аҳамиятини баҳолаш бўйича муайян натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида¹ “...дори воситаларини ишлаб чиқаришда инновацион технологияларни янада жорий этиш бўйича илмий тадқиқотларни ташкил

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон “Ўзбекистон Республикаси янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида”ги Фармони

этиш ва ички бозорни тўйинтириш ва дори воситаларини ишлаб чиқаришни маҳаллийлаштириш” вазифалари белгилаб берилган. Мазкур вазифаларини амалга оширишда, жумладан, Ўзбекистон ҳудуди ўсимликларида яшовчи эндофитлардан терапевтик препаратлар ишлаб чиқаришда фойдаланиш учун уларни ажратиб олиш ва биоактив хусусиятларини аниқлашга йўналтирилган илмий-тадқиқотлар муҳим аҳамият касб этади. Таъкидлаш лозимки, маҳаллий ўсимликлар эндофитларининг хилма-хиллиги ва биопотенциали Республикамизда илгари ўрганилмаган.

Ўзбекистон Республикаси Президентнинг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон “Ўзбекистон Республикаси янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида”ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентнинг 2019 йил 10 апрелдаги ПФ-5707-сон “2019-2021 йилларда республиканинг фармацевтика тармоғини янада жадал ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида”ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 30 декабрдаги ПҚ-4554-сон “Ўзбекистон Республикаси фармацевтика тармоғида ислохотларни чуқурлаштиришга доир қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида”ги Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI “Тиббиёт ва фармакология” устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича халқаро илмий-тадқиқотлар шарҳи². Турли экотизимларнинг ўсимликлари эндофит микробиотасини биологик фаоллигини аниқлаш, аксеник ўстириш учун шароитларини оптималлаштириш, иккиламчи метаболитларни экстракциялаш ва тозалаш усуллари, индивидуал бирикмаларни ажратиш ва уларнинг тузилишини аниқлаш бўйича тадқиқотлар етакчи илмий марказлар ва олий таълим муассасалари, жумладан, АҚШ Университетлари; University of Guelph (Канада); Technical Universities Dresden (Германия); Swedish University of Agricultural Sciences (Швеция); Institute of Biotechnology Science, (Жанубий Корея); Chinese Academy of Medical Sciences (Хитой); AMITY (Ҳиндистон); Mansoura University (Миср); The Jacob Blaustein Institute (Исроил); Янги Жанубий Уэльс Университети (Австралия); Universiti Kebangsaan (Малайзия); М.В.Ломоносов номидаги МДУ, Г.К.Скрябин номидаги микроорганизмларнинг биокимёси ва физиологияси Институти; С.Н.Виноградов номидаги Микробиология институтларда (Россия) олиб борилмоқда.

²Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи <https://www.omicsonline.org/microbiology-journals.php>; <http://journal.sapub.org>; <https://www.mdpi.com>; <https://www.sciencepublishinggroup.com>; <https://publons.com>; <https://www.jmbfs.org>; <https://ores.su/ru/journals>; <https://www.journals.elsevier.com> ва бошқа манбалар асосида ишлаб чиқилган.

Шунингдек, кам учрайдиган доривор ва эндемик ўсимликларнинг эндофитларига алоҳида эътибор қаратилмоқда чунки эндофитлар коэволюция жараёнида хўжайин ўсимликлар билан боғлиқ бўлган биокимёвий хусусиятларини намоён этади. Эндофитларнинг янги ва камёб турлари учраб туриши турларнинг хилма-хиллигини сақлаб қолишида муҳим аҳамиятга эга.

Эндофит замбуруғларининг хилма хиллиги ҳамда иккиламчи метаболитларини биофаоллик хусусиятларини аниқлаш усуллари бўйича қатор, жумладан қуйидаги устивор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: эндофитларда микробларга қарши фаоллиги (Institute of Medicinal Plant Development, Хитой), саратонга қарши (University of Sydney, Австралия, Jagiellonian University, Польша) антикоагулянт (University of Chittagong, Бангладеш), антиоксидант (Mangalore University, Ҳиндистон), диабетга қарши (Centre for Research in Nanotechnology, Ҳиндистон; Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Эрон) ва ўсишни рағбатлантирувчи (Shanxi University, Хитой) хусусиятларга эга иккиламчи метаболитлар аниқланган. Уларнинг сифат таркиби турли структуравий гуруҳлардаги бирикмаларни ўз ичига олади: терпеноидлар, стероидлар, ксантонлар, хинонлар, феноллар, изокумаринлар, бензопиранонлар, тетралонлар, цитохалазинлар, турли синфларга кирувчи антибиотик моддалар, фунгицидлар, ферментлар, пигментлар. Эндофитларнинг тизимли ва органли тарқалиши, уларнинг хўжайин ўсимликлар билан ўзаро муносабатини аниқлашга кенг эътибор қаратилмоқда (University of Arizona, АҚШ, University of Cordoba, Испания, University of Western Australia, Kyungpook National University, Корея).

Дунё амалиётида ЭЗдан янги бирикмаларни ажратиб олиш ва идентификация қилиш борасида бир қатор, жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: метаболитларнинг тўпланишига таъсир қилувчи асосий омилларни аниқлаш учун метаболик йўллари аниқлаш; қимматли иккиламчи метаболитларини ишлаб чиқаришнинг барқарор даражасини олишда жим бўлган генларни блокдан чиқаришнинг генетик стратегиясини ўрганиш; OSMAC стратегияси бўйича мувофиқ аксеник культура биопроцессларини оптималлаштириш ҳамда шу жумладан эндофитга *in planta* мухити билан таъминлайдиган биргаликда ўстиришни такомиллаштириш; ЭЗнинг хўжайин-ўсимлик билан ассоциацияланган ва янги иккиламчи метаболитларини олиш учун эндофитлар ва хўжайин-ўсимликларнинг билан экологик ўзаро таъсирини аниқлаш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Мазкур йўналишда эндофитлар биологияси, хусусан эндофит замбуруғлар (ЭЗ) микробиология фанининг нисбатан янги йўналиши бўлиб, сўнгги икки ўн йилдан буён жадал ривожланиб келмоқда. Таъкидлаш жоизки, ушбу вақт мобайнида ўсимликларда ЭЗнинг хилма-хиллиги ва тарқалиш қонуниятларини аниқлаш бўйича кўплаб тадқиқотлар олиб борилмоқда, шунингдек, ЭЗ шубҳасиз

микологик ва кимёвий нуқтаи назардан ўрганилмаган ва янги хилма-хилликнинг кўплиги билан ифодаланиши билан изоҳланади.

Бундан ташқари, бир қатор муаллифлар томонидан ЭЗнинг антимикроб, антисаратон, антиоксидант, цитотоксик, гипогликемик, гипотензив фаолликка эга бўлган биологик иккиламчи метаболитларни ишлаб чиқариши аниқланган. Келгусида ЭЗ иккиламчи метаболитларнинг асосий манбаларидан бири бўлиши таъкидланган. Шунингдек, эндофитлар биологиясида ҳали ечилмаган муаммолар кўп. Улардан энг муҳими сунъий ўстириш шароитида иккиламчи метаболитлар ишлаб чиқаришини сақлаб қолиш масаласидир, эндофит уюшма ичида ва хўжайин ўсимликлар билан мултитроф ўзаро таъсирини ўрганиш ва фаол метаболитлар биосинтезининг метаболит йўллари аниқлаш зарурдир.

Шуни таъкидлаш лозимки, Республикамизда кескин континентал иқлим ўзгаришлари содир бўлиши эндофит популяциясининг тасаввур қилиб бўлмайдиган хилма-хиллигини белгилайди ва тахмин қиладиган энг бой флора мавжуд бўлсада, лекин ушбу йўналишда фундаментал тадқиқотлар олиб борилмаган. Шу сабабли, халқ хўжалигининг турли тармоқларида фойдаланилиши мумкин бўлган ЭЗни маҳаллий доривор ўсимликларидан ажратиб олиш, уларнинг хилма-хиллиги ва метаболитларининг биофаол хусусиятларини тадқиқ этиш нафақат фундаментал, балки кенг илмий ва амалий аҳамият касб этади.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Микробиология институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг ФА-Ф5-Т218 “Ўзбекистон доривор ўсимликларининг эндофит микробиотаси” (2012-2016 йй.), ВА-ФА-А6-005 “Ўзбекистон баъзи доривор ўсимликлардаги эндофит замбуруғларни сунъий ўстиришда биофаол иккиламчи метаболитлари ҳосил қилиши шароитларини ишлаб чиқиш” (2017-2018 йй.) мавзуларидаги фундаментал ва амалий лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади Биоактив бирикмаларнинг янги потенциал манбаи сифатида Ўзбекистоннинг турли ҳудудларида ўсадиган доривор ўсимликлар эндофит замбуруғларининг тарқалиши, хилма-хиллиги ва хусусиятларини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари қуйидагилардан иборат:

турли хил биотоплар ўсимликларидан эндофит замбуруғларни ажратиш, идентификациялаш, хилма-хиллиги ва тарқалишини баҳолаш;

ажратиб олинган эндофит изолятлари метаболитлари биофаоллигининг турли типларини аниқлаш;

эндофит замбуруғларнинг иккиламчи метаболитларини ажратиш ва фракциялаш шароитларини оптималлаштириш;

биофаол метаболитларнинг фитокимёвий таркибини аниқлаш;

аксеник ўстириш шароитида ўсишни ва биоактив метаболитларини ишлаб чиқаришни регуляциялаш имкониятини таҳлил қилиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида Республикамизнинг турли биотопларидаги Ўзбекистоннинг доривор ўсимликларида яшовчи ЭЗ олинган.

Тадқиқотнинг предметини танлаб олинган ўсимликларнинг ЭЗнинг хилма-хиллиги, тизимли тарқалиши, аксеник ўстириш шароитида биоактив метаболитлар ишлаб чиқариши, турли биофаолликка эга бўлган метаболитларни аниқлаш, фундаментал ва амалий аҳамиятга эга бўлган ЭЗнинг коллекцион базасини яратиш ташкил этган.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотларда микробиологик, биотехнологик, биокимёвий, молекуляр-генетик ва янги фармакологик моддаларни преคลินิก тадқиқ қилиш усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги куйидагилардан иборат:

илк бор республиканинг турли ҳудудларида учрайдиган 28та ўсимлик мисолида ЭЗнинг бой хилма-хиллиги (200дан ортиқ штаммлар) шу жумладан, 20та авлод 45та турга мансублиги аниқланиб, ўсимликларда умумий ЭЗ изолятларининг 33% баргларда, 26% пояларда ва 21% илдизларда учраши кузатилган ҳолда эндофитлар тизимли яшаш муҳитининг ўзига хослиги илдизларда фузариум ва акремонийлар, пояларда аспергиллар ва пенициллиум, баргларда алтернарийлар устунлик қилиши тақсимланиши билан асосланган;

доминант авлодларга *Aspergillus*-32%, *Alternaria*-17%, *Penicillium*-14%, *Acremonium*-10%, *Fusarium* ва стерил мицелийли изолятлар-8% ташкил этган, ҳамда илк бор Ўзбекистонда аввал аниқланмаган 24та ноёб ЭЗ турлари Республикамизнинг барча ўрганилган туманларида ўсадиган 8та оилага мансуб бўлган 13та ўсимликларда аниқланган;

ЭЗ 30% шартли-патоген тест-культураларига: *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis* ва *C.albicans*га нисбатан антибактериал фаолликка эгалиги ва *M.officinalis*, *A.filidens*, *C.cristata*, *H.tuberosus*, *P.Harmal*адан ажратилган 6та ЭЗ бир вақтнинг ўзида 3та тест-культураларга нисбатан антибактериал фаоллиги, ҳамда *T.microspora*-MO46Lнинг биофаол метаболитлари таркибида терпен ва сапонинлар аниқланган;

Vinca ва *Allium* авлодларига мансуб бўлган ўсимликларнинг 34та ЭЗ метаболитларининг бачадон бўйинчаси (HeLa), ҳикилдоқ (HEp-2) ва кўкрак беши (HBL-100) карциномасига нисбатан цитотоксик фаоллиги аниқланган ҳамда бўригулнинг 9та ЭЗлар фаоллиги саратонга қарши «Cisplatin» препаратининг таъсир даражасида бўлиши кузатилган. *Alternaria sp.*-VM84L, *P.concavoradulozum* -VE89L, *A.terreus* - VE90R, *C.cladosporoides* - VE92L, *A.amstelodami*-VR177Lнинг саратонга қарши фаоллик хусусиятлари винкрестин ва винбластин ишлаб чиқариши асосланган;

райхон, ялпиз ва заъфаронлар каби чўл зонасида ўсадиган ўсимликларидан инсон қонининг протромбин вақтини 300 сониядан кўпроқ оширадиган иккиламчи метаболитларни ишлаб чиқариши бўйича антикоагулянт хусусиятларга эга бўлган 4та ЭЗлар: *Acremonium sp.*-OB2S, *Alternaria sp.*-OB6L, *Acremonium sp.*-MP13R ва *Alternaria sp.*-CS53 танлаб олинган;

in vitro тизимида панкреатик α -амилаза фаолиятини 80%гача сусайтирадиган кунгабоқар, хўроз наштари ва филаментли пиёздан ЭЗ аниқланган. *A.egypticus-HT166S*, *P.brevicaule alba-CC200* ва *A.terreus-AF104S* экстрактлари акарбоза (30мг) нисбатан паст IC50 қиймати (20-25мг) билан фарқ қилиниб, *C.cristata* (Амарантлilar оиласи)дан ажратилган *P.brevicaule alba-CC200*нинг умумий экстрактларини клиник олди синовларида аллоксан-индуцирланган диабетли тажриба ҳайвонларида ўтказилганида самарали гипогликемик таъсирини намоён этгани аниқланган;

тўқ септирланган ЭЗ: *Alternaria sp.-FFL63*, *Ulocladium sp.-FFL64*, *S.minorum-VMR83*, *Alternaria sp.-HTL193*, *Cladosporium sp.-HT206*лар 20-30% меланин табиатли пигментлар тўпланиши аниқланган. *S.minorum - VMR83*да меланин ишлаб чиқараш 30%ни, шу билан бирга 30% липидлар (моно-, ди- ва триглицеридлар йиғиндиси)ни ҳосил қилиши аниқланган;

танлаб олинган ЭЗ ўстириш шароитларини оптималлаштириш натижасида антибактериал ва цитотоксик бирикмалар ишлаб чиқаришни регуляциялаш имконияти аниқланган ҳамда хўжайин-ўсимлик (*V.rosea*) хужайра ичидаги метаболитлари ва эпигенетик модификатори *P.concavoradulozum-VE89L* ва *A.amstelodami-VR177L* винка алкалоидлар даражасининг бир неча бор ўсишига ҳисса қўшиши асосланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

Ўзбекистонда ўрганилган ўсимликлар эндофит микобиотасининг, жумладан камдан-кам ҳолларда ажратиб олинадиган, хилма-хиллигини ифодаловчи, ЭЗнинг коллекцион базаси тўпланган;

ишлаб чиқаридиган метаболитларнинг исботланган биоактив хусусиятлари билан (антибактериал, цитотоксик, гипогликемик, меланин синтезловчи) ЭЗ танлаб олинган;

аксеник ўстриши шароитида юқори антибактериал ва винка-алкалоид синтезлаш қобилиятига эга бўлган ЭЗни ўстириш бўйича тавсиялар асосланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги экспериментал маълумотларни замонавий микробиологик, биокимёвий ва физикавий усуллари орқали олинганлиги ва уларни назарий маълумотларга мос келиши, натижаларга Стюдент мезонлари ва Фишер дисперсион таҳлили (ANOVA) ёрдамида статистик ишлов берилганлиги, диссертация натижаларини юқори импакт-факторли етакчи хорижий журналларда, Scopus маълумотлар базасида чоп этилганлиги, ҳамда амалиётга жорий этилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти илк бор Ўзбекистонда эндофитлар биологиясининг ривожланишига замин яратганлиги билан ифодаланади. Турли ҳудудларда ўсадиган ўсимликларнинг ЭЗнинг тарқалиши ва хилма-хиллиги, тизимнинг ўзига хослиги, учраш частотаси ва ўсимликларни колонизациялаши ҳақидаги янги маълумотлар эндофит – ўсимлик – муҳит ўзаро муносабатларини кўрсатади, бу эса умуман турларни ва кимёвий

хилма-хилликни сақлаб қолиш учун муҳим аҳамиятга эга. Эндофитларнинг биоактив хусусиятлари ажратиб олинган ЭЗга ўзига хос бўлган биосинтетик йўлларнинг хилма-хиллиги билан асосланади.

Тадқиқот натижаларини амалий аҳамияти ЭЗдан ажратилган метаболитларнинг биологик фаоллик спектри ва кимёвий табиати ҳақидаги келтирилган маълумотлар табиий биоактив бирикмаларнинг муқобил манбаи сифатида эндофитлар асосида янги биотехнологияларни ишлаб чиқиши амалий аҳамиятга касб этади. Ажратиб олинган ЭЗлар - биоактив моддалар ишлаб чиқарувчи продуцентлар турли терапевтик қимматли маҳсулотларни ишлаб чиқишда объект бўлиб хизмат қилиши мумкин ва маҳаллий фармацевтика ишлаб чиқариш соҳасида антибиотик, антисаратон ва антидиабетик дорилар рўйхатини кенгайтиришга ҳисса қўшиши билан хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. ЭЗнинг биофаоллиги бўйича илмий тадқиқот натижалари асосида:

гидролитик ферментлар продуценти *A.terreus Thom Uz CF-461* эндофит замбуруғи штамми учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлиги томонидан ихтиро патенти олинган (№ IAP 06366, 2020). Натижада, фитопатогенларнинг хўжайра қобиғи ҳамда саноат ва ўсимлик чиқиндилари полисахаридларини гидролизлаш учун эндо, экзо-1,4-β-глюканаза, ксиланаза, авицелаза, хитиназа ва протеазалар гидролитик ферментлар комплексининг продуцентини намоён этиш имконини берган;

C.cristata, *A.filidens* ва *H.tuberosus* ўсимликларидан энг фаол *P.brevicaule alba*– *CC200*, *A.terreus* -*AF104S* ва *A.egypticus*-*HT166S* ажратиб олинган ЭЗ штаммларидан *ФА-А6-Т109* “Ўзбекистон доривор ўсимликларининг ЭЗ метаболитлари - α-амилаза ингибиторлари сифатида” амалий лойиҳасида α-амилаза ингибиторловчи иккиламчи метаболитларини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2021 йил 11 октябрь 4/1255-2773-сон маълумотномаси). Натижада, гипогликемик хусусиятларига эга бўлган препаратларини олиш технологияси бўйича лаборатория регламентини ишлаб чиқиш имконини берган.

Allium, *Celosia*, *Ferula*, *Helianthus* ва *Vinca* авлодларига мансуб бўлган ўсимликлардан ажратиб олинган ЭЗнинг хилма-хиллиги ва хусусиятлари бўйича ўтказилган тадқиқотлар натижалари асосида олинган маълумотлардан юқори импакт-факторли (IF) 8 та хорижий журналларда антибактериал, антиканцероген, антидиабет хусусиятларини аниқлаш ҳамда эпигенетик модификаторларни қўлланилишида фойдаланилган: *Agriculture* (2020); IF-2.072, ISSN2077-0472, (Scopus); *South African Journal of Botany* (2020), IF-2.29, ISSN 0254-6299, (Scopus), *Journal of Food and Nutrition Research* (2020), IF-1.308, (Scopus), *Industrial Crops and Products* 139 (2019) 111511, IF-4.191, ISSN0926-6690, (Scopus), *Journal Mycosphere*, 10(1):798-1079 (2019), IF-2.015, ISSN2077000, (Scopus), *Frontiers in Microbiology*, (2018), IF-4.235, (Scopus), *Microbial Biotechnology* (2017), IF-5.328, ISSN1751-7915, (Scopus), *Journal Acta Pharmaciae Indonesia*, (2018), 6 (1)12-19, ISSN 2337-8433, E-ISSN2621-4520 (Web of Science).

Натижада, ушбу мамлакатларда турли ўсимликлар ЭЗнинг янги биоактив хусусиятларини аниқлаш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 12 та халқаро ва 8 та республика илмий-амалий конференцияларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 52 та илмий иш чоп этилган, шулардан 1та патент, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертацияларининг асосий илмий натижаларини чоп этиш учун тавсия этилган илмий нашрларда 15 та мақола, жумладан, 7 таси республикада 8 таси хорижий журналларда нашр қилинган.

Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловадан иборат. Диссертациянинг ҳажми 193 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурияти, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари асосланган, объект ва предметлари тавсифланган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **“ЭЗнинг хилма-хиллиги ва биофаол хусусиятлари”** деб номланган биринчи бобида ЭЗнинг илмий-тарихи ва тадқиқотлари ҳозирги ҳолатининг тахлили бўйича маълумот берилган, уларнинг тарқалиши, хилма-хиллиги, биологик потенциали, ҳамда ЭЗнинг ўсимлик-ҳўжайин билан ўзаро мунособати тўғрисида маълумотлар келтирилган, иккиламчи метаболитларни барқарор ишлаб чиқаришга эришиш мақсадида ЭЗни аксеник ўстириш имконияти кўрсатилган.

Диссертациянинг **“ЭЗни ажратиш олиш, ўстириш, идентификация қилиш ва сақлаш усуллари”** деб номланган иккинчи бобида ЭЗ маҳаллий штампларини ажратиш олиш, идентификациялаш, сақлаш усуллари, уларни тубда ва юзада ўстириш усуллари тавсифланган; йиғма экстрактлар ва иккиламчи матеболитларининг алоҳида фракцияларини олиш келтирилган; антибактериал, цитотоксик, антикоагулянт, ингибиторлик, меланин, липид ва фитогормон синтезлаш фаолликларини аниқлаш, винка алкалоидларни аниқлаш учун ЮҚХ, ЮССХ усуллариининг сифат ва миқдорий усуллари тавсифланган, ҳамда экстрактлар таркибининг фитокимёвий таҳлил усуллари келтирилган.

Диссертациянинг **“Ўзбекистон доривор ўсимликлари – ЭЗнинг янги манбаи”** деб номланган учинчи бобида турли минтақа ва денгиз сатхига тааллуқли бўлган, иқлими билан фарқ қилувчи республикамизнинг 4 физик-

географик округларида ўсувчи доривор ўсимликлардан ЭЗ изолятларини ажратиш ва идентификация қилиш бўйича ўтказган тадқиқотларимиз келтирилган. Ўсимликлар академик Тожибаев Т.Ш. раҳбарлик қилган ЎзРФА Ўсимлик ва ҳайвонот генофондини сақлаш Институтининг ходимлари томонидан йиғиб олинган ва тақдим этилган.

ЭЗ ажратиб олиш учун биз модификацияланган усулдан фойдаланганмиз бунда ўсимлик қисмлари 1 дақиқа давомида оқар сув, кейинчалик 70% этанол, 1,5% ли гипохлорид натрийда ювилган, ундан кейин стерил сув билан чайилган ва стериллик назорати учун сув озуқа мухитига экилган. Ўсимликлар асептик шароитларда стерил скальпель билан 5 мм лик қалинликдаги бўлақларгача майдаланган ва бактериялар ўсишини олдини олиш учун антибиотик таркибли қуюқ озуқа мухитига ёйиб чиқилган.

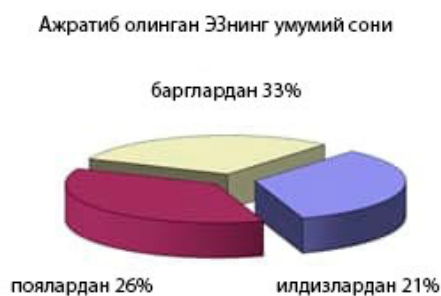
Ҳаммаси бўлиб 28 ўсимликларнинг 1,9 минг ортиқ сегментлари тадқиқ этилган бўлиб тоза культурага 7-28 кун давомида тўқима намуналаридан агарнинг юзасида ўсиб чиққан эндофит замбуруғларнинг 208 изоляти ажратиб олинган.

Ўсимлик органларининг тизимли тарқалиши ва колонизация частотасини таҳлил қилиш натижасида *Lagochilus olga*, *Ferula sumbul* ва *Haloxylon persicum* ташқари барча ўрганилаётган ўсимликларнинг пояларида ЭЗ аниқланган. Эҳтимол, ўсимликнинг ўтказувчи тизими сифатида поя кесилган усулда ЭЗни ажратишнинг нисбатан қулай усули ҳисобланади.

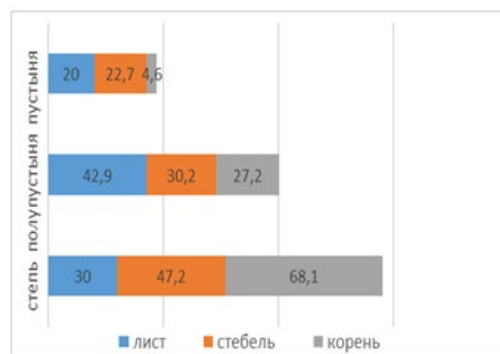
ЭЗнинг энг катта миқдори (33%) ўрганилган ўсимликларнинг баргларида ажратиб олинган. Пояси ва томирларида мос равишда 26% ва 21% изолятлар олинган. Колонизация частотаси ($KЧ, \% = N/N_t * 100$) республикамизнинг чўл ва даштли ярим чўл худудларида ўсувчи ўсимлик гуруҳларида Ната ва хаммуаллифлар усули бўйича аниқланган (1 расм).

Эндофитларга нисбатан бой ўсимликлар бу дашт ўсимликларидир. Ўсимликларнинг барглари, поялари ва томирлари мос равишда 30%; 47% ва 68%да ЭЗ билан колонизацияланган. ЭЗ катта қисми ўсимликларнинг томирларида ажратилган бўлиб бу ҳолат ярим чўл ва чўл худуди ўсимликларидан фарқ қилади яъни уларда айнан томирлардан ажратиладиган ЭЗ миқдорининг кескин камайиши кузатилган. Сўзсиз, буни чўл ва ярим чўл худуди тупроқларининг озуқавий моддалар ва намлик миқдорининг камлиги билан тушунтириш мумкин. Бундан ташқари, ўрганилган ўсимликлар томир тизимининг ҳолати ҳам қуруқ ёғочлашган структураси билан фарқ қилган бу эса тирик микрофлоранинг аниқлаш имкониятини камайтирган. Шунга қарамасдан, ўрганилган чўл ўсимликларнинг 4,6%дан ЭЗни айнан томир тизимидан ажратиб олишга муваффақ бўлинган. Чўл ўсимликлари баргларида колонияларнинг нисбатан пастлиги баргларини қуруқ тиканларга ўзгарганлиги билан тушунтириш мумкин. Бизнинг маълумотларимиз эндофитларнинг дашт ўсимликлари барча органларида юқори даражада тўпланишини ҳамда уларнинг илдизларида ЭЗ пайдо бўлиш частотасининг юқорилигини кўрсатди. Ярим чўл ўсимликларининг тадқиқ этилган органларида ЭЗнинг деярли тенг тақсимланиши кузатилади, аммо дашт ўсимликларидан кўра нисбатан камроқ яъни мос равишда 43%, 30% ва 27%

ташкил этди (2 расм). Шуни таъкидлаш лозимки, мураккаб яшаш мухитларида ўсимликларнинг ер усти ва ер ости қисмларидаги эндофит замбуруғлар уюшмасидаги фарқлар ўз ечимини кутаётган мухим илмий масала ҳисобланади.



1-расм. Тадқиқ этилган барча ўсимликларнинг турли аъзоларида ЭЗ умумий тизимли тақсимланиши



2-расм. Дашт, чалачўл ва чўл худуди ўсимликларининг аъзоларида ЭЗ колонизация частотаси (%)

Ажратиб олинган замбуруғ изолятларининг идентификацияси анъанавий усулларда олиб борилди яъни ўрганилаётган культураларнинг макроскопик ва микроскопик белгилари олдин тавсифланган ва маълум бўлган замбуруғларнинг белгилари билан таққослаш орқали аниқланди. Эндофит микрофлоранинг таркибига 20 авлод вакиллари кириши кузатилди. 45та изолят тур таркибига идентификация қилинган. Изолятларнинг кўпчилиги яъни 20 тур *Eurotiomycetes* синфининг 2та авлодига мансублиги ҳамда *Sordariomycetes* синфида максимал турли-туманлик кузатилган 11 авлод 14 тур мансублиги аниқланди. *Dothideomycetes* синфига 3 авлод ва 8 тур мансуб, *Zygomycetes* синфига 2 авлод ва 2 тур, *Agonomycetes* синфи фақат 1 авлод ва 1 турга мансубдир. 16 изолят *Mycelia sterilia* эканлиги маълум бўлди ва уларни анъанавий усуллар билан идентификация қилишнинг имкони мавжуд эмас.

Шундай қилиб, турлар миқдори бўйича *Ascomycota* бўлими етакчи ҳисобланади ва ўз ичига *Eurotiales* тартиби (20 тур – барча турларнинг 44%), *Hypocreales* тартиби (8 тур–барча турларнинг 18%), *Pleosporales* ва *Sphaeriales* тартибларини (5та турдан–барча турларининг 11%) қамраб олади. *Trichosphaeriales* ва *Capnodiales* тартиблари, *Zygomycota* бўлиmidан *Mucorales* тартиби ва *Anamorphic* типидан *Aganomycetales* тартиблари фақат 1-2 турлардан иборатдир. *Basidiomycota* бўлими вакиллари аниқланмади.

Aspergillus, *Penicillium*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Alternaria* авлоди вакиллариининг нисбатан кўпрок аниқланиши кузатилди. Тадқиқ қилинаётган ўсимликларда юқорида қайд этилган авлодларга мансуб 4-5 турдан аниқланди, қолган авлодлар 1-2 турдан иборат эди яъни *Sclerotium*, *Monilia*, *Myrothecium*, *Nigrospora*, *Gliomastix*, *Ulocladium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Thielavia*, *Dichotomyces*, *Microascus*, *Cunninghamella*.

Шу билан бирга ЭЗ тизимли учрашининг ўзига хослиги ҳақида қуйидаги маълумотлар мавжуд яъни фузариялар ва акремонийлар ажратиб олишнинг юқори частотаси ўсимликларнинг илдизларида, аспергиллар ва пенициллар – пояларда, альтернориялар – барглarda аниқланган.

Тўқиманинг турига боғлиқ бўлмаган равишда нисбатан кўп ажратилган тур - *Aspergillus terreus* тури ҳисобланди. Шу билан бирга, *Aspergillus* авлодининг бошқа турлари ҳам тўқиманинг турига боғлиқлиги паст бўлган яъни турли ўсимликларнинг турли қисмларида аниқланган. Айнан *Aspergillus* авлоди вакиллариининг турли-туманлиги (*A.ochraceus*, *A.versicolor*, *A.niger*, *A.flavus*, *A.ustus*, *A.repens*, *A.egypticus*, *A.ochraceus*, *A.amstelodami*, *A.terricola*, *A.roseovelutinum*, *A.spectabilis*) қайд этилган, эҳтимол мазкур зумбуруғларга янги ўсимликларни эгаллаб олишга ва уларнинг турли қисмларида тарқалишига имкон беради. Адабиётларда келтирилган маълумотларига кўра, мўътадил ва жанубий кенгликларда *Penicillium* авлоди нисбий улуши ва турли-туманлиги *Aspergillus* авлодига нисбатан анча пастдир, бу эса бизнинг тадқиқотларимизда ҳам ўз тасдиғини топган: *Aspergillus* авлодининг турли-туманлиги *Penicillium* авлодидан кўра 1,5 баробарга кўпроқдир.

К.А.Калашникованинг маълумотларига кўра, Вьетнамнинг тропик ўрмонларидан стандарт муҳитларида ажратилган споралар ҳосил қилмайдиган микромицетларнинг 22% *Pleosporales* тартибига мансуб бўлган. Бизнинг олган маълумотларимиз ҳам республикаимиз субтропик минтақада жойлашганлигига қарамасдан *Pleosporales* тартибида, *Alternaria* авлодида споралар ҳосил қилмайдиган турларнинг (13,5%) нисбатан кўплигини кўрсатди. Шу билан бирга, тропик минтақаларда *Absidia* ва *Cunninghamella* авлоди (*Mucorales* тартиби, *Zygomycetes* синфи) *Mucor* ёки *Rhizopus* авлодларига нисбатан кўпроқ учраши кўрсатилган. *Mucor* ва *Rhizopus* авлодлари шимолий кенгликларда тарқалган. Бизнинг худудимизда «шимолий» *Mucor* авлоди ҳамда «жанубий» *Cunninghamella* авлоди вакиллариини ҳам ажратиб олинган.

Учратишнинг нисбий фоизи УНФ (%) = $M/Mt \cdot 100$ ёки мазкур турнинг учратиш зичлигини характерлайдиган турларнинг кўплигини Kamalraj ва ҳаммуаллифларнинг усули бўйича аниқланган. Нисбатан кўп учрайдиган турларга *Aspergillus* (32%), *Alternaria* (17%), *Penicillium* (14%), *Acremonium* (10%) ва *Fusarium* (8%) авлоди вакиллари учун хосдир. Қайд этиш лозимки, анъанавий усуллар билан идентификация қилиб бўлмайдиган стерил мицелийга эга изолятларнинг миқдори 8% ни ташкил қилган, бу эса маҳаллий доривор ўсимликлари ЭЗ биохилма-хиллигининг катта захирасидан далолат беради (1 жадвал).


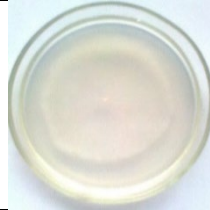
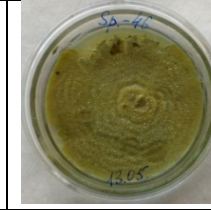



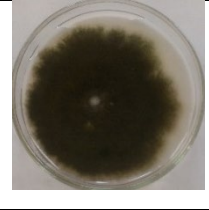



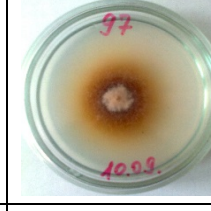
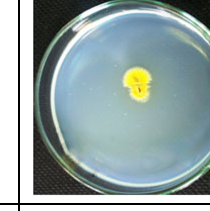
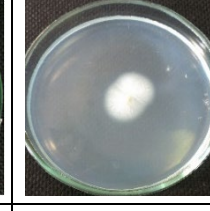
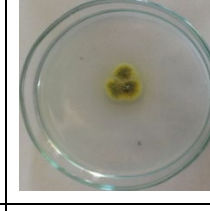

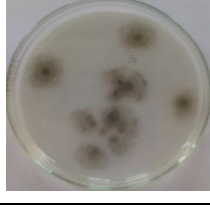

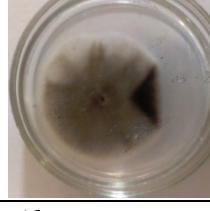
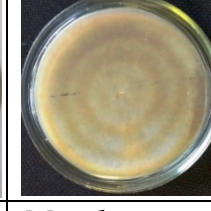

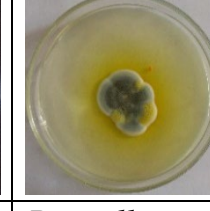
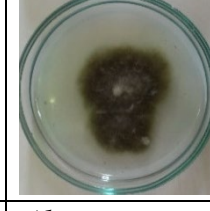


Мавжуд тасаввурларга кўра, эндофит микрофлорани тадқиқ қилишнинг муҳим жихатларидан бири бу янги олдин номаълум бўлган ёки ноёб турларини аниқлашдан иборатдир.

Ажратиб олинган ЭЗ тур таркибининг таҳлил натижаларига кўра, аниқлашимизча илк бор умумий ўрганилган ўсимликларнинг 8 оиласига мансуб 13 тур ўсимликларида (*Lamiaceae*, *Aposynaceae*, *Ariaceae*, *Zygophyllaceae*, *Amaranthaceae*, *Papaveraceae*, *Amaryllidaceae*, *Asteraceae*) ЭЗ нинг ноёб 24 тури макон тутган (3 расм). Бу маълумотлар Ўзбекистоннинг доривор ўсимликларида ЭЗ турларини хилма-хиллигини инкор этиб бўлмайдиган янги манбаси ҳисобланади.

Ўзбекистон ўсимликлари эндофит замбуруғларининг хилма-хиллиги

Синф	Туркум	Оила	Авлод	Тур	Микдо ри	Учратиш. нисбий, %
<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Aspergillaceae</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>A.ochraceus</i>	3	1,4
				<i>A.terreus</i>	22	10,6
				<i>A.niger</i>	15	7,2
				<i>A.versicolor</i>	2	1,0
				<i>A.flavus</i>	5	2,4
				<i>A.ustus</i>	1	0,5
				<i>A.amstelodami</i>	1	0,5
				<i>A.egypticus</i>	1	0,5
				<i>A.roseovelutinum</i>	1	0,5
				<i>A.repens</i>	1	0,5
				<i>A.spectabilis</i>	1	0,5
				<i>A.terricola</i>	1	0,5
				<i>Aspergillus sp.</i>	13	6,25
				<i>Penicillium</i>	<i>P.brevicom pactum</i>	1
			<i>P.lilacinum</i>		1	0,5
			<i>P. radulatum</i>		1	0,5
			<i>P. Waksmani</i>		1	0,5
			<i>P.rubrum</i>		1	0,5
			<i>P.concavoradulozum</i>		1	0,5
			<i>P. brevicaule alba</i>		1	0,5
<i>Penicillium sp.</i>	20	9,6				
<i>Eupenicillium brefeldianum</i>	1	0,5				
<i>Sordariomycetes</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Nectriaceae</i>	<i>Fusarium</i>	<i>F.culmorum</i>	1	0,5
				<i>F.sambucinum</i>	1	0,5
				<i>Fusarium sp.</i>	15	7,2

		<i>Hypocreaceae</i>	<i>Acremonium</i>	<i>A.roseum</i>	1	0,5
				<i>A.coremioides</i>	1	0,5
				<i>A.nigricans</i>	1	0,5
				<i>Acremonium sp.</i>	17	8,2
			<i>Gliomastix</i>	<i>G.nigricans</i>	1	0,5
			<i>Myrothecium</i>	<i>M.verrucaria</i>	2	1,0
			<i>Monilia</i>	<i>Monilia sp.</i>	1	0,5
	<i>Trichosphaeriales</i>	Не определено	<i>Nigrospora</i>	<i>N.sphaerica</i>	1	0,5
	<i>Sphaeriales</i>	<i>Chaetomiaceae</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Ch.olivaceum</i>	1	0,5
			<i>Thielavia</i>	<i>T.microspora</i>	1	0,5
		<i>Dematiaceae</i>	<i>Dichotomyces</i>	<i>D.cejpii</i>	1	0,5
			<i>Doratomyces</i>	<i>D.purpureofuscus</i>	2	1,0
		<i>Microascaceae</i>	<i>Microascus</i>	<i>M.trigonosporus</i>	1	0,5
<i>Dothideomycetes</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Pleosporaceae</i>	<i>Alternaria</i>	<i>A.chlamydospora</i>	1	0,5
				<i>A.geophila</i>	1	0,5
				<i>A.tenuis</i>	2	1,0
				<i>A.malvae</i>	1	0,5
				<i>A.alternata</i>	1	0,5
<i>Alternaria sp.</i>	28	13,5				
			<i>Ulocladium</i>	<i>U.consortiae</i>	2	1,0
	<i>Capnodiales</i>	<i>Cladosporiaceae</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>C.cladosporoides</i>	1	0,5
				<i>C.tenussimum</i>	1	0,5
<i>Zygomycetes</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Mucoraceae</i>	<i>Mucor</i>	<i>Mucor sp.</i>	8	3,8
		<i>Cunninghamellaceae</i>	<i>Cunninghamella</i>	<i>Cunninghamella sp.</i>	1	0,5
<i>Agonomycetes</i>	<i>Aganomycetales</i>	<i>Aganomycetaceae</i>	<i>Sclerotium</i>	<i>S.minorum</i>	2	1,0
Классик усуллар билан аниқлаб бўлмайдиган стерил мицелий билан изолятлар					16	7,7
5	8	11	20	45	208	

							
<i>Fusarium culmorum</i> MP11R	<i>Dichotomyces cejpii</i> MO45S	<i>Thielavia microspora</i> MO46L	<i>Sclerotium minorum</i> VM83R	<i>Penicillium lilacinum</i> VM86S	<i>Penicillium concavoradul ozum</i> VE89L	<i>Cladosporium tenussimum</i> AF183	<i>Aspergillus spectabilis</i> AL184
							
<i>Cladosporium cladosporoides</i> VE92L	<i>Penicillium syriacum</i> VE93R	<i>Eupenicillium brefeldianum</i> VE97R	<i>Aspergillus amstelodami</i> VR177L	<i>Acremonium coremioides-FF79S</i>	<i>Ulocladium consortiae -A87S</i>	<i>Aspergillus egypticus</i> HT166S	<i>Doratomyces purpureofuscus</i> HT182
							
<i>Microascus trigonosporus</i> PG126L	<i>Alternaria geophila</i> HP133L	<i>Monilia sp.-</i> CM160L	<i>Penicillium radulatum</i> AF105	<i>Penicillium Waksmani Zaleski</i> AF106	<i>Alternaria tenuis</i> AF180	<i>Nigrospora sphaerica</i> HT189L	<i>Myrothecium verrucaria</i> HT190R

3-расм. Ноёб эндофит замбуруғ турларининг колониялари
(штампларнинг морфологик-культурал тавсифлари диссертация ишида келтирилган)

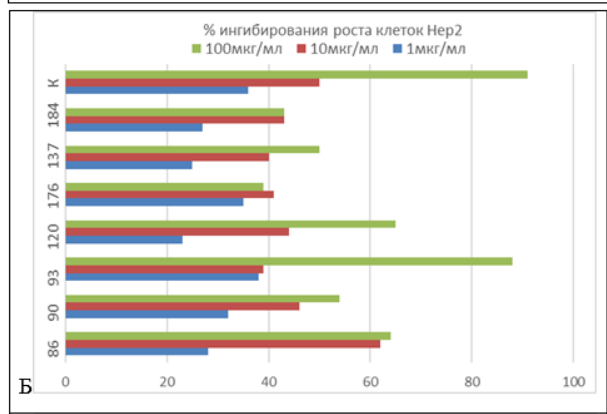
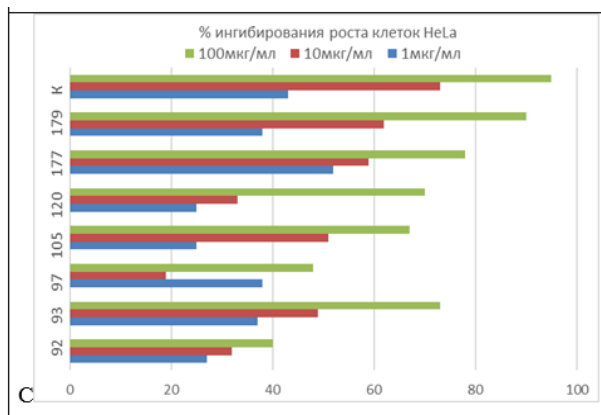
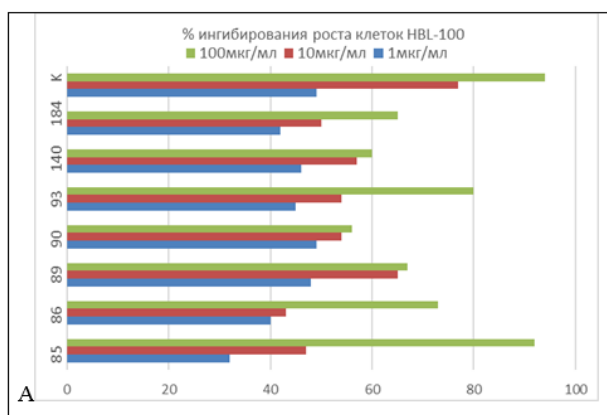
Мавжуд тасаввурларга кўра, эндофитларнинг нисбатан мухим хоссаларидан бири бу уларнинг хўжайин-ўсимлиги метаболитларига хос бўлган бирикмаларни синтез қилиш хусусиятидир. Маълум ва янги фармацевтика препаратларининг муқобил манбаси сифатида айнан шу хусусияти доривор ўсимликларнинг эндофитларига нисбатан кучли қизиқишнинг сабабидир.

Диссертация “ЭЗнинг биологик фаоллиги” деб номланган тўртинчи бобида ЭЗ иккиламчи метаболизмининг бой табиати ҳақида далолат берувчи натижалари келтирилган. ЭЗлар ўсишининг кечки стационар фазасида яъни физиологик жихатдан иккиламчи метаболизми фаоллашганидан кейин уларнинг биомассадан иккиламчи метаболитларнинг экстрактлари ажратиб олинган ва кейинчалик бу экстрактларнинг антибактериал, цитотоксик, антикоагулянт, ингибиторлик, меланин, липид ва фитогормон синтезлаш фаолликлари бўйича скрининги ўтказилган.

Натижада 30% штаммлар антибактериал фаолликка эга иккиламчи метаболитларини ишлаб чиқариши аниқланган. Улардан 68% (42 штамм) эндофитлар фақат 1 тест-культурага нисбатан фаолликни намоён қилган, 22% (14 штамм) – 2 тест-культурага нисбатан ва фақат 10% (6та штамм: *T.microspora*-MO46L, *P.waksmani* Zaleski - AF106, *P.brevicaule alba* -CC200, *Cladosporium sp.*-206, *Mucor sp.*-PG124L, *Alternaria sp.*-PG127L) бир вақтнинг ўзида 3 тест-культурага нисбатан фаолликни намоён қилган ва бунда ўсишни ингибирлаш зонаси 28 мм дан юқори ташкил қилган. Бу ҳолат уларда кенг спектрли антибиотик мавжудлигидан далолат беради. Антибактериал фаолликка эга штаммлар 28 ўсимликнинг 19 тасида аниқланган. Бу эндофитларнинг асосий манбаи лимонник, гултожихўроз, иссирик ва ёввойи пиёз бўлди.

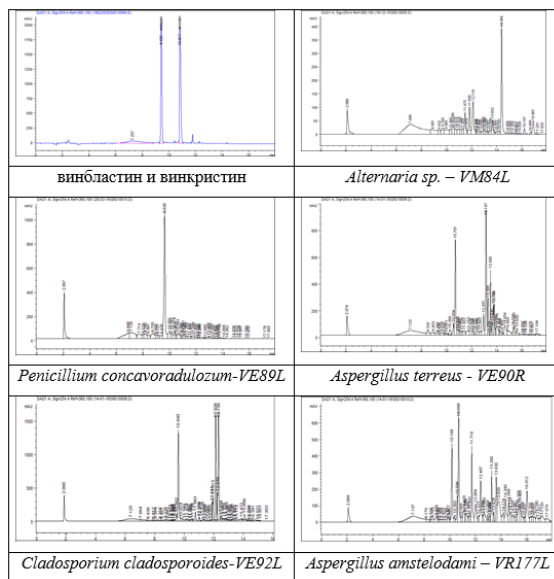
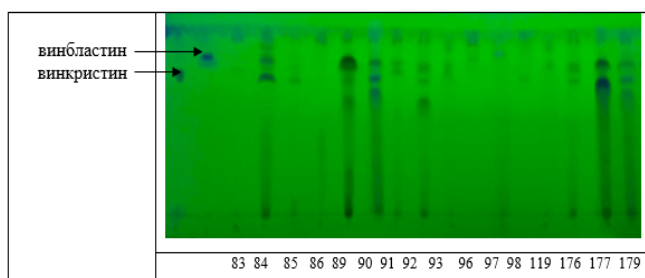
T.microspora-MO46L, *P.waksmani* Zaleski-AF106 ва *P.brevicaule alba*-CC200 штаммлари йиғма экстрактларининг иккиламчи метаболитларини турли эритувчиларда эритиб антибиотик фаолликка бой бўлган алоҳида фракциялар олинган. Энг юқори антибактериал фаолликка эга *T.microspora*-MO46L штамми метаболитларининг сифат тахлили терпенлар ва сапонинлар мавжудлигини аниқлади ва шу билан бирга уларнинг нисбати кўпайтириш культивация қилиш шароитларга боғлиқдир *Vinca* ва *Allium* ўсимликларидан ажратилган ЭЗларнинг 34 штамми цитотоксик фаолликлари скрининг қилинганида эътиборга молик маълумотлар олинган. ЭЗ танлаб олиниши тасодифий эмас чунки бўригул саратонга қарши винка алкалоидларни олиш учун ягона ўсимлик хом-ашёси ҳисобланади пиёзда эса аллицин ишлаб чиқарилади – кенг спектрли таъсирга эга алкалоид, жумладан, саратон қарши қўлланилиши мумкин.

ЎзРФА Ўсимлик моддалари кимёси институти ходимлари билан биргаликдаги бачадон бўйни карциномаси (HeLa), ҳиқилдоқ (HEp-2) ва сут безлари (HBL-100) рак хужайралари верификацияланган культуралари билан ўтказган тадқиқотларимизда саратонга қарши «Cisplatin» препарати билан таққосланадиган паст концентрацияларда юқори цитотоксик фаоллик ЭЗнинг 9 штаммида аниқланган (4 расм).



4-расм. NBL-100 (А), НЕР-2 (Б) ва HeLa (С) хужайраларига қарши *Vinca* ва *Allium* авлодига мансуб бўлган ўсимликларидан ажратилган ЭЗ экстрактларининг цитотоксик фаоллиги

ЮКХ ва ЮССХ усуллари билан бўригулдан ажратиб олинган ва цисплатин билан солиштирилганда нисбатан паст гепатотоксик фаоллиги 2 баробар паст бўлган 5 штамм (*P. concavoradulozum-VE89L*, *A. terreus-VE90R*, *Cladosporium sp.-VE92L*, *Alternaria sp.-VM84L* ва *A.amstelodami-VR177L*) экстрактларида, цитокристин ва цитобластин препаратларига (винкристин ва винбластинга мос бўлган), юпқа қатламдаги ҳаракатчанлиги ва чиқиш вақти бўйича хос бўлган бирикмалар мавжудлиги кўрсатилган (5 расм).



5-расм. *Vinca* авлодига мансуб бўлган ўсимликларидан ажратилган ЭЗ экстрактларининг ЮКХ ва ЮССХ профили

Дашт худуди ўсимликларидан (райҳон, ялпиз ва заъфарон) Квик усули бўйича қон плазмасида антикоагулянтлик хоссалари скриннинг қилинганида ЭЗнинг 4 штамми ажратиб олинган: *Acremonium sp.-OB2S*, *Alternaria sp.-OB6L*, *Acremonium sp.-MP13R*, *Alternaria sp.-CS53S*.

Бу штаммлар ишлаб чиқарадиган иккиламчи метаболитлар инсон конидаги протромбин шаклланиш вақтини 300 сониядан кўпроқ вақтга тормозлаш хоссасига эгадир.

Антидиабетик бирикмаларга бўлган эхтиёжнинг ошиши 19 ўсимликдан ажратиб олинган 100 ЭЗни α -амилаза қарши ингибиторлик фаоллигини скринингини ўтказишга туртки бўлди. *In vitro* шароитида ингибиторлик фаоллигининг мавжудлиги 67% штаммда аниқланган. Паст фаолликни (20-39%) штаммларнинг 31% намоён қилди, ўртача фаолликни (40-59%) - 42% ва 27% штаммлар α -амилаза фаоллигини 60%дан кўпроқ босиб турган, бу эса ингибитор – акарбозанинг таъсирига тенгдир. Ўрта ва юқори ингибиторлик фаолликка эга ЭЗнинг катта миқдори антидиабетик ва гипогликемик хоссаларига эга ўсимликларда аниқланган: *H.tuberosus*, *M.officinalis*, *A.filidens*, *A.longicuspis*, *C.cristata*, *C.majus*, *V.erecta*. Акарбоза (30мг) билан солиштирилганда IC50нинг энг паст кўрсаткичлари (20, 24 ва 25мг) *A.egypticus-HT166S*, *P.brevicaule alba-CC200* ва *A.terreus-AF104S* аниқланган.

ЎзРФА Биоорганик кимё институти билан ҳамкорликда ўтказилган аллоксан-индуцирлаган диабетга билан оғриган тажриба ҳайвонларида *P.brevicaule alba- CC200* умумий экстракти билан ўтказилган клиник олди тажрибалар кўрсатдики, экстракт 4,5мг/кг вазн концентрацияда перорал қабул қилинганидан сўнг қондаги глюкоза миқдори ва гексокиназа фаоллиги - 30%га пасаяди, гликогемоглобин даражаси 15%га, триглицеридлар—40%га, холестерин—8,5%га, ПЗЛП ва ЖПЗЛП—17%га пасаяди; шу билан бирга ЮЗЛП миқдори 30%га ошади. Умумий жихатдан, *P.brevicaule alba-CC200* экстрактининг самараси таққослаш препарати сифатида гликлазид ва акарбозаларнинг таъсирига тенгдир (мазкур маълумотлар диссертация ишининг иловасида келтирилган).

Тўқ септали эндофитларнинг (ТСЭ) катта миқдорини кўра туриб ва кучли УБ-нурланиш шароитида эндофитларнинг хўжайин-ўсимлик ўртасидаги ўзаро мунособатлардаги протекторлик ролини инобатга олиб, экстремал яшаш шароитларида ўсувчи ўсимликлардан ажратиб олинган ТСЭлар орасидан меланин синтезловчи хоссасига эга штаммларнинг скрининги ўтказилди. ТСЭ турларининг нисбатан кўпроқ хилма-хиллиги атроф муҳитнинг стресс шароитларига эга иқлим зонасининг (жанубий-ғарбий Қизилкум худуди) вакили сассиқ ковракда кузатилган (2 жадвал).

2-жадвал

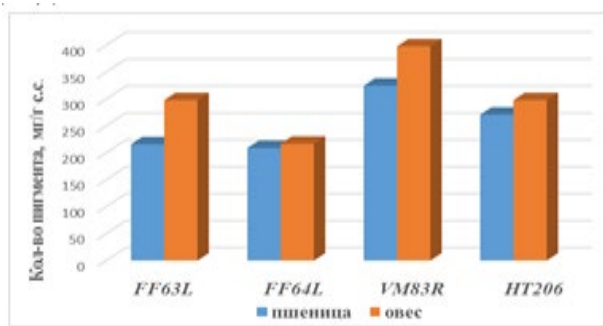
ЧФда ЭЗнинг қорангли пигментни ишлаб чиқариши

Эндофит замбуруғлар	б/мни нам вазни, г/л	б/мни курук вазни, г/л	Пигмент чиқиши мг/г қ.в., %	
<i>Alternaria sp. – FF63L</i>	10±1,2	1,8±0,1	221±22	20
<i>Ulocladium sp. - FF64L</i>	10±1,1	1,1±0,1	204±23	20
<i>S. minorum - VM83R</i>	15±1,8	3,2±0,2	307±25	30
<i>Cladosporium sp. - HT206</i>	12±1,4	2,6±0,2	262±24	25

Микробли ферментацияда пигментларни ишлаб чиқишда қаттиқ фазали субстратлар сифатида арзон ва оммабоп агросаноат чиқиндиларидан фойдаланиш эътисодий жихатдан самарали ва экологик тоза жараён сифатида кўриб чиқилади.

Ҳақиқатдан ҳам ҚФФ билан ЧФ солиштирилганда ҚФФда иккита қаттиқ субстратларда барча культураларда меланин пигментларнинг тўпланиши анча ошган. Буғдой ёрмаларидан фойдалангандан кўра сули ёрмаларидан фойдаланишда пигментнинг чиқиши анча юқори бўлди. Бунда, ферментатив субстратнинг умумий оғирлигига нисбатан (398 ± 24 мг/г) катта миқдорда пигментнинг чиқиши *S.minorum-VM83R* штаммида кузатилди ва бу кўрсаткич 40% ташкил қилди (6 расм).

Тозаланмаган пигментнинг сифат таҳлили ва *S.minorum-VM83R* пигменти ишқорий эритмасининг УБ ва кўринадиган нурда (216 нм) спектрофотометрик таҳлили олинган пигментнинг меланин табиатли эканлигини тасдиқлади.



6-расм. ҚФФда ЭЗлардан қорарангли пигментнинг чиқиши

Қайд этиш лозимки, *S.minorum-VM83* моно-, ди- ва триглицеридлардан иборат катта миқдордаги липидларни ишлаб чиқариши билан фарқ қилади. Фойдаланилган эритувчилар тизимига боғлиқ ҳолда липидларнинг чиқиши, қуруқ моддага нисбатан 22,7%дан 30,4%гача бўлди. Шу билан бирга липидларни ишлаб чиқариш даражаси туб ферментациясидан кўра юза ферментациясида нисбатан юқорирок бўлди.

ИУК ва ГК фитогормонларнинг миқдори бўйича сассиқ коврак ва Шарипов лоласидан ажратиб олинган ЭЗ скриннингига кўра *Alternaria sp.-FF63L*, *A.terreus-FF65*, *F.sambucinum-FF59S* ва *Fusarium sp.-TSch72L* эндофитлари таркибида катта миқдорда ИУК (300мкг/мл) ва ГК (50мкг/мл экстракт дан кўп) фитогормонларини тутди.

3-жадвалда келтирилган ЭЗ иккиламчи метаболитларининг йиғма экстрактлари фитокимёвий таҳлил натижаларига кўра ўрганилган ЭЗнинг биологик фаоллиги сапонинлар, юрак гликозидлари, танинлар, феноллар, терпенлар, винка-алкалоидлар, фитогормонлар, меланинлар, флавоноидлар, антрахинонларни ишлаб чиқаришлари билан боғлиқдир.

Эндофитларни тижоратлаштиришда асосий тўсиқлардан бири бу умум қабул қилинган хўжайин-ўсимликдан мустақил шароитларда даврий аксеник ферментациясида эндофитлар махсулотлари чиқишининг сўниш муаммосидир. Шу сабабли, мазкур тадқиқот ишида антимиқроб ва

цитотоксик хоссаларига эга *T.microspora-MO46L*, *P.concavoradulozum-VE89L* ва *A. amstelodami – VR177L* ЭЗ штаммларнинг ўсиши ва биологик фаоллигига турли омилларнинг таъсири ўрганиб чиқилди.

Диссертация “**Турли омилларнинг ўсиш ва биологик фаолликка таъсири**” деб номланган бешинчи бобида аниқланишилича, ЧК ҳам ЮК ҳам барча штаммлар биомассасининг энг юқори тўпланиш даражаси ферментациясининг 11чи суткасида кузатилган. ЧК ва ЮК шароитларида *T.microspora-MO46L* ва *A.amstelodami–VR177L* биомассасининг ЧКда ўсиши ЮК кўра 2 баробарга юқори бўлди. Бундан ташқари, *P.concavoradulozum-VE89L* штамми ёруғликсиз ЧКсида биомассасининг тўпланиши 3 баробарга кўп ёруғлик мавжуд шароитда эса – деярли 4 баробарга кўпдир. Барча ўрганилган штаммларда энг юқори антибактериал фаоллик ҳам ўсишнинг 11 суткасида кузатилган. Шу билан бирга ЧКдан олинган *A.amstelodami–VR177L* экстрактлари ёруғлик тушиши ва тушмаслигидан фарқли ўлароқ ЮК олинган экстрактлардан кўра *S.aureus* ўсишини 2 баробарга кучлироқ чеклаб қўйган. *P.concavoradulozum-VE89L* экстрактлари мазкур тест-культура ўсишини жуда кам ингибирлагани кузатилди. Шунингдек, *T.microspora-MO46L* экстрактлари эса культивация усули ва ёруғлик тушиши ва тушмаслигидан фарқли даражада *S.aureus*га қарши ўзининг юқори антимикроблик хоссаларини сақлаган (7 расм).

A.amstelodami–VR177L ва *P.concavoradulozum-VE89L*ни ТКдан олинган экстрактларнинг ЮССХда, ҳаракатчанлиги бўйича винкрестин ва винбластинга мос бўлган бирикмалар ўстиришнинг 7 суткасида пайдо бўлган. Культивациянинг иккала типиди ҳам табиий ёруғлик винка-алкалоидларнинг синтезига ижобий таъсир кўрсатади бу эса уларнинг юқори микдоридан далолат берувчи пиклар интенсивлигининг ошганлигида намоён бўлади.

Озуқа мухитининг рН кўрсаткичи *T.microspora-MO46L* штаммининг ўсишига катта таъсир кўрсатади: рН кўрсаткичи 6,0, 7,0 ва 8,0 бўлганида биомассанинг тўпланиши 2,6 г/лни ташкил этади, рН кўрсаткичи 5,0 ва 9,0 бўлганида – 1,6 г/лдан ошмайди. Шуниси қизиққи, ферментациянинг охирига келиб барча вариантларда мухитнинг рН кўрсаткичи бир хил қийматга яъни рН 8,0-8,3 бўлди. Мухитнинг бошланғич рН кўрсаткичлари 5,0-6,0 бўлишига қарамасдан *P.concavoradulozum-VE89L* культураси культивациясининг якунида рН кўрсаткичи 7,2ни ташкил этади, биомассасининг микдори эса 1,1г/лдан ошмайди. Культурани рН 8,0-9,0 ўстирилганда унинг ўсиши деярли 10 баробарга пасайиб кетади, бунда мухитнинг бошланғич рН кўрсаткичлари деярли ўзгармайди. *A.amstelodami–VR177L* штамми биомасса тўплаш даражасининг анча юқори ва барқарорлиги билан фарқ қилади яъни бошланғич рН кўрсаткичи 8,0 да максимал бўлган 4,3 г/лни, бошланғич рН 9,0да эса минимал 2,7г/лни ташкил этади. Барча вариантларда якуний кислоталик кўрсаткичи 6,1-6,4 га тенг бўлди.

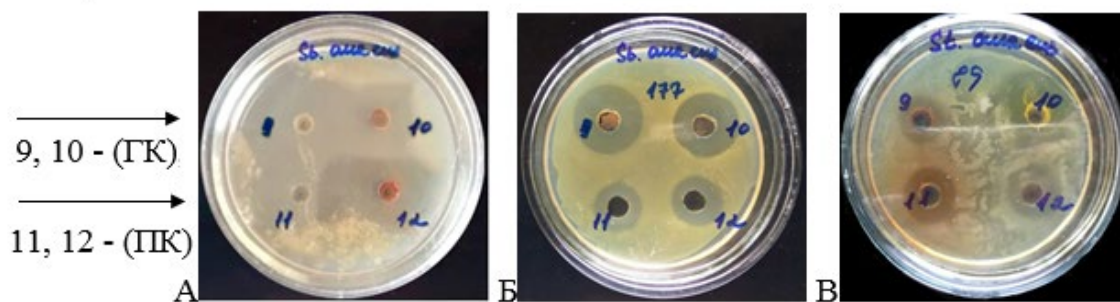
Олинган маълумотларга кўра, биомассанинг барқарор чиқиши *T.microspora-MO46L* ва *A.amstelodami–VR177L*да кузатилди ҳамда бошланғич рН кўрсаткичи қандай бўлишига қарамасдан мухит рН кўрсаткичини

оптимал ҳолатга ўтказиши аниқланди. Шу билан бирга, мухитнинг барча рН қийматларида *T.microspora-MO46L* метаболитларининг *S.aureus* ва *B. subtilis* қарши антибактериал фаоллиги сақланиб турди. Винка-алкалоидига хос бўлган *A.amstelodami-VR177L* метаболитларининг катта миқдорда чиқиши рН қиймати 7,5-8,0 бўлганида кузатилди.

Кверцетин ва никотинамид эпигенетик модификаторларнинг 100µМ концентрацияда таъсирини ўрганишда культуралар пигментацияси ва морфологиясидаги ўзгаришлар ўсишнинг 5чи кунда аниқланди (8 расм). Қайд этиш лозимки, мухитга никотинамид киритилганда *P.concavoradulozum-VE89L* ва *T.microspora-MO46L* бошлагич пигментация хоссасини йўқотган бўлишига қарамасдан аста-секинлик билан ўзининг пигментациясини оч-тўқ қизил ва тўқ-яшил рангини қайта тиклади. Кверцетиннинг қўшилиши натижасида барча ўрганилаётган штаммларнинг культурал мухитида тўқ-жигарранг пигмент пайдо бўлган. Шу билан бирга, кверцетин мавжуд шароитда морфологиянинг ўзгариши ва бунинг натижасида хужайралар миқдорининг ошиши, гифаларнинг қалинлашиши кузатилган, никотинамиднинг киритилиши эса мицелий гифаларининг шохланишига ва узайшига сабаб бўлди.

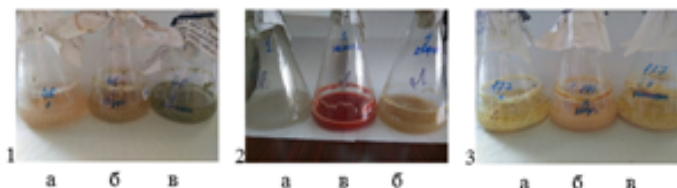
Кверцетиннинг киритилиши *P.concavoradulozum-VE89L* ва *A.amstelodami-VR177L* штаммларнинг иккиламчи метаболитлари хилма-хиллигини ошишига ва винбластин ишлаб чиқариш даражасини 5 баробарга ошиши ҳамда экстрактларнинг ЮССХ тахлилида кўрсатилгандек иккиламчи метаболитларнинг хилма-хиллиги кўпайишига ҳисса қўшган (9 расм).

Шу билан бирга, модификаторлар *T.microspora-MO46L* штаммининг антибактериал фаоллик даражасини ўзгартирмаслиги аниқланди.



7-расм. *T.microspora* - MO46L (А), *A.amstelodami* – VR177L (Б) ва *P.concavoradulozum-VE89L* (В) экстрактларининг *S. aureus* ўсишини чеклаб қўйиши (зонаси)

а – назорат,
б – кверцетин,
в – никотинамид

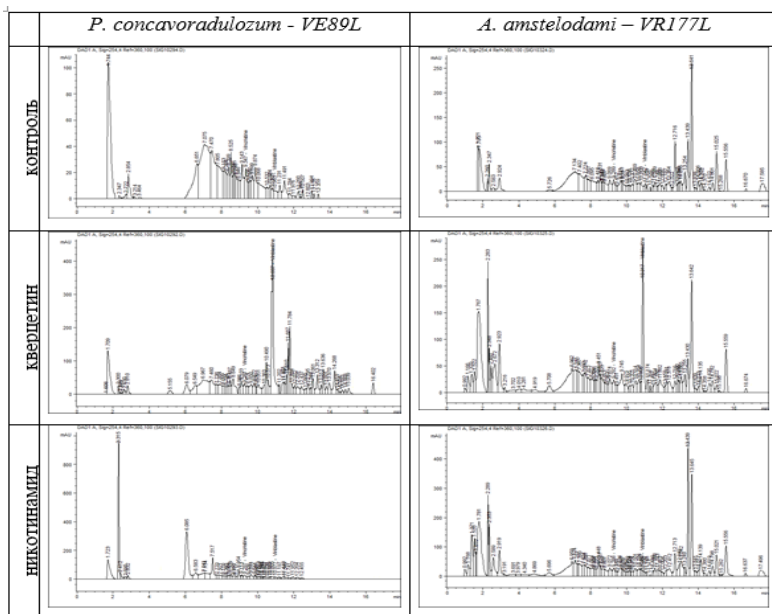


8-расм. Модификаторлар қўшилганида эндофит культураларнинг морфологияси ва пигментацияси: 1 - *T. microspora* - MO46L, 2 - *P. concavoradulozum* - VE89L, 3 – *A. amstelodami* – VR177L

ЭЗ – биологик фаол моддаларнинг истиқболли продуцентлари

№	Биофаоллиги	Эндофит замбуруғ	Хўжайин-ўсимлик	Иккил.метабол.
1	антимикроб	<i>T. microspore</i> -MO46L <i>P. Waksmani Zaleski</i> -AF106 <i>P. brevicaula alba</i> -CC200 <i>F. sambucinum</i> -FF59S	<i>Melissa officinalis</i> <i>Allium filidens</i> <i>Celosia cristata</i> <i>Ferula foetida</i>	терпенлар танинлар сапонинлар феноллар
2	цитотоксик	<i>Alternaria sp.</i> -VM84L <i>Alternaria sp.</i> -VM85L <i>P.lilacinum</i> -VM86S <i>P.concavoradulozum</i> -VE89L <i>A.terreus</i> -VE90R <i>C.cladosporoides</i> -VE92L <i>P.syriacum</i> -VE93R <i>E.brefeldianum</i> -VE97R <i>Alternaria sp.</i> -VE98L <i>A.amstelodami</i> -VR177L <i>A.terreus</i> VR176L <i>A.nigricans</i> – VR179L <i>P.radulatum</i> -AF105 <i>Penicillium sp.</i> -AF120	<i>Vinca minor</i> <i>Vinca erecta</i> <i>Vinca rosea</i> <i>Allium filidens</i>	винка- алкалоидлар: винкрестин винбластин
3	антикоагулянт	<i>Acremonium sp.</i> - OB2S <i>Alternaria sp.</i> – OB6L <i>F.culmorum</i> – MP11R <i>Acremonium sp</i> MP13R <i>Alternaria sp.</i> – CS53S	<i>Ocimum basilicum</i> <i>Mentha piperita</i> <i>Crocus sativus</i>	сапонинлар
4	гипогликемик	<i>Penicillium sp.</i> -HT165S <i>A.egypticus</i> -HT166S <i>A.terreus</i> - AF104S	<i>Helianthus tuberosus</i> <i>Allium filidens</i> <i>Chelidonium majus</i>	сапонинлар терпенлар танинлар

		<i>Penicillium sp.</i> - AF120 <i>A. terreus</i> – CM40L <i>P. brevicaula alba</i> - CC200	<i>Celosia cristata</i>	феноллар
5	меланин синтезловчи	<i>Alternaria sp.</i> - FFL63 <i>Ulocladium sp.</i> - FFL64 <i>Alternaria sp.</i> – HTL193 <i>Cladosporium sp.</i> - HT206	<i>Ferula foetida</i> <i>Helianthus tuberosus</i>	меланинлар
6	липид синтезловчи	<i>Sclerotium minorum</i> - VM83R	<i>Vinca minor</i>	моно-, ди-, триглицеридлар
7	фитогормон синтезловчи	<i>Alternaria sp.</i> - FF63L <i>A. terreus</i> - FF65L <i>F. sambucinum</i> - FF59S <i>Fusarium sp.</i> -TSch72L	<i>Ferula foetida</i> <i>Tulipa scharipovii</i>	ИУК ва ГК



9 - расм. Модификаторлар қўшилганида *P. concavoradulozum* - VE89L ва *A.amstelodami* – VR177L экстрактларининг ЮССХ профили

ЭЗлар ўсимлик микроэкоцизимларининг нисбатан мухим элементларидан бири бўлишига қарамасдан, ЭЗ ва хўжайин-ўсимлик орасидаги муносабатлар аниқланмаган масала бўлиб қолмоқда. Шу сабабли, биз *V.rosea* ўсимлик экстрактини, шу ўсимлик билан боғлиқ бўлган, *A.amstelodami-VR177L* штамми ва *V.erecta* ўсимлигидан ажратиб олинган *P.concavoradulozum-VE89L* штаммининг морфологик-культурал хоссалари ва метаболит профилга таъсирини ўргандик.

V.rosea экстракти мавжуд бўлган ўстиришда *V.erecta* ўсимлигидаги *P.concavoradulozum-VE89L*да пигментация ранги ўзгариши, дисперс культура зичлигининг ва гифалар қалинлигининг пасайиши, биомассасининг икки баробарга ва иккиламчи метаболитлар умумий даражасининг камайиши кузатилган. *A.amstelodami-VR177L* хўжайин-ўсимлик экстракти билан ўстириш натижасида ҳам пигментацияси ва гифалар қалинлиги ўзгармаган ҳолда, сезарли ўсиши билан иккиламчи метаболитлар умумий даражасининг ошиши ва метаболитлар таркибида винбластин улушининг икки баробарга ортиши кузатилди. Биз олган маълумотлар, маълум бўлган эндофитнинг хўжайинга нисбатан спецификлиги тўғрисидаги феноменга мос келади яъни эндофит ва ўсимлик ўртасида ўзаро яқин иккиламчи метаболитлар шаклланишини таъминовчи биосинтезнинг умумий биокимёвий йўллари мавжуд эканлиги аниқланган. Ассоциацияланган штаммда алкалоидларнинг ишлаб чиқаришига ўсимлик метаболитларининг стимулловчи таъсири *A.amstelodami-VR177L*даги винка-алкалоидлар биосинтези бевосита *V.rosea* метаболитлари билан боғлиқ ёки уларнинг назоратида бўлади.

Шундай қилиб, олинган маълумотлар Ўзбекистон доривор ўсимликларнинг ЭЗнинг хилма-хиллиги ва иқтисодийнинг турли тармоқларида истиқболли биотехнологияларни ривожлантириш учун табиий биофаол бирикмаларнинг муқобил манбаси сифатида улкан ҳисса қўшишидан далолат беради.

ХУЛОСА

1. Илк бор Ўзбекистонда ўсимликларнинг эндофит микробиотасининг хилма-хиллиги ва тарқалиши кўрсатилган. 28 доривор ўсимликлардан ЭЗнинг 208 изоляти ажратиб олинган бўлиб улар 20 авлодга мансуб бўлган 45 турни ташкил этади. Ўрганилган ўсимликларда ЭЗнинг катта микдори баргларида – 33%, поя ва томирлардан 26% ва 21% изолятлар тўпланган. Доминант авлод бу *Aspergillus* - 32%, *Alternaria* - 17%, *Penicillium* – 14%, *Acremonium* - 10%, *Fusarium* ва стерил мицелийга эга изолятлар – 8%. Илк бор Ўзбекистонда олдин ажратилмаган ЭЗнинг 24 ноёб тури аниқланган. Ноёб турлар республикамизнинг ўрганилган барча округларида ўсувчи 8 ойлага мансуб бўлган 13 тур ўсимликларда аниқланган.

2. Антимикроб хусусиятларини ўрганишда, ЭЗ умумий микдорининг 30% *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis* ва *C.albicans* шартли-патоген тест-култураларга антибактериал фаоллиги аниқланган. *M.officinalis*, *A.filidens*, *C.cristata*, *H.tuberosus* ва *P.harmal*дан ажратилган бир нечта антибактериал фаолликка эга 6 штамм танлаб олинган. *T.microspora* –

MO46L биофаол метаболитлари таркибида терпен ва сапонинлар мавжудлиги қайд этилган.

3. *Vinca* ва *Allium* авлодига мансуб бўлган ўсимликлардан ажратилган 34 ЭЗ штамларнинг саратонга қарши хусусиятларини ўрганишда, бачадон бўйни (HeLa), ҳалқум (Ger-2) ва сут безлари (HBL-100) карцинома хужайларига қарши, ўрганилган экстрактларнинг 9тасида паст концентрацияларда цитотоксик фаоллик аниқланган. Бўригул эндофитлари *P.concavoradulozum-VE89L*, *A.terreus-VE90R*, *C.cladosporoides-VE92L*, *Alternaria sp.-VM84L* ва *A.amstelodami-VR177L* штамларининг цитотоксиклиги винкрестин ва винбластин ишлаб чиқарилиши билан изоҳланади.

4. Дашт худуди ўсимликларидан протромбинли тест бўйича антикоагулянт хоссаларига эга ЭЗ ажратиб олинган. Аниқланишича, *Acremonium sp.-OB2S*, *Alternaria sp.-OB6L*, *Acremonium sp.-MP13R* ва *Alternaria sp.-CS53S* штамлари протромбин шаклланиш вақтини 300 сониядан кўпроқ вақтга тормозлаш хоссасига эга иккиламчи метаболитларни ишлаб чиқарган.

5. ЭЗнинг 67 штамми *in vitro* тизимида панкреатик α -амилаза фаоллигини 20 дан 80% гача чеклаш хоссасига эга. *A.egypticus-HT166S*, *P.brevicaule alba-CC200* ва *A.terreus-AF104S* штамлари IC50 кўрсаткичи бўйича акарбоза (30 мг) билан солиштирилганда нисбатан паст кўрсаткичлари билан (20-25 мг) фарқ қилади. Аллоксан-индуцирлаган диабетга эга тажриба ҳайвонларда ўтказилган *P.brevicaule alba-CC200* йиғма экстрактининг клиник олди тажрибалари гипергликемия кўрсаткичларининг ишончли пасайишини намоён этади.

6. *Alternaria sp.-FFL63*, *Ulocladium sp.-FFL64*, *S.minorum-VMR83*, *Alternaria sp.-HTL193*, *Cladosporium sp.-HT206* штамлар 30% гача меланин табиатли пигментларни ишлаб чиқаради. Таркибида 30% меланин тутган *S.minorum-VMR83* штаммида моно-, ди- ва триглицеридлар умумий йиғиндисидан иборат 30%дан ортиқ липидлар мавжудлиги қайд этилган.

7. Антибактериал ва цитотоксик фаолликка эга ЭЗнинг аксеник ўстириш шароитларини танлаш оркали иккиламчи метаболитларини ишлаб чиқариш ва ўсишни бошқариш принципиал имконияти кўрсатилган. *V.rosea* хўжайин-ўсимлигининг метаболитлари ва эпигенетик модификаторлар *P.concavoradulozum-VE89L* ва *A.amstelodami-VR177L* штамларда винка-алкалоидлар ишлаб чиқаришни бир неча марта ошишига ёрдам бериши билан изоҳланган.

8. Илк бор Ўзбекистонда ўсимликларнинг ЭЗ коллекцион базаси, жумладан, турли биофаоллика эга иккиламчи метаболитларни ҳосил қилиш қобилиятига эга бўлган ноёб турлар тўпланган – бу тадқиқотнинг асосий фундаментал натижаси ҳисобланади. Олинган амалий маълумотлар табиий биофал бирикмаларнинг муқобил манбаси сифатида ЭЗга асосланган янги биотехнологияларни ишлаб чиқиш ва ривожлантириш бўйича амалий тадқиқотлар учун катта истиқболларини очиб беради.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019.В.38.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ МИКРОБИОЛОГИИ**

ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ

АБДУЛЬМЯНОВА ЛИЛИЯ ИЛЬЯСОВНА

**РАЗНООБРАЗИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ
УЗБЕКИСТАНА**

03.00.04. – микробиология и вирусология

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК (DSc)**

Ташкент - 2021

Тема диссертации доктора наук (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан под номером B2017.2.DSc/B48.

Диссертация выполнена в Институте микробиологии Академии Наук РУз.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (microbio@academy.uz) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный консультант:

Гулямова Тошхон Гафуровна,
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Исмаилов Зафар Файзуллаевич,
доктор биологических наук, профессор

Нуралиев Неккадам Абдуллаевич
доктор медицинских наук, профессор

Мячина Ольга Владимировна,
доктор биологических наук

Ведущая организация:

Национальный Университет Узбекистана

Защита диссертации состоится «21» декабря 2021 года в 10:00 часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.B.38.01 при Институте микробиологии (Адрес: 100128, г.Ташкент, Шайхонтохурский район, ул. А.Кадырий, 7Б, конференц-зал Института микробиологии. Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс: (+99871) 241-92-71, e-mail: microbio@academy.uz.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института микробиологии (зарегистрировано за № ____). Адрес: 100128, г.Ташкент, Шайхонтохурский район, ул. А.Кадырий, 7Б, административное здание Института микробиологии, 5-й этаж, библиотека. Тел.: (+99871) 241-92-28.

Автореферат разослан: “__” _____ 2021 г.

(реестр протокола рассылки № __ от “__” _____ 2021г.).



Арипов

Арипов Тахир Фатихович
Председатель Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., профессор, академик

Жураева

Жураева Рохила Назаровна
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученых степеней, к.б.н.

Ахмедова

Ахмедова Захро Рахматовна
Зам.председателя Научного семинара при Научном совете
по присуждению ученых степеней д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (Аннотация диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации. Огромное внимание в мире уделяется поиску новых высокоэффективных натуральных биологически активных веществ, имеющих минимальное влияние на окружающую среду. По оценкам ВОЗ, 30% из общего числа 70 миллионов ежегодных смертей происходят из-за повышенной множественной лекарственной устойчивости патогенов, возникающей при спонтанной или индуцированной мутации. Увеличение популяции людей, погибающих от новых респираторных синдромов: SARS, MERS, COVID-19 и их последствий, связанных с ослаблением иммунной системы, требует новых лекарств. Необходимы также новые эффективные препараты и для лечения диабета, ожирения, ряда хронических сердечно-сосудистых и нервно-дегенеративных расстройств.

Во всем мире растительные натуральные продукты по-прежнему остаются важным источником потенциальных лекарственных средств. Однако, экстракция из растений имеет ряд неудобств, так как она зависит от сезонно-климатических условий и может повлечь экологические проблемы. Альтернативой являются биотехнологические подходы с использованием микроорганизмов, в том числе и эндофитных, для разработки неистощаемых, недорогих и возобновляемых ресурсов высокоценных биоактивных продуктов. Эндофиты - удивительно разнообразная, но мало изученная часть микробиома растений. Обитая в эндосфере и не вызывая признаков заболевания, эндофиты состоят в незаметной ассоциации со своими растениями-хозяевами и играют важную роль в улучшении роста и развития растений. Эндофитный микробиом обладает способностью продуцировать соединения, в том числе, вещества, аналогичные или идентичные растительным, а также новые ранее неизвестные биоактивные молекулы, обладающие потенциалом в качестве источника новых лекарственных продуктов. В этой связи, изучение эндофитов - богатого резервуара биоразнообразия и альтернативного источника биоактивных соединений - открывает большие как фундаментальные, так и прикладные перспективы.

В республике, в целях обеспечения внутреннего рынка импортозамещающими, качественными и эффективными лекарственными препаратами, уделяется особое внимание отечественным научным разработкам на основе местных штаммов микроорганизмов. В этом отношении, получены определенные результаты по обнаружению вторичных метаболитов активных эндофитных грибов и оценке их научного и практического значения. В Стратегии дальнейшего развития Узбекистана³ намечены задачи «по организации проведения научно-исследовательских работ для дальнейшего внедрения инновационных технологий в процессы производства лекарственных средств и выработке предложений по насыщению внутреннего рынка и локализации производства лекарственных средств».

³ Указ Президента Республики Узбекистан за № ПУ-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

В целях реализации поставленных Президентом задач, исследования по выделению и изучению биоактивных свойств эндофитов, обитающих в растениях Узбекистана, для их применения в производстве терапевтических препаратов являются весьма актуальными и своевременными. Необходимо отметить, что исследование разнообразия и биопотенциала эндофитов местных растений, ранее в республике не проводились.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан за № ПУ-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», Указом Президента Республики Узбекистан за № ПУ-5707 от 10 апреля 2019 года «О дальнейших мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2019-2021 годах», Постановлением Президента Республики Узбекистан за № ПП-4554 от 30 декабря 2019 года «О дополнительных мерах по углублению реформ в фармацевтической отрасли Республики Узбекистан», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий в республике. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики – VI «Медицина и фармакология».

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации.⁴ Исследования биологической активности эндофитной микробиоты растений различных экосистем, оптимизации условий аксенического культивирования, методов экстракции и очистки вторичных метаболитов, выделения индивидуальных соединений и определения их структуры проводятся во многих научных центрах и высших образовательных учреждениях США, Канады - University of Guelph; Европы: Германия - Technical Universities Dresden; Швеция - Swedish University of Agricultural Sciences; Востока и Азии: Южная Корея - Institute of Biotechnology and Medical Converged Science; Китай – Chinese Academy of Medical Sciences; Индия – AMITY; Египет - Mansoura University; Израиль - The Jacob Blaustein Institute for Desert Research; Австралия – Университет Нового Южного Уэльса; Малайзия - Universiti Kebangsaan; России: МГУ им. М.В. Ломоносова, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского.

Особое внимание уделяется эндофитам лекарственных, редких и эндемичных растений, поскольку в процессе коэволюции эндофиты приобрели родственные биохимические свойства с растениями-хозяевами. При этом достаточно часто обнаруживаются новые и редкие виды эндофитов, что имеет чрезвычайно важное значение для сохранения видового разнообразия в целом.

⁴Обзор по теме диссертации разработан на основе зарубежных <https://www.omicsonline.org/microbiology-journals.php>; <http://journal.sapub.org>; <https://www.mdpi.com>; <https://www.sciencepublishinggroup.com>; <https://publons.com>; <https://www.jmbfs.org>; <https://ores.su/ru/journals>; <https://www.journals.elsevier.com> и других источников.

В настоящее время у эндофитов выявлены антимикробные (Institute of Medicinal Plant Development, Китай), противораковые (University of Sydney, Австралия, Jagiellonian University, Польша) антикоагулянтные (University of Chittagong, Бангладеш), антиоксидантные (Mangalore University, Индия) противодиабетические (Centre for Research in Nanotechnology, Индия; Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Иран) и ростстимулирующие свойства (Shanxi University, Китай). Качественный состав вторичных метаболитов эндофитов включает соединения различных структурных групп: терпеноиды, стероиды, ксантоны, хиноны, фенолы, изокумарины, бензопираноны, тетралоны, цитохалазины, множество классов антибиотических веществ, фунгицидов, ферментов, пигментов.

Большое внимание также уделяется изучению системного и органного распространения эндофитов, их взаимодействию с растениями-хозяевами (University of Arizona, США, University of Cordoba, Испания, University of Western Australia, Австралия, Kyungpook National University, Южная Корея).

В мировой практике, наряду с исследованиями по выделению и идентификации новых соединений из ЭГ, также проводится ряд исследований по приоритетным направлениям, в частности: изучение метаболических путей для установления ключевых факторов, влияющих на накопление метаболитов; исследование генетической стратегии разблокировки молчащих генов для получения устойчивого уровня продукции ценных вторичных метаболитов; оптимизация биопроцессов для аксенической культуры по стратегии OSMAC, включающая совместное культивирование, обеспечивающее эндофиту окружение *in planta*; исследование экологических взаимодействий эндофитов с растениями-хозяевами для получения ассоциированных с хозяином и новых вторичных метаболитов ЭГ.

Степень изученности проблемы. Биология эндофитов, в частности эндофитных грибов (ЭГ), это новое направление микробиологической науки, получившее бурное развитие за последние две декады. За это время было проведено множество исследований, решающих вопросы разнообразия и закономерностей распространения ЭГ в растениях, позволяющих заключить, что ЭГ бесспорно представлены обилием неисследованного и нового разнообразия, как с микологической, так и химической точек зрения.

К настоящему времени твердо установлено, что ЭГ продуцируют биологически активных вторичные метаболиты с антимикробной, противоопухолевой, антиоксидантной, цитотоксической, гипогликемической, гипотензивной активностью, и очевидно, что ЭГ будут одним из основных источников вторичных метаболитов в ближайшем будущем. Вместе с тем, в биологии эндофитов еще очень много нерешенных проблем. Важнейшей из них является вопрос о сохранении продукции вторичных метаболитов в условиях искусственного культивирования, для решения которого необходимо исследование мультитрофных взаимодействий эндофитного сообщества с растениями-хозяевами, и выяснения метаболических путей биосинтеза активных метаболитов.

Несмотря на наличие у нас в республике богатейшей флоры, в том числе эндемичной, подвергающейся изменениям резко-континентального климата, что обуславливает и предполагает невообразимое разнообразие эндофитной популяции, фундаментальные исследования в данном направлении не проводились.

В этой связи, выделение ЭГ из местных лекарственных растений, изучение их разнообразия и биоактивных свойств метаболитов, востребованных для применения в различных отраслях народного хозяйства, имеет не только фундаментальное, но и огромное научно-практическое значение.

Связь темы диссертации с планом научно-исследовательских работ учреждений, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ фундаментальных и прикладных проектов Института микробиологии: ФА-Ф5-Т218 «Эндофитная микробиота лекарственных растений Узбекистана» (2012-2016 гг.), ВА-ФА-А6-005 «Разработка условий продукции биоактивных вторичных метаболитов эндофитных грибов некоторых лекарственных растений Узбекистана при искусственном культивировании» (2017-2018 гг.).

Целью исследования является определение распространения, разнообразия и свойств эндофитных грибов лекарственных растений, произрастающих в различных регионах Узбекистана как нового потенциального источника биоактивных соединений.

Задачи исследования:

выделение, идентификация, оценка разнообразия и распространения эндофитных грибов в растениях из различных биотопов;

определение различных типов биоактивности метаболитов, выделенных эндофитных изолятов;

подбор условий выделения и фракционирования вторичных метаболитов эндофитных грибов; определение фитохимического состава биоактивных метаболитов;

изучение возможности регуляции роста и продукции биоактивных метаболитов в условиях аксенического культивирования.

Объектом исследования явились ЭГ, населяющие лекарственные растения Узбекистана из различных биотопов республики.

Предметом исследования явилось определение разнообразия, системного распространения ЭГ отобранных растений, особенностей продукции биоактивных метаболитов в условиях аксенического культивирования, идентификация метаболитов с различной биоактивностью и создание коллекционной базы ЭГ, представляющих фундаментальный и прикладной интерес.

Методы исследования. При проведении исследований применялись классические и современные методы микробиологии, биохимии, молекулярной биологии, методы доклинического исследования новых фармакологических веществ.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

Впервые на примере 28 растений, обитающих в различных регионах республики, показано богатое разнообразие ЭГ (более 200 штаммов), включающих представителей 20 родов, отнесенных к 45 видам. 33% от общего числа изолятов ЭГ в исследованных растениях локализовано в листьях, 26% - в стеблях и 21% - в корнях. Специфичность системного обитания эндофитов выражена в преимущественном распространении фузарий и акремоний в корнях, аспергиллов и пенициллов - в стеблях, альтернаний - в листьях.

Доминирующим родом является *Aspergillus*-32%, *Alternaria*-17%, *Penicillium*-14%, *Acremonium*-10%, *Fusarium* и изоляты со стерильным мицелием-8%. Впервые обнаружено 24 редких вида ЭГ, которые раньше в Узбекистане не выделялись. Редкие виды обнаружены в 13 растениях, отнесенных к 8 семействам, произрастающим во всех исследованных округах республики.

Установлено, что 30% ЭГ обладают антибактериальной активностью к условно-патогенным тест-культурам: *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis* и *C.albicans*. Отобрано 6 ЭГ из *M.officinalis*, *A.filidens*, *C.cristata*, *H.tuberosus* и *P.harmala*, проявляющих множественную антибактериальную активность одновременно к 3 тест-культурам. В составе биоактивных метаболитов *T.microspora*-MO46L обнаружены терпены и сапонины.

Выявлена цитотоксическая активность метаболитов 34-х ЭГ растений рр. *Vinca* и *Allium* против клеток карциномы шейки матки (HeLa), гортани (HEp-2) и молочных желез (HBL-100). Активность на уровне противоопухолевого препарата «Cisplatin» обнаружена у 9 ЭГ барвинка. Цитотоксичность *Alternaria sp.*-VM84L, *P.concavoradulozum*-VE89L, *A.terreus*-VE90R, *C.cladosporoides* - VE92L, *A.amstelodami* - VR177L обусловлена продукцией винкристина и винбластина.

Из растений степной зоны базилика, мяты и шафрана отобрано 4 ЭГ с антикоагулянтными свойствами: *Acremonium sp.*-OB2S, *Alternaria sp.*-OB6L, *Acremonium sp.*-MP13R и *Alternaria sp.*-CS53S, продуцирующие вторичные метаболиты, повышающие протромбиновое время крови человека более чем на 300 секунд.

Обнаружены ЭГ подсолнечника клубненосного, петушиного гребешка и лука нитезубого, способные подавлять активность панкреатической α -амилазы в системе *in vitro* до 80%. Экстракты *A.egypticus*-HT166S, *P.brevicaule alba* - CC200 и *A.terreus* - AF104S отличались низким значением IC50 (20-25 мг) по сравнению с акарбозой (30 мг). Доклинические испытания суммарного экстракта *P.brevicaule alba*-CC200 из *C.cristata* (сем. Амарантовые) на экспериментальных животных с аллоксан-индуцированным диабетом достоверно показали гипогликемический эффект.

Выявлены темносептированные ЭГ: *Alternaria sp.*-FFL63, *Ulocladium sp.*-FFL64, *S.minorum*-VMR83, *Alternaria sp.*-HTL193, *Cladosporium sp.*-HT206, накапливающие 20-30% пигментов меланиновой природы. Продукция меланина в *S.minorum*-VMR83, составила 30%, сопровождалась также образованием 30% липидов, представляющих собой сумму из моно-, ди- и триглицеридов.

Показана принципиальная возможность регуляции роста и продукции антибактериальных и цитотоксических соединений подбором условий культивирования отобранных ЭГ. Внутриклеточные метаболиты растения-хозяина (*V.rosea*) и эпигенетические модификаторы способствуют многократному повышению уровня винка-алкалоидов в *P.concavoradulozum-VE89L* и *A.amstelodami-VR177L*.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

впервые собрана коллекционная база ЭГ, в том числе и редко выделяемых, представляющая разнообразие эндофитной микобиоты изученных растений Узбекистана;

отобраны ЭГ с доказанными биоактивными свойствами метаболитов (антибактериальными, цитотоксическими, гипогликемическими, меланин синтезирующими);

обоснованы рекомендации по культивированию ЭГ с высокой антибактериальной и винка-алкалоид синтезирующей способностью в условиях аксенического культивирования.

Достоверность полученных результатов подтверждается тем, что, экспериментальные данные получены с применением современных микробиологических, биохимических и физических методов; статистической обработкой результатов при помощи критерия Стьюдента и дисперсионного анализа Фишера (ANOVA), а также опубликованностью проведенных исследований в ведущих зарубежных журналах с высоким импакт-фактором, базе данных Scopus и практическим внедрением результатов.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость настоящего исследования сводится к тому, что в работе впервые заложено начало развития биологии эндофитов в Узбекистане. Новые сведения о распространении и разнообразии ЭГ, системной специфичности, частоте встречаемости и колонизации растений, произрастающих в различных регионах, свидетельствуют о взаимоотношениях эндофит – растение – среда, что имеет важное значение для сохранения видового и химического разнообразия в целом. Научная значимость данных о биоактивных свойствах эндофитов обусловлена тем, что они свидетельствуют о многообразии биосинтетических путей, присущих выделенным ЭГ.

Представленные данные о спектре биологической активности и химической природе метаболитов, выделенных ЭГ, имеют важное практическое значение для разработки новых биотехнологий на основе эндофитов как альтернативного источника природных биоактивных соединений. Выделенные ЭГ - продуценты биоактивных веществ могут служить объектом для разработки различных терапевтически ценных продуктов и способствовать расширению перечня антибиотических, противораковых и антидиабетических препаратов, предлагаемых местным фармацевтическим производством.

Внедрение результатов исследования. На основании результатов исследований по биоактивности ЭГ:

Получен патент Агентства Интеллектуальной собственности Республики Узбекистан (№ IAP 06366, 2020) на штамм ЭГ *A.terreus Thom Uz CF-461* - продуцент комплекса гидролитических ферментов. В результате показана возможность гидролиза клеточных оболочек фитопатогенов, промышленных и растительных отходов продуцентом комплекса гидролитических ферментов эндо-, экзо-1,4-β-глюканаз, ксиланаз, авицелаз, хитиназ и протеаз;

Наиболее активные штаммы ЭГ *P.brevicaule alba-CC200*, *A.terreus-AF104S* и *A.egypticus-HT166S*, выделенные из *C.cristata*, *A.filidens* и *H.tuberosus* использованы в рамках прикладного проекта ФА-А6-Т109: «Метаболиты ЭГ лекарственных растений Узбекистана как ингибиторы α-амилазы» (Справка Академии Наук Республики Узбекистан за № 4/1255-2773 от 11 октября 2021 года). В результате реализации проекта разработан лабораторный регламент по технологии получения препаратов с гипогликемическими свойствами;

Результаты проведенных исследований по разнообразию и свойствам ЭГ, выделенных из растений родов *Allium*, *Celosia*, *Ferula*, *Helianthus* и *Vinca* цитируются в публикациях 8 ведущих зарубежных журналах с высоким импакт-фактором (IF): *Agriculture* (2020); IF-2.072, ISSN2077-0472, (Scopus); *South African Journal of Botany* (2020), IF-2.29, ISSN0254-6299, (Scopus), *Journal of Food and Nutrition Research* (2020), IF-1.308, (Scopus), *Industrial Crops and Products* 139(2019)111511, IF-4.191, ISSN0926-6690, (Scopus), *Journal Mycosphere*, 10(1):798-1079 (2019), IF-2.015, ISSN2077000, (Scopus), *Frontiers in Microbiology*, (2018), IF-4.235, (Scopus), *Microbial Biotechnology* (2017), IF-5.328, ISSN1751-7915, (Scopus), *Journal Acta Pharmaciae Indonesia*, (2018), 6(1)12-19, ISSN2337-8433, E-ISSN 2621-4520 (Web of Science). Эти данные позволили открыть новые биоактивные свойства ЭГ различных растений других стран.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были представлены и обсуждены на 8 республиканских и 12 международных конгрессах и научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 52 научные работы, получен 1 патент, 15 научных статей, из них 8 в зарубежных и 7 в республиканских журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, пяти глав, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Объем диссертации составляет 193 страницы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснованы актуальность и востребованность исследуемой темы, цель и задачи исследования, охарактеризованы объект и предмет изучения, представлены научная новизна и практические результаты, раскрыта научная и практическая значимость полученных результатов,

показано внедрение в практику результатов исследования, представлены сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Разнообразие и биоактивные свойства**» дана научно-историческая сводка, анализ современного состояния исследований по распространению ЭГ, их разнообразию и биологическому потенциалу. Представлены сведения о взаимодействии ЭГ с растениями-хозяевами и показана возможность аксенического культивирования эндофитов с целью достижения устойчивой продукции вторичных метаболитов.

Во второй главе диссертации «**Выделение, культивирование, идентификация и хранение**» описаны методы выделения, идентификации, хранения местных штаммов ЭГ, их глубинного и поверхностного культивирования; методы получения суммарных экстрактов и отдельных фракций вторичных метаболитов; качественные и количественные методы определения антибактериальной, цитотоксической, антикоагулянтной, ингибиторной, меланин, липид и фитогормон синтезирующей активностей, методы ТСХ, ВЭЖХ для определения винка алкалоидов, методы фитохимического анализа состава экстрактов.

В третьей главе диссертации «**Лекарственные растения Узбекистана - новый источник ЭГ**» приведены собственные результаты по выделению и идентификации изолятов ЭГ из лекарственных растений, произрастающих в 4 физико-географических округах республики, отличающиеся климатом, высотой над уровнем моря и относящиеся к различным поясам. Растения собраны и любезно предоставлены сотрудниками Института сохранения генофонда животного и растительного мира АНРУз под руководством академика Тожибаева К.Ш.

Для выделения ЭГ мы использовали модифицированный метод стерилизации, включающий экспозицию частей растений, промытых под проточной водой, последовательно в 70% этаноле, 1,5% гипохлорите натрия в течении 1 минуты с последующим ополаскиванием стерильной водой и посевом ее для контроля стерильности. В асептических условиях растения измельчали стерильным скальпелем до толщины срезов не более 5 мм и выкладывали на плотную питательную среду, содержащую антибиотик для предотвращения бактериального роста.

В совокупности было исследовано более 1,9 тыс. сегментов 28 растений и выделено в чистую культуру 208 эндофитных изолятов грибов, выросших из образцов тканей на поверхности агара в течении 7-28 суток.

При анализе системного распределения и частоты колонизации органов растений, ЭГ обнаружены в стеблях почти всех исследованных растений, за исключением *Lagochilus olga*, *Ferula sumbul* и *Haloxylon persicum*. Вероятно, стебель как проводниковая система растений является наиболее удобным органом выделения ЭГ методом среза.

Самое большое число ЭГ в исследованных растениях выявлено в листьях – 33%. Из стеблей и корней получено 26% и 21% изолятов, соответственно. Частоту колонизации (ЧК, % = $N/N_T * 100$), определяли по Nata

с сотр., в группах растений, произрастающих в степной полупустынной и пустынной зонах республики (Рис. 1).

Наиболее богатыми по эндофитному составу являются растения степной зоны. Листья, стебли и корни растений степей колонизированы ЭГ на 30%; 47% и 68%, соответственно. При этом, наибольшее число ЭГ приходится на корни растений, что отличается от растений полупустынной и пустынной зон, в которых наблюдается резкое снижение количества выделяемых ЭГ именно из корней. Безусловно, это объясняется тем, что полупустынные и пустынные зоны характеризуются бедными по питательным веществам и содержанию влаги почвами. Кроме того, состояние корневой системы растений также отличалось сухой одеревенелой структурой, что само по себе не предполагало возможность обнаружения жизнеспособной микрофлоры. Тем не менее, в 4,6% пустынных растений удалось выделить ЭГ из корневой системы. Относительно низкая колонизация листьев пустынных растений может быть обусловлена редуцированием листьев в сухие колочки. Наши данные также показывают высокую степень колонизации всех органов степных растений, и большую частоту встречаемости эндофитов в корнях. В растениях полупустынь наблюдается почти равное распространение ЭГ в исследованных органах, лишь в меньшем соотношении, чем в растениях степей, и составляет 43%, 30,2% и 27,2%, соответственно. (Рис. 2). Надо особо отметить, что различие в эндофитном сообществе грибов в надземных и подземных частях растений из суровой среды обитания является важным научным вопросом, который еще не нашел однозначного решения.



Рисунок 1. Общее системное распределение ЭГ в различных органах исследованных растений

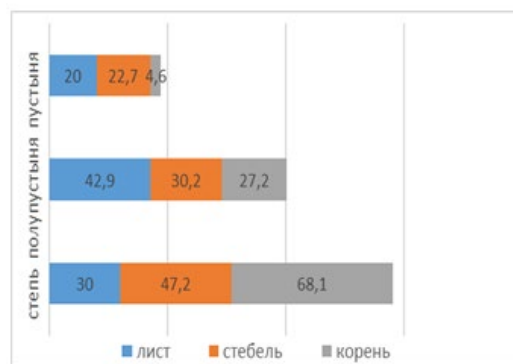


Рисунок 2. Частота колонизации (%) ЭГ органов растений степной, полупустынной и пустынной зон

Идентификацию выделенных изолятов проводили классическими методами, сопоставляя макроскопические и микроскопические признаки исследуемых культур с ранее описанными признаками известных грибов. Установлено, что в состав эндофитной микрофлоры входят представители 20 родов. 45 изолятов идентифицированы до вида. Большинство изолятов относятся к классу *Eurotiomycetes* - 20 видов, представленному 2 родами. Максимальное родовое разнообразие наблюдали в классе *Sordariomycetes* - 11 родов, содержащем 14 видов. Класс *Dothideomycetes* представлен 3 родами и 8 видами, класс *Zygomycetes* – 2 видами и 2 родами, класс *Agonomycetes* –

лишь 1 видом и 1 родом. 16 изолятов оказались *Mycelia sterilia*, вследствие чего их невозможно идентифицировать классическими методами (Табл.1).

Таким образом, ведущим по количеству видов, является отдел *Ascomycota*, включающий порядки *Eurotiales* (20 видов - 44% от всего видового разнообразия), *Hypocreales* (8 видов - 18% от всего видового разнообразия), *Pleosporales* и *Sphaeriales* (по 5 видов - 11% от всего видового разнообразия). Порядки *Trichosphaeriales* и *Capnodiales*, а также порядок *Mucorales* из отдела *Zygomycota* и порядок *Aganomycetales* из типа *Anamorphic fungi* представлены всего 1-2 видами. Представители отдела *Basidiomycota* обнаружены не были.

Наиболее выделяемыми были представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Alternaria*, из которых обнаружены по 4-5 видов, остальные роды представлены 1-2 видами, такими как *Sclerotium*, *Monilia*, *Myrothecium*, *Nigrospora*, *Gliomastix*, *Ulocladium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Thielavia*, *Dichotomyces*, *Microascus*, *Cunninghamella*. При этом о специфичности системного обитания ЭГ говорят данные, указывающие на большую частоту выделяемости фузарий и акремоний в корнях растений, аспергиллов и пенициллов - в стеблях, альтернаний - в листьях.

Наиболее часто выделяемым независимо от типа отбираемой ткани был вид *A. terreus*. В то же время другие виды рода *Aspergillus*, также обладают низкой тканевой специфичностью, то есть обнаруживаются в различных частях различных растений. При этом отмеченное разнообразие видов именно у рода *Aspergillus* (*A. ochraceus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. ustus*, *A. repens*, *A. egypticus*, *A. ochraceus*, *A. amstelodami*, *A. roseovelutinum*, *A. spectabilis*, *A. terricola*), вероятно, позволяет данным грибам оккупировать все новые растения, распространяясь во всех их частях. По литературным данным относительная доля и разнообразие р. *Penicillium* в умеренных и южных широтах значительно ниже, чем р. *Aspergillus*, что полностью повторяется в наших исследованиях: видовое разнообразие аспергилл в 1,5 раза больше пеницилл.

Согласно Калашниковой К.А. 22% неспорулирующих на стандартных средах микромицетов, выявленных в тропических лесах Вьетнама, относилась к порядку *Pleosporales*. Полученные нами данные также показали наибольшее количество неспорулирующих видов (13,5%) у рода *Alternaria*, порядка *Pleosporales*, несмотря на субтропический пояс, в котором расположена республика. Также показано, что роды *Absidia* и *Cunninghamella* в тропиках встречаются чаще, чем *Mucor* или *Rhizopus*, распространенные в северных широтах. В нашем регионе нами выявлены как «северные» роды *Mucor*, так и «южные» - *Cunninghamella*.

Относительный процент встречаемости ОПВ (%) = $M/Mt \cdot 100$, характеризующийся плотностью заселения данным видом, определяли по Kamalraj. Наибольшая встречаемость видов характерна для родов *Aspergillus* (32%), *Alternaria* (17%), *Penicillium* (14%), *Acremonium* (10%) и *Fusarium* (8%). Необходимо особо отметить, что встречаемость изолятов со стерильным мицелием, не поддающихся идентификации классическими

методами составила 8%, что свидетельствует о значительном запасе биоразнообразия ЭГ местных лекарственных растений (Табл. 1).

Согласно существующим представлениям, одним из важнейших аспектов исследования эндофитной микрофлоры является обнаружение новых ранее не известных и/или редких видов. В результате анализа видовой принадлежности выделенных ЭГ, нами впервые было установлено, что в 13-ти видах растений, относящихся к 8 семействам (*Lamiaceae*, *Aposynaceae*, *Apiaceae*, *Zygophyllaceae*, *Amaranthaceae*, *Papaveraceae*, *Amaryllidaceae*, *Asteraceae*), обитают 24 редко выделяемых ЭГ (Рис. 3). Эти данные подтверждают, что лекарственные растения Узбекистана, являются неоспоримо новым источником огромного видового разнообразия ЭГ.

Согласно существующим представлениям, наиболее привлекательным свойством эндофитов является их способность синтезировать соединения, родственные метаболитам растений-хозяев. Именно этим обусловлен пристальный интерес к эндофитам лекарственных растений как альтернативным источникам известных и новых препаратов фармацевтического назначения.

В четвертой главе диссертации «**Биологическая активность**» представлены результаты, свидетельствующие о богатейшей природе вторичного метаболизма ЭГ. Из биомассы ЭГ в фазе позднего стационарного роста, когда происходит активация вторичного метаболизма, выделяли суммарные экстракты вторичных метаболитов и подвергали скринингу по антибактериальной, цитотоксической, антикоагулянтной, ингибиторной, меланин, липид и фитогормон синтезирующей активностям.

Установлено, что 30% штаммов продуцируют вторичные метаболиты с антибактериальной активностью. Из них 68% (42 штамма) эндофитов проявляли активность только к 1 тест-культуре, 22% (14 штаммов) - к двум и лишь 10% (6 штаммов: *T.microspora* - MO46L, *P.waksmani* Zaleski - AF106, *P.brevicaule alba*-CC200, *Cladosporium sp.* -206, *Mucor sp.*-PG124L, *Alternaria sp.*-PG127L) к 3 тест-культурам одновременно с зоной подавления роста свыше 28 мм, что говорит о присутствии антибиотика широкого назначения. Штаммы с антибактериальной активностью были обнаружены у 19 из 28 растений. Основным источником этих эндофитов стали: лимонник, петушиный гребешок, гармала (иссирик) и дикорастущий лук.

Последовательным разделением вторичных метаболитов суммарных экстрактов *T.microspora*-MO46L, *P.aksmani* Zaleski-AF106 и *P.brevicaule alba*-CC200 в различных растворителях были получены отдельные фракции с обогащенной антибиотической активностью. Определение качественного состава метаболитов *T.microspora*-MO46L, показавшего наибольшую антибактериальную активность выявило содержание терпенов и сапонинов, причем их соотношение зависит от условий культивирования.

Таблица 1

Разнообразие ЭГ растений Узбекистана

Класс	Порядок	Семейство	Род	Вид	Кол-во	Част встр., %
<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Aspergillaceae</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>A.ochraceus</i>	3	1,4
				<i>A.terreus</i>	22	10,6
				<i>A.niger</i>	15	7,2
				<i>A.versicolor</i>	2	1,0
				<i>A.flavus</i>	5	2,4
				<i>A.ustus</i>	1	0,5
				<i>A.amstelodami</i>	1	0,5
				<i>A.egypticus</i>	1	0,5
				<i>A.roseovelutinum</i>	1	0,5
				<i>A.repens</i>	1	0,5
				<i>A.spectabilis</i>	1	0,5
				<i>A.terricola</i>	1	0,5
				<i>Aspergillus sp.</i>	13	6,25
				<i>Penicillium</i>	<i>P.brevicom pactum</i>	1
			<i>P.lilacinum</i>		1	0,5
			<i>P. radulatum</i>		1	0,5
			<i>P. Waksmani</i>		1	0,5
			<i>P.rubrum</i>		1	0,5
			<i>P.concavoradulozum</i>		1	0,5
			<i>P. brevicaule alba</i>		1	0,5
<i>Penicillium sp.</i>	20	9,6				
<i>Eupenicillium brefeldianum</i>	1	0,5				
<i>Sordariomycetes</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Nectriaceae</i>	<i>Fusarium</i>	<i>F.culmorum</i>	1	0,5
				<i>F.sambucinum</i>	1	0,5
				<i>Fusarium sp.</i>	15	7,2

		<i>Hypocreaceae</i>	<i>Acremonium</i>	<i>A.roseum</i>	1	0,5
				<i>A.coremioides</i>	1	0,5
				<i>A.nigricans</i>	1	0,5
				<i>Acremonium sp.</i>	17	8,2
			<i>Gliomastix</i>	<i>G.nigricans</i>	1	0,5
			<i>Myrothecium</i>	<i>M.verrucaria</i>	2	1,0
			<i>Monilia</i>	<i>Monilia sp.</i>	1	0,5
	<i>Trichosphaeriales</i>	Не определено	<i>Nigrospora</i>	<i>N.sphaerica</i>	1	0,5
	<i>Sphaeriales</i>	<i>Chaetomiaceae</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Ch.olivaceum</i>	1	0,5
			<i>Thielavia</i>	<i>T.microspora</i>	1	0,5
		<i>Dematiaceae</i>	<i>Dichotomyces</i>	<i>D.cejpii</i>	1	0,5
			<i>Doratomyces</i>	<i>D.purpureofuscus</i>	2	1,0
		<i>Microascaceae</i>	<i>Microascus</i>	<i>M.trigonosporus</i>	1	0,5
<i>Dothideomycetes</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Pleosporaceae</i>	<i>Alternaria</i>	<i>A.chlamydospora</i>	1	0,5
				<i>A.geophila</i>	1	0,5
				<i>A.tenuis</i>	2	1,0
				<i>A.malvae</i>	1	0,5
				<i>A.alternata</i>	1	0,5
	<i>Alternaria sp.</i>	28	13,5			
			<i>Ulocladium</i>	<i>U.consortiae</i>	2	1,0
	<i>Capnodiales</i>	<i>Cladosporiaceae</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>C.cladosporoides</i>	1	0,5
				<i>C.tenussimum</i>	1	0,5
<i>Zygomycetes</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Mucoraceae</i>	<i>Mucor</i>	<i>Mucor sp.</i>	8	3,8
		<i>Cunninghamellaceae</i>	<i>Cunninghamella</i>	<i>Cunninghamella sp.</i>	1	0,5
<i>Agonomycetes</i>	<i>Aganomycetales</i>	<i>Aganomycetaceae</i>	<i>Sclerotium</i>	<i>S.minorum</i>	2	1,0
Изоляты со стерильным мицелием не поддающиеся идентификации классическими методами					16	7,7
5	8	11	20	45	208	


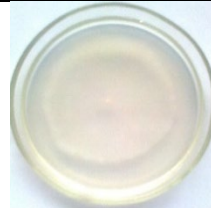
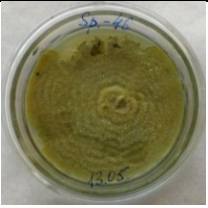



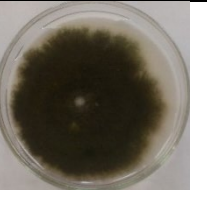



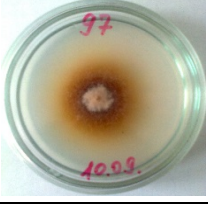
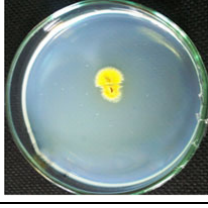
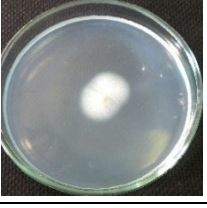
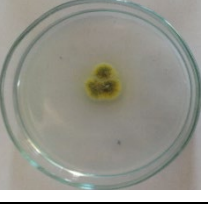




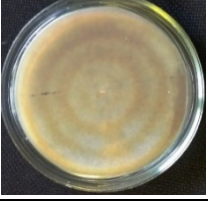

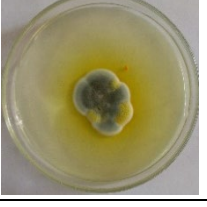
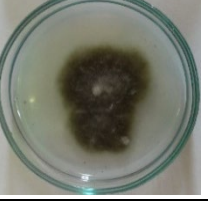


							
<i>Fusarium culmorum</i> MP11R	<i>Dichotomyces cejpii</i> MO45S	<i>Thielavia microspora</i> MO46L	<i>Sclerotium minorum</i> VM83R	<i>Penicillium lilacinum</i> VM86S	<i>Penicillium concavoradulozum</i> VE89L	<i>Cladosporium tenuissimum</i> AF183	<i>Aspergillus spectabilis</i> AL184
							
<i>Cladosporium cladosporoides</i> VE92L	<i>Penicillium syriacum</i> VE93R	<i>Eupenicillium brefeldianum</i> VE97R	<i>Aspergillus amstelodami</i> VR177L	<i>Acremonium coremioides</i> - FF79S	<i>Ulocladium consortiae</i> - A87S	<i>Aspergillus egypticus</i> HT166S	<i>Doratomyces purpureofuscus</i> HT182
							
<i>Microascus trigonosporus</i> PG126L	<i>Alternaria geophila</i> HP133L	<i>Monilia sp.</i> - CM160L	<i>Penicillium radulatum</i> AF105	<i>Penicillium Waksmani</i> Zaleski AF106	<i>Alternaria tenuis</i> AF180	<i>Nigrospora sphaerica</i> HT189L	<i>Myrothecium verrucaria</i> HT190R

Рисунок 3. Колонии редко выделяемых видов ЭГ

(морфолого-культуральные характеристики штаммов подробно описаны в диссертационной работе)

Впечатляющие данные были получены при скрининге цитотоксической активности 34 ЭГ рр. *Vinca* и *Allium*. Выбор не случаен, поскольку барвинок является единственным растительным сырьем для получения винка алкалоидов противоракового назначения, а в луках продуцируется аллицин - алкалоид широкого спектра действия, в том числе против рака.

В совместных исследованиях с сотрудниками Института химии растительных веществ АН РУз на верифицированных культурах раковых клеток карциномы шейки матки (HeLa), гортани (HEp-2) и молочных желез (HBL-100) высокая цитостатическая активность в низких концентрациях, сравнимая с противораковым препаратом «Cisplatin», была обнаружена у 9 штаммов ЭГ (Рис. 4).

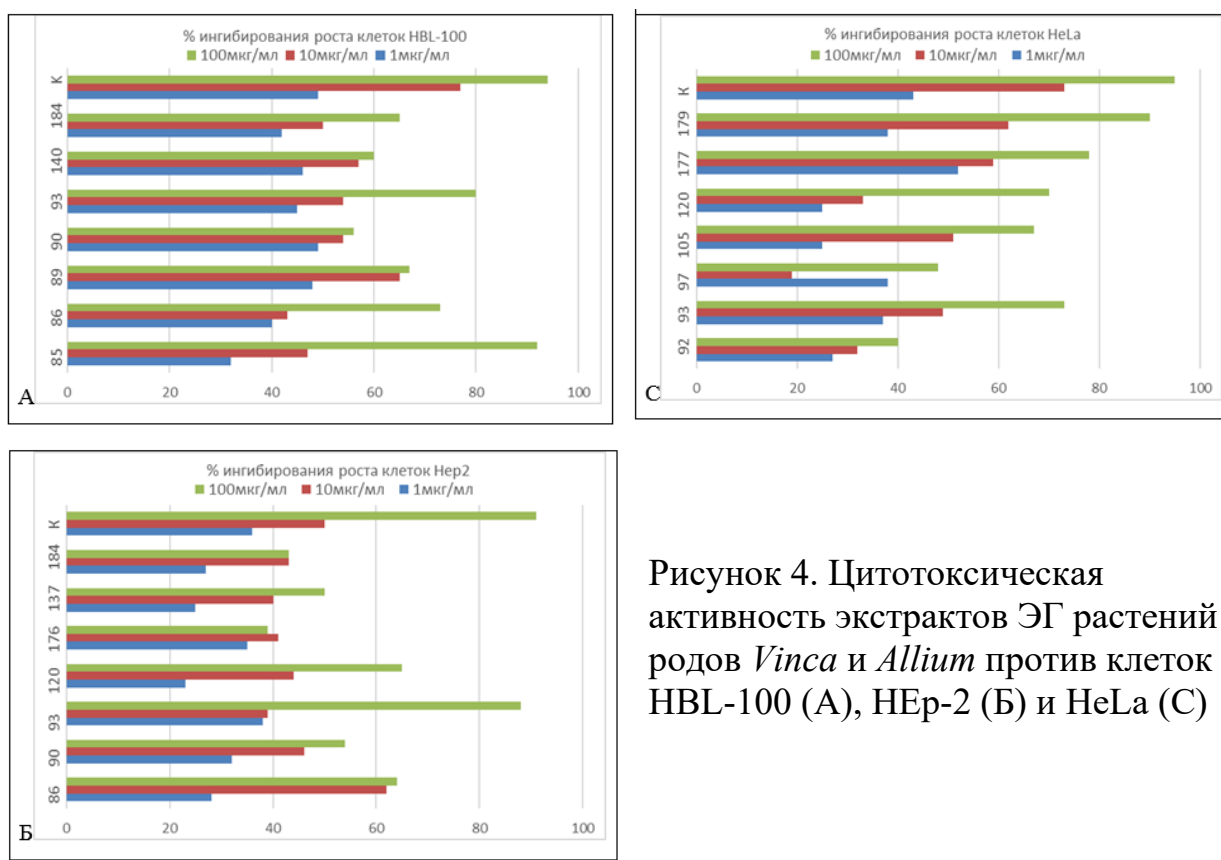


Рисунок 4. Цитотоксическая активность экстрактов ЭГ растений родов *Vinca* и *Allium* против клеток HBL-100 (А), HEp-2 (Б) и HeLa (С)

Методами ТСХ и ВЭЖХ показано, что в экстрактах 5 штаммов барвинка: *P.concavoradulozum-VE89L*, *A.terreus-VE90R*, *Cladosporium sp.-VE92L*, *Alternaria sp.-VM84L* и *A.amstelodami-VR177L*, обладающих в 2 раза меньшей гепатотоксичностью, по сравнению с цисплатином, присутствуют соединения, сходные по подвижности в тонком слое и времени выхода с противоопухолевыми препаратами цитокристину и цитобластину (соответствующими винкрестину и винбластину) (Рис. 5).

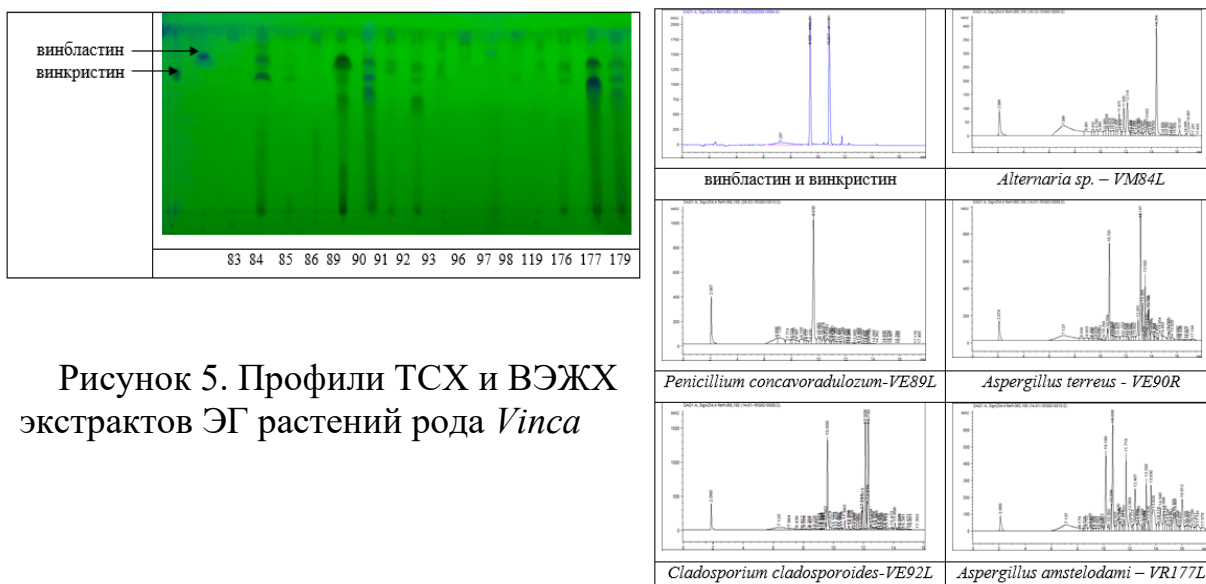


Рисунок 5. Профили ТСХ и ВЭЖХ экстрактов ЭГ растений рода *Vinca*

Из растений степной зоны (базилика, мяты и шафрана), выделены ЭГ, при скрининге антикоагулянтных свойств которых, методом Квика в плазме крови, выявлено 4 штамма: *Acremonium sp.-OB2S*, *Alternaria sp.-OB6L*, *Acremonium sp.-MP13R*, *Alternaria sp.-CS53S*, продуцирующие вторичные метаболиты, тормозящие время образования протромбина крови человека более чем на 300 секунд.

Растущая потребность в соединениях антидиабетического назначения способствовала проведению скрининга ингибиторной активности против α -амилазы 100 ЭГ, выделенных из 19 растений. Присутствие ингибиторной активности в системе *in vitro* обнаружено у 67% штаммов. Низкую активность (20-39%) продемонстрировали 31% штаммов, среднюю (40-59%) - 42%, и только 27% штаммов подавляли активность α -амилазы более чем на 60%, что сопоставимо с действием коммерческого ингибитора - акарбозы. Наибольшее число ЭГ со средней и высокой степенью ингибиторной активности обнаружено у растений с антидиабетическими и гипогликемическими свойствами: *H.tuberosus*, *M.officinalis*, *A.filidens*, *A.longicuspis*, *C.cristata*, *C.majus*, *V.erecta*. Самые низкие значения IC₅₀ (20, 24 и 25 мг) по сравнению с акарбозой (30 мг) были определены у *A.egypticus-HT166S*, *P.brevicaule alba-CC200* и *A.terreus-AF104S*, соответственно.

Доклинические испытания тотального экстракта *P.brevicaule alba-CC200* на экспериментальных животных с аллоксан-индуцированным диабетом, проведенные совместно с Институтом биоорганической химии АНРУз, показали, что после перорального приема экстракта в концентрации 4,5 мг/кг веса снижается уровень глюкозы в крови и активность гексокиназы на 30%, уровень гликогемоглобина на 15%, триглицеридов на 40%, холестерина на 8,5%, ЛПНП и ЛПОНП на 17%; при этом увеличивается уровень ЛПВП на 30%. В целом, эффект экстракта *P.brevicaule alba-CC200* сопоставим с действием гликлазида и акарбозы как препаратов сравнения (данные представлены в приложении диссертационной работы).

Учитывая протекторную роль ЭГ во взаимоотношениях с растением-хозяином при сильном УФ-облучении, скрининг по меланин синтезирующей способности был проведен среди темносептированных эндофитов (ТСЭ), выделенных из растений, произрастающих в экстремальных условиях обитания. Наибольшее видовое разнообразие ТСЭ наблюдалось у ферулы вонючей - представителя климатической зоны со стрессовыми условиями окружающей среды (территория юго-западного Кызылкума) (Табл. 2).

Таблица 2

Продукция темнокрашенного пигмента в ЭГ при ГФ

Эндофитный гриб	Вес сырой б/м, г/л	Вес сухой б/м, г/л	Выход пигмента мг/г с.в., %	
<i>Alternaria sp. – FF63L</i>	10 \pm 1,2	1,8 \pm 0,1	221 \pm 22	20
<i>Ulocladium sp. - FF64L</i>	10 \pm 1,1	1,1 \pm 0,1	204 \pm 23	20
<i>S. minorum - VM83R</i>	15 \pm 1,8	3,2 \pm 0,2	307 \pm 25	30
<i>Cladosporium sp. - HT206</i>	12 \pm 1,4	2,6 \pm 0,2	262 \pm 24	25

Использование дешевых и доступных агропромышленных отходов в качестве субстратов при получении пигментов микробной ферментацией рассматривается как экономически эффективный и экологически чистый процесс. Действительно, при ТФФ накопление меланиновых пигментов на двух твердых субстратах увеличилось по сравнению с ГФ у всех культур. Использование овсяных отрубей сопровождалось более высоким выходом пигмента, чем пшеничных. При этом наибольший выход пигмента составил у *S.minorum-VM83R*-40% от общего веса (398 \pm 24мг/г) ферментированного субстрата (Рис. 6). Качественное определение сырого пигмента и спектрофотометрический анализ щелочного раствора пигмента *S.minorum-VM83R* в УФ и видимом свете (216нм) подтвердили меланиновую природу полученного пигмента.

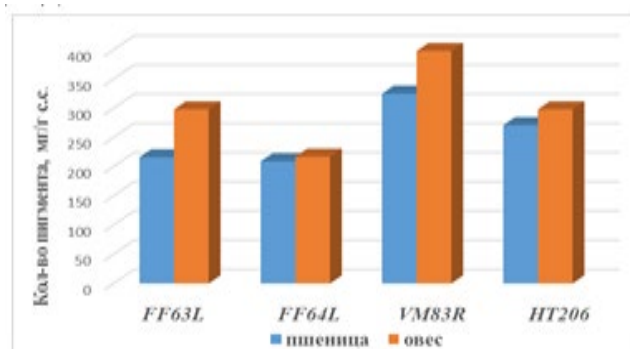


Рисунок 6. Выход темнокрашенного пигмента в ЭГ при ТФФ

S.minorum-VMR83 отличается также продукцией липидов, представляющих собой сумму из моно-, ди- и триглицеридов. В зависимости от используемой системы растворителей выход липидов составлял от 22,7% до 30,4% от сухого веса.

Скрининг 11 ЭГ по содержанию фитогормонов ИУК и ГК, выделенных из ферулы вонючей и тюльпана Шарипова показал, что эндофиты: *Alternaria sp.-FF63L*, *A.terreus-FF65*, *F.sambucinum-FF59S* и *Fusarium sp.-TSch72L* содержат весомые значения ИУК (300 мкг/мл) и ГК (50 мкг/мл).

Результаты фитохимического анализа суммарных экстрактов ЭГ (Табл.3), свидетельствуют о связи биоактивности исследованных ЭГ с продукцией сапонинов, сердечных гликозидов, танинов, фенолов, терпенов, винка-алкалоидов, фитогормонов, меланинов, флавоноидов, антрахинонов.

Общепризнанная проблема затухания выхода продукта эндофитов при аксенической ферментации в хозяйн-независимых условиях - основное ограничение для коммерциализации. В этой связи изучено влияние способов культивирования ЭГ, кислотности питательной среды, освещенности, эпигенетических модификаторов и экстрактов растений-хозяев на рост, антимикробные и цитотоксические свойства ЭГ *T.microspora-МО46L*, *P.concavoradulozum-VE89L* и *A.amstelodami-VR177L*.

В пятой главе диссертации «**Влияние различных факторов на рост и биологическую активность**» показано, что при обоих типах культивирования наибольший уровень накопления биомассы у всех штаммов наблюдается на 11-е сутки ферментации. У *T.microspora-МО46L* и *A.amstelodami-VR177L* рост биомассы в два раза выше при ГК по сравнению с ПК. У *P.concavoradulozum-VE89L* при ГК в отсутствии света выход биомассы в 3 раза больше, при доступе освещения в 4 раза. Наибольшая антибактериальная активность у всех исследованных штаммов также наблюдается на 11 сутки роста. При этом экстракты *A.amstelodami-VR177L* полученные при ГК, вне зависимости от доступа света, подавляли рост *S.aureus* в два раза сильнее по сравнению с экстрактами ПК. Экстракты *P.concavoradulozum-VE89L* рост данной тест-культуры подавляли незначительно, а экстракты *T.microspora-МО46L* не зависимо от способа культивирования и освещенности сохраняли свои высокие антибактериальные свойства против *S.aureus* (Рис.7).

При ВЭЖХ экстрактов, полученных при ГК *A.amstelodami-VR177L* и *P.concavoradulozum-VE89L*, соединения, соответствующие по подвижности винкристину и винбластину, появляются уже на 7-е сутки роста. Доступность естественного света оказывает существенное положительное влияние на синтез винка-алкалоидов при обоих типах культивирования, что выражается в увеличении интенсивности пиков, свидетельствующих об их большем содержании.

Значительное влияние на рост *T.microspora-МО46L* оказывает рН среды: при рН 6,0, 7,0 и 8,0 уровень накопления биомассы 2,6г/л, при рН 5,0 и 9,0 - не выше 1,6 г/л. Интересно отметить, что к концу ферментации, рН среды составляет во всех вариантах почти одно и то же значение: рН 8,0-8,3. У *P.concavoradulozum-VE89L* в конце культивирования рН составляет 7,2 при заданных в начале рН 5,0 и 6,0 и количество биомассы не превышает 1,1 г/л, в то время как рост культуры почти в 10 раз снижается при рН 8,0-9,0, когда

начальное значения рН почти не меняется. *A.amstelodami*–*VR177L* отличается высоким уровнем биомассы, составляющим 4,3г/л при начальном рН8,0 и 2,7г/л при начальном рН9,0. Конечная кислотность выравнивается до 6,1-6,4.

Полученные данные показали, что устойчивый выход биомассы наблюдается в штаммах *T.microspora*-*MO46L* и *A.amstelodami*–*VR177L*, способных сдвигать рН среды до оптимального, независимо от начального. При этом антибактериальная активность метаболитов *T.microspora*-*MO46L* сохранялась против *S.aureus* и *B.subtilis* при всех значениях рН. Наибольший выход метаболитов *A.amstelodami*–*VR177L*, схожих с винка-алкалоидами наблюдался при значении рН 7,5-8,0.

При исследовании влияния эпигенетических модификаторов - кверцетина и никотинамида в концентрации 100μМ обнаружены изменения в пигментации и морфологии культур на 5 сутки роста (Рис. 8). Необходимо отметить - *P.concavoradulozum*-*VE89L* и *T.microspora*-*MO46L*, потерявшие первоначальную способность к пигментации, при внесении никотинамида восстановили пигментацию в ярко-бордовый и темно-зеленый цвета, соответственно. Добавление кверцетина сопровождалось появлением темно-коричневого пигмента в культуральной среде всех исследуемых штаммов. При этом, в присутствии кверцетина наблюдалось изменение морфологии, сопровождающееся увеличением содержания внутриклеточных включений, утолщением гиф, а внесение никотинамида способствует разветвлению и удлинению гиф мицелия.

Внесение кверцетина способствовало увеличению разнообразия вторичных метаболитов в целом и 5-кратному повышению уровня продукции винбластина *P.concavoradulozum*-*VE89L* и *A.amstelodami*–*VR177L*, а также увеличению разнообразия вторичных метаболитов, как показано при ВЭЖХ-анализе экстрактов (Рис.9). Вместе с тем, установлено, что модификаторы не меняют уровень антибактериальной активности *T.microspora*-*MO46L*.

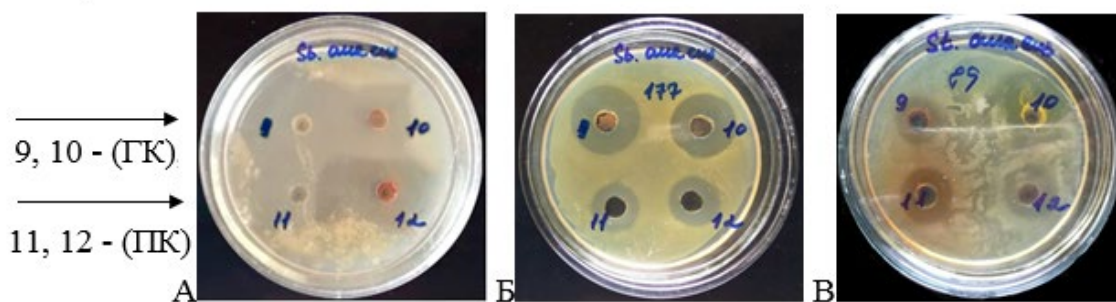


Рисунок 7. Зона подавления роста *S. aureus* экстрактом *T. microspora* - *MO46L* (А), *A. amstelodami* – *VR177L* (Б) и *P. concavoradulozum*-*VE89L* (Б)

ЭГ – перспективные продуценты биологически активных веществ

№	Биоактивность	Эндофитный гриб	Растение - хозяин	Втор. метаболит
1	антимикробная	<i>T. microspore</i> –MO46L <i>P. Waksmani Zaleski</i> -AF106 <i>P. brevicaula alba</i> -CC200 <i>F. sambucinum</i> -FF59S	<i>Melissa officinalis</i> <i>Allium filidens</i> <i>Celosia cristata</i> <i>Ferula foetida</i>	терпены танины сапонины фенолы
2	цитотоксическая	<i>Alternaria sp.</i> –VM84L <i>Alternaria sp.</i> –VM85L <i>P. lilacinum</i> -VM86S <i>P. concavoradulozum</i> -VE89L <i>A. terreus</i> -VE90R <i>C. cladosporoides</i> -VE92L <i>P. syriacum</i> -VE93R <i>E. brefeldianum</i> -VE97R <i>Alternaria sp.</i> –VE98L <i>A. amstelodami</i> –VR177L <i>A. terreus</i> VR176L <i>A. nigricans</i> – VR179L <i>P. radulatum</i> -AF105 <i>Penicillium sp.</i> -AF120	<i>Vinca minor</i> <i>Vinca erecta</i> <i>Vinca rosea</i> <i>Allium filidens</i>	винка- алкалоиды: винкристин винбластин
3	антикоагулянтная	<i>Acremonium sp.</i> - OB2S <i>Alternaria sp.</i> – OB6L <i>F. culmorum</i> – MP11R <i>Acremonium sp</i> MP13R <i>Alternaria sp.</i> – CS53S	<i>Ocimum basilicum</i> <i>Mentha piperita</i> <i>Crocus sativus</i>	сапонины

4	гипогликемическая	<i>Penicillium sp.</i> -HT165S <i>A.egypticus</i> -HT166S <i>A.terreus</i> - AF104S <i>Penicillium sp.</i> - AF120 <i>A. terreus</i> – CM40L <i>P. brevicaula alba</i> - CC200	<i>Helianthus tuberosus</i> <i>Allium filidens</i> <i>Chelidonium majus</i> <i>Celosia cristata</i>	сапонины терпены танины фенолы
5	меланин синтезирующая	<i>Alternaria sp.</i> - FFL63 <i>Ulocladium sp.</i> - FFL64 <i>Alternaria sp.</i> – HTL193 <i>Cladosporium sp.</i> - HT206	<i>Ferula foetida</i> <i>Helianthus tuberosus</i>	меланины
6	липид синтезирующая	<i>Sclerotium minorum</i> - VM83R	<i>Vinca minor</i>	моно-, ди-, триглицериды
7	фитогормон синтезирующая	<i>Alternaria sp.</i> - FF63L <i>Aspergillus terreus</i> - FF65L <i>Fusarium sambucinum</i> - FF59S <i>Fusarium sp.</i> -TSch72L	<i>Ferula foetida</i> <i>Tulipa scharipovii</i>	ИУК и ГК

а – назорат,
 б – кверцетин,
 в – НИКОТИНАМИД

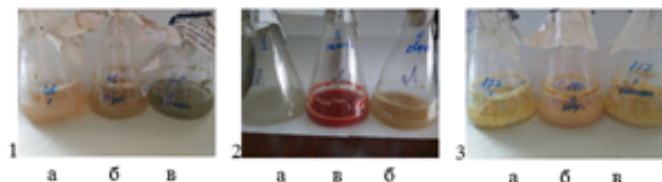


Рисунок 8. Морфология и пигментация культур эндофитов:
 1- *T. microspora* - MO46L, 2 - *P. concavoradulozum* - VE89L,
 3 – *A. amstelodami* – VR177L при добавлении модификаторов

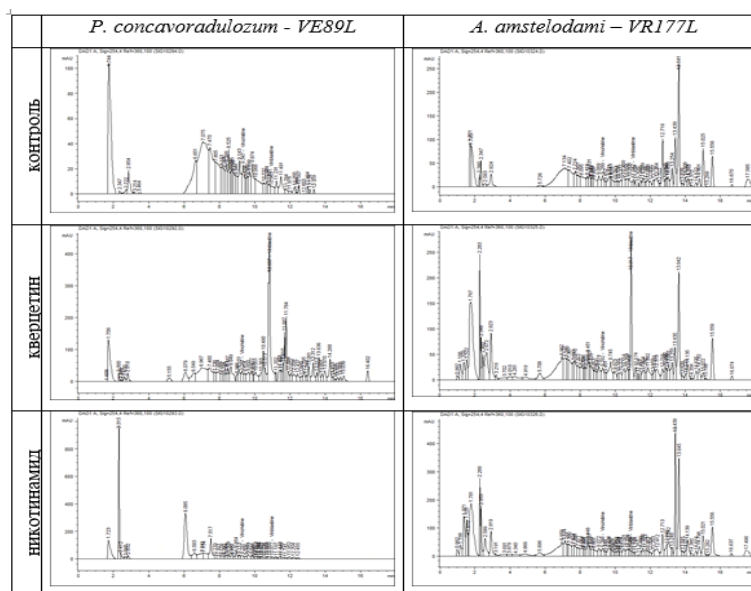


Рисунок 9. Профиль ВЭЖХ экстрактов *P. concavoradulozum* -VE89L и *A. amstelodami* – VR177L при добавлении модификаторов

Несмотря на то, что ЭГ являются одним из наиболее важных элементов растительных микрэкосистем, отношения между ЭГ и растениями-хозяевами остаются неясной проблемой. В этой связи нами было изучено влияние экстракта растения *V. rosea* на морфолого-культуральные свойства и метаболический профиль связанного с ним штамма *A. amstelodami*-VR177L и *P. concavoradulozum*-VE89L, выделенного из *V. erecta*.

В результате культивирования в присутствии экстракта *V. rosea* в *P. concavoradulozum*–VE89L, выделенном из *V. erecta*, наблюдалось изменение пигментации от розоватого до светло-желтого цвета, снижение плотности дисперсной культуры, уменьшение толщины гифов, 2-кратное снижение биомассы, значительный спад тотального уровня вторичных метаболитов. Культивирование ассоциированного штамма *A. amstelodami*–VR177L с экстрактом растения-хозяина также сопровождалось изменением формы колоний от мелко глобулярной до дисперсной со значительным ростом, без изменения пигментации и толщины гифов, увеличением тотального уровня вторичных метаболитов и двукратным увеличением винбластина.

Полученные нами данные, на наш взгляд, соответствуют известному феномену специфичности эндофита к хозяину, предполагающему существование между эндофитом и растением общих биохимических путей

биосинтеза, обеспечивающих образование родственных вторичных метаболитов. Обнаруженное нами, стимулирующее действие растительных метаболитов на продукцию винка-алкалоидов в ассоциированном штамме предполагает, что пути биосинтеза винка-алкалоидов в *A.amstelodami*-R177L непосредственно могут быть связаны или находятся под контролем метаболитов *V.rosea*.

Таким образом, совокупность полученных данных свидетельствует о разнообразии видового состава и огромном потенциале ЭГ лекарственных растений Узбекистана в качестве альтернативного источника природных биоактивных соединений для разработки перспективных биотехнологий в различных отраслях экономики.

ВЫВОДЫ

1. Впервые на примере 28 растений, обитающих в различных регионах республики, показано богатое разнообразие ЭГ (более 200 штаммов), включающих представителей 20 родов, отнесенных к 45 видам. 33% от общего числа изолятов ЭГ в исследованных растениях локализовано в листьях, 26% - в стеблях и 21% - в корнях. Специфичность системного обитания эндофитов выражена в преимущественном распространении фузарий и акремоний в корнях, аспергиллов и пенициллов - в стеблях, альтернаний - в листьях. Доминирующим родом является *Aspergillus* - 32%, затем *Alternaria* - 17%, *Penicillium* - 14%, *Acremonium* - 10%, *Fusarium* и изоляты со стерильным мицелием - 8%. Впервые обнаружено 24 редких вида ЭГ, которые раньше в Узбекистане не выделялись. Редкие виды обнаружены в 13 растениях, отнесенных к 8 семействам, произрастающим во всех исследованных округах республики.

2. При исследовании антимикробных свойств установлено, что 30% ЭГ обладают антибактериальной активностью к условно-патогенным тест-культурам: *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis* и *C.albicans*. Отобрано 6 ЭГ из *M.officinalis*, *A.filidens*, *C.cristata*, *H.tuberosus* и *P.harmala*, проявляющих множественную антибактериальную активность одновременно к 3 тест-культурам. В составе биоактивных метаболитов *T.microspora*-MO46L обнаружены терпены и сапонины.

3. Выявлена цитотоксическая активность метаболитов 34-х ЭГ растений рр. *Vinca* и *Allium* против клеток карциномы шейки матки (HeLa), гортани (HEp-2) и молочных желез (HBL-100). Активность на уровне противоопухолевого препарата «Cisplatin» обнаружена у 9 ЭГ барвинка. Цитотоксичность *Alternaria sp.*-VM84L, *P.concavoradulozum*-VE89L, *A.terreus*-VE90R, *C.cladosporoides* - VE92L, *A.amstelodami* - VR177L обусловлена продукцией винкрестина и винбластина.

4. Из растений степной зоны базилика, мяты и шафрана отобрано 4 ЭГ с антикоагулянтными свойствами: *Acremonium sp.*-OB2S, *Alternaria sp.*-OB6L, *Acremonium sp.*-MP13R и *Alternaria sp.*-CS53S, продуцирующие

вторичные метаболиты, повышающие протромбиновое время крови человека более чем на 300 секунд.

5. Обнаружены ЭГ подсолнечника клубненосного, петушиного гребешка и лука нитезубого, способные подавлять активность панкреатической α -амилазы в системе *in vitro* до 80%. Экстракты *A.egypticus-HT166S*, *P.brevicaule alba - CC200* и *A.terreus - AF104S* отличались низким значением IC50 (20-25 мг) по сравнению с акарбозой (30 мг). Доклинические испытания суммарного экстракта *P.brevicaule alba - CC200* из *C.cristata* (сем. Амарантовые) на экспериментальных животных с аллоксан-индуцированным диабетом достоверно показали гипогликемический эффект.

6. Выявлены темносептированные ЭГ: *Alternaria sp.-FFL63*, *Ulocladium sp.-FFL64*, *S.minorum-VMR83*, *Alternaria sp.-HTL193*, *Cladosporium sp.-HT206*, накапливающие 20-30% пигментов меланиновой природы. Продукция меланина в *S.minorum-VMR83*, составила 30%, сопровождалась также образованием 30% липидов, представляющих собой сумму из моно-, ди- и триглицеридов.

7. Показана принципиальная возможность регуляции роста и продукции антибактериальных и цитотоксических соединений подбором условий культивирования отобранных ЭГ. Внутриклеточные метаболиты растения-хозяина (*V.rosea*) и эпигенетические модификаторы способствуют многократному повышению уровня винка-алкалоидов в *P.concavoradulozum-VE89L* и *A.amstelodami-VR177L*.

8. Впервые собрана коллекционная база ЭГ растений Узбекистана, в том числе редких видов, обладающих способностью продуцировать вторичные метаболиты с разнообразными биоактивностями, что является главным фундаментальным итогом настоящего исследования. Полученные практические данные открывают огромные перспективы прикладных исследований для развития и разработки новых биотехнологий на основе ЭГ как альтернативного источника природных биоактивных соединений.

**SCIENTIFIC COUNCIL AWARDING DEGREE
DSc.02/30.12.2019.B.38.01 AT INSTITUTE OF MICROBIOLOGY**

INSTITUTE OF MICROBIOLOGY

ABDULMYANOVA LILIYA ILYASOVNA

**DIVERSITY AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGI
OF MEDICINAL PLANTS OF UZBEKISTAN**

03.00.04. – microbiology and virology

**DISSERTATION ABSTRACT DOCTOR
OF BIOLOGICAL SCIENCES (DSc)**

Tashkent – 2021

This dissertation of DSc has been registered with the number B2017.2.DSc/B48 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Institute of Microbiology.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (microbio@academy.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziynet.uz).

Scientific consultant:

Gulyamova Tashhan Gafurovna,
Doctor of biological sciences, Professor

Official opponents:

Ismailov Zafar Fayzullaevich,
Doctor of biological sciences, Professor

Nuraliev Nekkadam Abdullaevich
Doctor of medical sciences, Professor

Myachina Olga Vladimirovna,
Doctor of biological sciences

Leading organization:

National University of Uzbekistan

The defense of the dissertation will take place on «21» december 2021 year 10:00 at the meeting of the Scientific Council DSc.02/30.12.2019.B.38.01 of the Institute of Microbiology ASRUz at the following address: 100128, Tashkent, 7B A. Kadyri str., conference hall of the Institute of Microbiology. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, Fax: (+99871) 241-92-71, e-mail: microbio@academy.uz.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre at the Institute of Microbiology under №__ (Address: 100128, Tashkent, 7B A. Kadyri str., administration building of the Institute of Microbiology, floor 5, library. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, Fax: (+99871) 241-92-71, e-mail: microbio@academy.uz)

The abstract of the dissertation is distributed on «__»_____2021 year.

(Protocol at the register № __ on «__»_____2021 year).



Aripov Takhir

Chairman of the scientific council
awarding scientific degrees,
D.B.Sc., professor, academician

Juraeva Rohila

Scientific secretary of the scientific council
awarding scientific degrees,
PhD, senior researcher

Axmedova Zahro

Chairman of the academic seminar under the
scientific council awarding scientific degrees,
D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of DSc thesis)

The research work aims to determine the distribution, diversity, and properties of endophytic fungi (EF) of medicinal plants growing in various regions of Uzbekistan as a new potential source of bioactive compounds.

The object of the research work is the EF inhabiting Uzbekistan medicinal plants from various republic biotopes

The scientific novelty of the research work is as follows:

For the first time, on the example of 28 plants living in various regions of the republic, a rich variety of EF (200 strains) has been shown, including representatives of 20 genera assigned to 45 species. Moreover, 33% of isolates belong to leaves, 26% in stems, and 21% in the roots.

The systemic habitat of EF is expressed in the predominant distribution of *Fusarium* and *Acremonium* in the roots, *Aspergillus* and *Penicillium* in the stems, *Alternaria* in the leaves. The dominant genus is *Aspergillus*-32%, *Alternaria*-17%, *Penicillium*-14%, *Acremonium*-10%, *Fusarium*, and 8% isolates with sterile mycelium. Twenty-four rare EF species were discovered for the first time, not isolated in Uzbekistan earlier.

In the study of antimicrobial properties, 30% of EF has antibacterial activity against opportunistic test cultures: *E.coli*, *S.aureus*, *B.subtilis*, *P.aeruginosa*, and *C.albicans*. 6 EF were selected from *M.officinalis*, *A.filidens*, *C.cristata*, *H.tuberosus*, and *P.harmala*, exhibiting multiple antibacterial activities against 3 test cultures simultaneously. In addition, terpenes and saponins were found in the bioactive metabolites of *T. microspora-MO46L*.

The cytotoxic activity has metabolites of thirty four EF from *Vinca* and *Allium* plants against carcinoma cells of the cervix (HeLa), larynx (Hep-2), and mammary glands (HBL-100). In addition, nine EF isolates from the *Vinca* plant have activity comparable with antitumor drug "Cisplatin." The cytotoxicity of *Alternaria sp.-VM84L*, *P.concavoradulozum-VE89L*, *A.terreus-VE90R*, *C. Cladosporoides - VE92L*, *A.Amstelodami - VR177L* is due to the production of vincristine and vinblastine.

The four EF selected from plants of the steppe zone (basil, mint, and saffron) *Acremonium sp.-OB2S*, *Alternaria sp.-OB6L*, *Acremonium sp.-MP13R*, and *Alternaria sp.-CS53S* has anticoagulant properties. In addition, they are producing secondary metabolites that increase the prothrombin time of human blood by more than 300 seconds.

EF of tuberous sunflower, cockscomb, and thread-toothed onion found capable of suppressing the activity of pancreatic α -amylase *in vitro* up to 80%. Extracts of *A.egypticus-HT166S*, *P.brevicaule alba-CC200* and *A.terreus-AF104S* had a low IC50 value (20-25 mg) in compare with Acarbose (30 mg). Preclinical tests of the total extract of *P.brevicaule alba-CC200* from *C.cristata* (Amaranthus) on experimental animals with alloxan-induced diabetes have shown a significant hypoglycemic effect.

Dark septated EF - *Alternaria sp.-FFL63*, *Ulocladium sp.-FFL64*, *S.minorum-VMR83*, *Alternaria sp.-HTL193*, and *Cladosporium sp.-HT206* were found to

accumulate up to 20-30% of melanin pigments. The production of melanin in *S.minorum-VMR83* was 30%, accompanied by the formation of 30% lipids, which are the sum of mono-, di- and triglycerides.

The real possibility of regulating the growth and production of antibacterial and cytotoxic compounds by selecting the cultivation conditions for the EF has been shown. Intracellular metabolites of the host plant (*V.rosea*) and epigenetic modifiers contribute to a considerable increase in the level of vinca alkaloids in *P.concavoradulozum-VE89L* and *A.amstelodami-VR177L*.

Implementation of the research results. Based on the results of studies on the bioactivity of EF:

the patent of the Intellectual Property Agency of the Republic of Uzbekistan (No. IAP 06366, 2020) for the EF *A. terreus Thom Uz CF-461* strain - a producer of a complex of hydrolytic enzymes, was received. As a result, the possibility of hydrolysis of cell membranes of phytopathogens, industrial and plant waste by the producer of a complex of hydrolytic enzymes of endo-, exo-1,4-b-glucanases, xylanases, avicelases, chitinases, and proteases were shown;

the most active EF strains - *P.brevicaule alba-CC200*, *A.terreus-AF104S* and *A.egypticus-HT166S* isolated from *C.cristata*, *A.filidens*, and *H.tuberosus*, were used within the framework of the applied project FA-A6-T109: "Metabolites of the EF of medicinal plants of Uzbekistan as α -amylase inhibitors" (certificate from the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-2773 dated October 11, 2021). As a result of the project, laboratory regulations were developed for the technology of obtaining drugs with hypoglycemic properties;

the results of studies on the diversity and properties of EF isolated from plants of the genera *Allium*, *Celosia*, *Ferula*, *Helianthus*, and *Vinca* are cited in publications of leading foreign eight journals with a high impact factor (IF): *Agriculture* (2020); IF-2.072, ISSN2077-0472, (Scopus); *South African Journal of Botany* (2020), IF-2.29, ISSN0254-6299, (Scopus), *Journal of Food and Nutrition Research* (2020), IF-1.308, (Scopus), *Industrial Crops and Products* 139(2019)111511, IF-4.191, ISSN0926-6690, (Scopus), *Journal Mycosphere*, 10(1):798-1079 (2019), IF-2.015, ISSN2077000, (Scopus), *Frontiers in Microbiology*, (2018), IF-4.235, (Scopus), *Microbial Biotechnology* (2017), IF-5.328, ISSN1751-7915, (Scopus), *Journal Acta Pharmaciae Indonesia*, (2018), 6(1)12-19, ISSN2337-8433, E-ISSN 2621-4520 (Web of Science). These data made it possible to discover new bioactive properties of EF from various plants from other countries.

The structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of the introduction, five chapters, conclusions, a list of cited literature, and an appendix. The volume of the thesis is 193 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I-бўлим (I-часть, I-part)

1. Абдульмянова Л.И. Качественный состав экстрактов грибов-эндофитов лекарственных растений Узбекистана. //Узб. биол. журнал. 2012. - С.3-4 (03.00.00, № 5).
2. Abdulmyanova L.I., Teomashko N.N., Terent'eva E.O., Ruzieva D.M., Sattarova R.S., Azimova Sh.S., Gulyamova T.G. Cytotoxic activity of fungal endophytes from *Vinca*. // International Journal of Current Microbiology and Applied Science. Vol. 4, N 7, 2015. - pp. 321-329 (03.00.00, № 25).
3. Abdulmyanova L.I., Fayzieva F.K., Ruzieva D.M., Karimova F.A., Sattarova R.S., Gulyamova T.G. Antimicrobial activity of endophytic fungi from *Ferula foetida*. // International Journal of Current Microbiology and Applied Science, (IF- 0.654), Vol.4, N11, 2015. - pp. 154-159 (03.00.00, №25).
4. Абдульмянова Л.И., Файзиева Ф.Х., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г. Биологическая активность вторичных метаболитов эндофитных грибов растений рода *Vinca*. // Журнал теоретической и клинической медицины, Ташкент, Вып.№1, 2016. - с.39-44 (03.00.00, № 4).
5. Abdulmyanova L.I., Ruzieva D.M., Fayzieva F.Kh. Teomashko N.N*., Rasulova G.A., Gulyamova T.G. Bioactivity of fungal endophytes associating with *Allium* plants growing in Uzbekistan. // International Journal of Current Microbiology and Applied Science. Vol.5, N9, 2016.- pp.769-778 (03.00.00, №25).
6. Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И., Файзиева Ф.Х., Расулова Г.А., Махкамова М.П., Гулямова Т.Г. Антидиабетические свойства эндофитных грибов подсолнечника клубненоносного. // Журнал теоретической и клинической медицины, Ташкент, Вып.№3, 2016. - с.62-66 (03.00.00, № 4).
7. Ruzieva D.M., Abdulmyanova L.I., Rasulova G.A., Sattarova R.S., Gulyamova T.G. Screening of Inhibitory Activity against α -Amylase of Fungal Endophytes Isolated from Medicinal Plants in Uzbekistan. // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. Vol. 6, N 4, 2017.- pp. 2744-2752 (03.00.00, №25).
8. Ruzieva D.M., Hasanov H.H., Abdulmyanova L.I., Rasulova G.A., Sattarova R.S., Gulyamova T.G. The Effect of the Extracts of Endophytic Fungi on Pancreatic α -Amylase Activity. // Journal of Food Science and Engineering, (IF- 4.499), N 7, 2017. - pp. 514-519 (02.00.00, №16).
9. Абдульмянова Л.И., Рузиева Д.М., Файзиева Ф.Х., Расулова Г.А., Гулямова Т.Г. Влияние состава питательных сред на ингибиторную активность эндофитных грибов. // ДАН, Вып.2, 2017.- с.85-90 (03.00.00, № 6).
10. Abdulmyanova L.I., Ruzieva D.M., Sattarova R.S., Gulyamova T.G. *Vinca* Alkaloids Produced by Endophytic Fungi Isolated from *Vinca* Plants. // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. Vol.7, N 06, 2018. - pp. 2244-2250 (№ 40 ResearchGate IF-0,16).

11. Gulyamova T.G., Okhunedaev B.S., Bobakulov Kh.M., Nishanbaev S.Z., Shamyayov I.D., Ruzieva D.M., Abdulmyanova L.I., Sattarova R.S. // Composition of secondary metabolites of endophytic fungus *A.egypticus* HT-166S isolated from *H.tuberosus*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. Vol.7,N09,2018.-pp.85-89(№40 ResearchGate IF-0,16).

12. Abdulmyanova L.I., Ruzieva D.M., G.A. Rasulova, U.K. Yusupov, Sattarova R.S., Gulyamova T.G. Effect of Epigenetic Modifiers on Fermentation Parameters of Endophytic Fungi from Plants Growing in Uzbekistan. // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. Vol. 8, N 03, 2019. - pp. 851-860 (№40 ResearchGate IF-0,16).

13. Рузиева Д.М.¹, Расулова Г.А.¹, Гулямова Т.Г.¹, Мустафакулов М.А.², Ишанходжаев Т.М.², Саатов Т.С.² Доклинические испытания антидиабетической активности экстракта *Penicillium brevicaulis alba* CC-200, выделенного из растения *S.cristata*. // Журнал теоретической и клинической медицины, Ташкент, 2019, Вып. №6, с.34-38 (03.00.00, № 4).

14. Гулямова Т.Г. Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И., Расулова Г.А., Мухаммедов И.И. Влияние эпигенетических модификаторов на продукцию и ингибиторную активность вторичных метаболитов эндофитных грибов из антидиабетических растений. // Журнал теоретической и клинической медицины, Ташкент, 2019, Вып. № 1, -с.43-48 (03.00.00, № 4).

15. Расулова Г.А., Мухаммедов И.И., Абдульмянова Л.И., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г. Влияние этанольных экстрактов *H.tuberosus* и *S.cristata* на ингибиторную активность эндофитных грибов *A.egypticus*-HT166S и *P.brevicaulis alba*-CC200 // ДАН. Вып.4, 2020. - с. 76-82 (03.00.00, № 6).

16. Патент Агентства Интеллектуальной собственности РУз № IAP 06366 от 17.11.2020. Штамм эндофитного гриба *A.terreus Thom Uz CF-461* - продуцента комплекса гидролитических ферментов для гидролиза полисахаридов клеточной оболочки фитопатогенов, промышленных и растительных отходов.

И буйлим (И -часть, И -part)

17. Abdulmyanova L.I., Gulyamova T.G., Ruzieva D.M., Rasulova G.A., Yusupov U.K. The Impact Of Plant Extracts On The Metabolic Profile Of Endophytic Fungi Isolated From *Vinca* Plants. // J. Plant Cell biotech. and molecular biology, 2020, 21(57&58):109-117 (№ 3 Scopus IF-0,38).

18. Abdulmyanova L.I., Gulyamova T.G., Ruzieva D.M., Nasmetova S.M. Isolation of Dark septate endophytic fungi of plants of the *Vinca* genus. // J. Plant Cell biotech. and molecular biology, 2020,21(55&56):23-32 (№ 3 Scopus IF-0,38).

19. Ruzieva D.M., Gulyamova T.G., Nasmetova S.M., Abdulmyanova L.I., Mukhammedov I.I. Identification of secondary metabolites of the endophyte *A.egypticus*-HT166S inhibiting the activity of pancreatic α -amylase. Plant Cell Biotech. and Molecular Biology, 2020, 21(51&52):101-108 (№ 3 Scopus IF-0,38).

20. Nasmetova S.M., Ruzieva D.M., Abdulmyanova L.I., Mukhammedov I.I., Gulyamova T.G. Isolation Of A-Amylase Inhibitors From Methanol Fraction Of The Endophytic Fungus *P.Brevicaulis Alba*. // European Journal of Molecular &

Clinical Medicine, Volume 7, Issue 2, 2020, pp.2174-2181 (№ 3 Scopus IF- 0,333).

21. Abdulmyanova L.I., Yusupov U.K., Yodgorova N.T., Sharipova Z.O., Shakhmurov N. A. Endophytic Fungi Of Medicinal Plants Of Uzbekistan As Producers Of Antibiotic Compounds.// European Journal of Molecular and Clinical Medicine, Volume 07, Issue 03, 2020, pp. 3247-3257 (№ 3 Scopus IF- 0,333).

22. Абдульмянова Л.И., Файзиева Ф.Х., Эргашева В.М., Каримова Ф.А., Гулямова Т.Г. Антикоагулянтные свойства эндофитных грибов лекарственных растений Чаткальского заповедника. // V съезд микробиологов Узбекистана. Тезисы докладов. Ташкент, 12-13 октября, 2012, С. 5.

23. Абдульмянова Л.И., Рузиева Д.М., Файзиева Ф.Х., Каримова Ф.А., Саттарова Р.С., Гулямова Т.Г. Разнообразие и антимикробная активность эндофитных грибов лекарственных растений Узбекистана. // Труды Института микробиологии НАНА. Баку, 2013. Т. 11, №1, с. 329 - 334.

24. Абдульмянова Л.И., Каримова Ф.А., Файзиева Ф.Х., Гулямова Т.Г. Эндофитные грибы растений Узбекистана как продуценты фитогормонов Микробиология и вирусология. // Алматы. 2013, № 3(2), с.28 - 34.

25. Абдульмянова Л.И., Рузиева Д.М., Файзиева Ф.Х., Каримова Ф.А., Гулямова Т.Г. Эндофит *V. minor* - продуцент липидов Микробиология и вирусология. // Алматы. 2013, № 3(6), с. 20 - 30.

26. Абдульмянова Л.И., Цеомашко Н.Н., Рузиева Д.М., Азимова Ш.С., Гулямова Т.Г. Антиканцерогенные свойства эндофитных грибов барвинка. // Сборник тезисов III Международного микологического форума Национальной Академии микологии. - Москва, апрель 2015, С.380.

27. Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И., Гулямова Т.Г. Эндофитные грибы – ингибиторы α -амилазы. // Сборник тезисов III Международного микологического форума Нац.Академии микологии, Москва, 2015, С.352.

28. Абдульмянова Л.И., Цеомашко Н.Н., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г. Некоторые свойства эндофитных грибов луковичных растений Узбекистана. // Сборник тезисов Международного Симпозиума «Microbios-2015», Ташкент, 25-27 ноября, 2015. - с.173-174.

29. Абдульмянова Л.И., Файзиева Ф.Х., Цхай Ф.А., Гулямова Т.Г. Эндофитные грибы Узбекистана – продуценты антимикробных веществ. // Сборник тезисов республиканской конференции. Ташкент, 2015, С.209.

30. Абдульмянова Л.И., Рузиева Д.М., Расулова Г.А., Гулямова Т.Г. Эндофитные грибы барвинка – продуценты вина-алкалоидов. // Сборник тезисов республиканской научной конференции «Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии», Ташкент, 18 мая, 2016, с. 135-136.

31. Абдульмянова Л.И., Рузиева Д.М., Махкамова М.П., Гулямова Т.Г. Влияние состава питательных сред на ингибиторную активность экстрактов эндофитных грибов против α -амилазы. // Сборник тезисов республиканской научной конференции «Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии», Ташкент, 18 мая 2016. - с. 177-178.

32. Абдульмянова Л.И., Ф.А. Цхай. Влияние условий культивирования на качественный состав и антибактериальные свойства

фракций экстрактов эндофитных грибов лекарственных растений Узбекистана. // Сборник статей VIII международной научной конференции «Современные направления в науке и технологии», Ташкент, 2016. с.173-177.

33. Абдульмянова Л.И., Ф.А. Цхай. Меланинсинтезирующая способность эндофитных грибов лекарственных растений Узбекистана. // Сборник статей VIII международной научной конференции «Современные направления в науке и технологии», Ташкент, 18-19 ноября, 2016. - с. 241-244.

34. Рузиева Д.М., Цхай Ф.А., Абдульмянова Л.И. Эндофитные грибы Узбекистана перспективные продуценты ингибиторов α -амилазы. // Сборник материалов научно-теоретической конференции «Роль молодежи в развитии науки и образования», Ташкент, 24 ноября, 2017. - с. 74-76.

35. Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И. Грибы-эндофиты Узбекистана продуценты сапонинов. // Сборник тезисов III республиканской конференции «Современные проблемы генетики и биотехнологии», Ташкент, 2018. - с.144.

36. Абдульмянова Л.И., Цхай Ф.А., Гулямова Т.Г. Влияние эпигенетических модификаторов на синтез алкалоидов эндофитными грибами *Vinca*. // Сборник тезисов международного симпозиума «Астана Биотех 2018», Астана, 12-13 июня 2018. - С. 50.

37. Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И., Гулямова Т.Г. Антиоксидантная активность экстрактов эндофитных грибов-продуцентов ингибиторов α -амилазы. // Сборник тезисов международного симпозиума «Астана Биотех 2018», Астана, 12-13 июня 2018. - С.75.

38. Абдульмянова Л.И., Цхай Ф.А., Расулова Г.А., Гулямова Т.Г. Влияние рН среды культивирования на антимикробную активность экстрактов эндофитных грибов Узбекистана. // Сборник международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера-2018», Омск, 2018. С. 5.

39. Юсупов У.К., Шухратова М.Л., Абдульмянова Л.И. Антибактериальные свойства эндофитных грибов гармалы и саксаула. // VII Ежегодная Сборник Всероссийской Научно-Практической Конференции «Микробиология в Современной Медицине», Казань, 27 Июня 2019, Стр.91.

40. Абдульмянова Л.И., Юсупов У.К., Сохибназарова Х.А. Противостафилококковая активность эндофита *T.microspora-MO46L*. // IX Всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой», 2019, Саратов, Стр.77.

41. Абдульмянова Л.И., Юсупов У.К., Мухаммедов И.И., Каримова Ф.А. Влияние этанола на биоактивность эндофитов Узбекистана. // Республиканская конференция «Состояние и перспективы развития микробиологии и микробной Биотехнологии в Узбекистане», посвященной 80-летию академика Халмурадова А.Г. Ташкент, 24 октября 2019, Стр.47.

42. Абдульмянова Л.И., Юсупов У.К., Гулямова Т.Г. Влияние экстракта *Vinca rosea* на алкалоидсинтезирующую активность эндофитных грибов. // Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета, Курск, 7 февраля 2020. -с. 662-665.

43. Шарипова З.О., Едгорова Н.Т., Абдульмянова Л.И. Эндофитные грибы Узбекистана – продуценты антибиотиков. // Сборник научных трудов по материалам XVI Международной научно-практической конференции, Берлин, 30 марта -7 апреля 2020. - с. 219-221.

44. Абдульмянова Л.И., Юсупов У.К., Шарипова З.О., Каримова Ф.А. Антибактериальные свойства экстрактов эндофитных грибов Melissa лекарственной. Сборник VIII Всероссийской научно-практической конференции посвящённой 100-летию кафедры микробиологии Казанского ГМУ, Казань, 15 июня 2020. – с. 23-24.

45. Abdulmyanova L.I., Yusupov U.K., Sharipova Z.O. Influence of ethanol on the antibacterial activity of the endophytic fungi *T.microspora-MO46L* from *M.officinalis*. International Conference “Europe, Science And We”, Czech Republic, Praga, July 2020, pp.15-17.

46. Ruzieva D.M., Abdulmyanova L.I., Mukhammedov I.I. Endophytic Fungi of *H.tuberosus* and *C.cristata* producers of antioxidant compounds. International Scientific and Practical Conference “Scientific ideas of young scientists”, Poland, Warsawa, July 2020, pp.24-25.

47. Расулова Г.А., Рузиева Д.М. Абдульмянова Л.И. Влияние растительных экстрактов *H.tuberosus* и *C.cristata* на ингибиторную активность эндофитных грибов. Сборник международной научно-практической конференции «Дистанционные возможности и достижения науки», Украина, Киев, август 2020, с.25-26.

48. Абдульмянова Л.И., Юсупов У.К., Шарипова З.О., Абдульмянова Л.И., Расулова Г.А., Гулямова Т.Г. Эндофитные грибы, впервые выделенные из некоторых лекарственных растений Узбекистана. Сборник международного симпозиума «Современная микология в России», Россия, Москва, 2020, Т.8, Вып.3., с.246-247.

49. Sharipova Z.O., Yodgorova N.T., Abdulmyanova L.I. Comparative assessment of antibacterial properties of endophytic fungi of medicinal plants of Uzbekistan. International Multidisciplinary Scientific Conference on the “Dialogue between sciences, arts, religion”, Australia, Canberra, Mart-April 2021, pp. 93-94.

50. Sharipova Z.O., Yodgorova N.T., Abdulmyanova L.I. Antibacterial and antifungal properties of endophytic fungi of medicinal plants of Uzbekistan. International Conference of medical “Medicine and health sciences”, Italia, Venice, May-June 2021, p. 38.

51. Yusupov U.K., Abdulmyanova L.I. Gulyamova T.G. Molecular identification of antimicrobial active endophytic fungi isolated from *Calendula officinalis*. International Conference on Microbiology “Biology and Biotechnology on Microorganisms - ICMBB 2021”, Tashkent, 16-17 September 2021, p. 73.

52. Абдульмянова Л.И., Гулямова Т.Г. Эндофиты как альтернативные источники биоактивных вторичных метаболитов. Юбилейная Международная научная конференция «90 лет от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы», Москва, 10-11 июня 2021, (доклад).

Автореферат "ЎзМУ хабарномаси" таҳририятида таҳрир килинди

Босишга рухсат этилди: 10.12.2021 йил.
Бичими 60x84 ¹/₁₆, «Times New Roman»
гарнитурада рақамли босма усулида босилди.
Шартли босма табоғи: 4. Адади 100. Буюртма № 225.
Тел (99) 832 99 79; (97) 815 44 54.

Гувоҳнома reestr № 10-3279
“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмаҳонасида чоп этилган.
100031, Тошкент ш., Яккасарой тумани, Қушбеги кўчаси, 6-уй