

**“TIQXMMI” MILLIY TADQIQOT UNIVERSITETI HUZURIDAGI
FUNDAMENTAL VA AMALIY TADQIQOTLAR INSTITUTI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
PhD.03/14.07.2022.B.10.06 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**“TIQXMMI” MILLIY TADQIQOT UNIVERSITETI HUZURIDAGI
FUNDAMENTAL VA AMALIY TADQIQOTLAR INSTITUTI**

MARDIYEVA KAMILA MARATOVNA

***Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved DAN AJRATILGAN ENDOFIT
ZAMBURUG‘LAR IKKILAMCHI METABOLITLARINING BIOLOGIK
FAOLLIKLARINI TADQIQ ETISH**

**03.00.04 – Mikrobiologiya va virusologiya
03.00.12 – Biotexnologiya**

**Biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi
AVTOREFERATI**

Toshkent – 2025

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundariyasi

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Mardiyeva Kamila Maratovna

Ziziphora pedicellata Pazij et Vved dan ajratilgan endofit zamburug‘lar
ikkilamchi metabolitlarining biologik faolliklarini tadqiq etish 3

Мардиева Камила Маратовна

Изучение биологической активности вторичных метаболитов
эндоефитных грибов, выделенных из *Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved.. 23

Mardieva Kamila Maratovna

Study of biological activity of secondary metabolites of endophytic fungi
isolated from *Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved 46

E‘lon qilingan ishlar ro‘yxati

Список опубликованных работ
List of published works 49

**“TIQXMMI” MILLIY TADQIQOT UNIVERSITETI HUZURIDAGI
FUNDAMENTAL VA AMALIY TADQIQOTLAR INSTITUTI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
PhD.03/14.07.2022.B.10.06 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**“TIQXMMI” MILLIY TADQIQOT UNIVERSITETI HUZURIDAGI
FUNDAMENTAL VA AMALIY TADQIQOTLAR INSTITUTI**

MARDIYEVA KAMILA MARATOVNA

***Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved DAN AJRATILGAN ENDOFIT
ZAMBURUG‘LAR IKKILAMCHI METABOLITLARINING BIOLOGIK
FAOLLIKLARINI TADQIQ ETISH**

**03.00.04 – Mikrobiologiya va virusologiya
03.00.12 – Biotexnologiya**

**Biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi
AVTOREFERATI**

Toshkent – 2025

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiya mavzusi O‘zbekiston Respublikasi Oliy ta’lim, fan va innovatsiya vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2024.2.PhD/B1160. raqami bilan ro‘yxatga olingan.

Dissertatsiya ishi “TIQXMMI” Milliy tadqiqot universiteti huzuridagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar instituti va O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi akademik S.Y. Yunusov nomidagi O‘simlik moddalari kimyosi institutida bajarilgan. Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o‘zbek, rus, ingliz (rezyume)) Ilmiy kengash veb-sahifasida (www.tiame.uz) va “ZiyoNet” Axborot ta’lim portalida (www.ziynet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbarlar:

Egamberdiyeva Dilfuza Rustamovna
qishloq xo‘jaligi fanlari doktori, professor

Eshboyev Farhod Bakir o‘g‘li
biologiya fanlari falsafa doktori (PhD), katta ilmiy xodim

Rasmiy opponetlar:

Tashmuhamedova Shohista Sabirovna
biologiya fanlari doktori, professor

Karimov Husniddin Xolmamatovich
biologiya fanlari falsafa doktori (PhD), katta ilmiy xodim

Yetakchi tashkilot:

**O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi
Bioorganik kimyo instituti**

Dissertatsiya himoyasi “TIQXMMI” Milliy tadqiqot universiteti huzuridagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar instituti huzuridagi ilmiy darajalar beruvchi PhD.03/14.07.2022.B.10.06 raqamli Ilmiy kengashning 2025 yil “___” _____ kuni soat ___ dagi onlayn majlisida bo‘lib o‘tadi. (Manzil: 100000, Toshkent shahri, Qori Niyoziy ko‘chasi, 39-uy, Tel.:(+99871) 237-19-31, faks:(+99871)237-38-79; e-mail: ifar@tiame.uz)

Dissertatsiya bilan “TIQXMMI” Milliy tadqiqot universiteti huzuridagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar institutining axborot resurs markazida taninshish mumkin (№___ raqami bilan ro‘yxatga olingan). (Manzil: 100000, Toshkent shahri, Qori Niyoziy ko‘chasi, 39-uy, Tel.:(+99871) 237-19-31, faks:(+99871)237-38-79; e-mail: ifar@tiame.uz)

Dissertatsiya avtoreferati 2025 yil “___” _____ kuni tarqatildi.

(2025 yil “___” _____ dagi _____ raqamli reyestr bayonnomasi).

M.K. Juliyev

Ilmiy daraja beruvchi Ilmiy kengash
raisi, b.f.d.

N.Sh. Azimova

Ilmiy daraja beruvchi Ilmiy kengash
ilmiy kotibi, PhD, katta ilmiy xodim

V.B. Fayziyev

Ilmiy daraja beruvchi Ilmiy kengash huzuridagi
Ilmiy seminar raisi, b.f.d., professor

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Dunyoda global sogʻliqni saqlash muammolari tobora keskinlashib bormoqda. Infekzion kasalliklar, jumladan yangi viruslar va antibiotiklarga chidamli bakteriyalar har yili 13 milliondan ortiq inson hayotiga zomin boʻlmoqda. Shu bilan birga, surunkali kasalliklar saraton, yurak-qon tomir hamda neyrodegenerativ patologiyalar tarqalishi ortib bormoqda va ular insonlar oʻlimning asosiy sabablaridan biri boʻlib qolmoqda. Jahon sogʻliqni saqlash tashkiloti (JSST) maʼlumotlariga koʻra, onkologik kasalliklar har yili qariyb 10 million insonlarning oʻlimiga sabab boʻladi.

Hozirgi vaqtda yangi, samarali va xavfsiz dori vositalarini ishlab chiqish biotibbiyotning eng muhim vazifalaridan biri boʻlib qolmoqda. Tabiiy birikmalarga alohida eʼtibor qaratilgan boʻlib, chunki ular quyi molekulyar birikmalar asosidagi preparatlarning taxminan 63% ini tashkil qiladi. Anʼanaviy oʻsimlik manbalari faol moddalar miqdorining pastligi va resurslarning cheklanganligi sababli, istiqbolli alternativ sifatida endofitik zamburugʻlarning ikkilamchi metabolitlari koʻriladi — bu biologik faol birikmalarni yaratishda yuqori potensialga ega noyob manbadir. Biotexnologik, metabolomik va sintetik-biologik yondashuvlardan foydalanish bunday birikmalarni izlash va ajratish samaradorligini oshirish imkonini beradi.

Oʻzbekiston Respublikasida farmatsevtika sanoatini rivojlantirish, import oʻrnini bosuvchi va mahalliy xomashyo asosida yaratiladigan innovatsion dori vositalari hamda biologik preparatlarni ishlab chiqishga alohida eʼtibor qaratilmoqda. Oʻzbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish boʻyicha harakatlar strategiyasining 4-yoʻnalishida “...farmatsevtika sanoatini yanada rivojlantirish, tibbiyot muassasalari va aholini arzon, yuqori sifatli dorilar va tibbiy buyumlar bilan taʼminlash boʻyicha muhim vazifalar belgilangan”¹ deb qayd etilgan. Ustuvor yoʻnalishlardan biri yuqori terapevtik faollikka ega va past toksikligi bilan ajralib turuvchi tabiiy biologik faol moddalarining yangi manbalarini izlashdir. Shu nuqtai nazardan, endofit zamburugʻlarining ikkilamchi metabolitlari alohida qiziqish uygʻotadi, ular keng spektrli farmakologik faollikka va yangi antibakterial, oʻsmalarga va yalligʻlanishga qarshi vositalarni ishlab chiqish uchun yuqori salohiyatga ega. Shuning uchun dorivor oʻsimliklar bilan bogʻliq endofit mikroorganizmlarni tadqiq qilish, shuningdek, xalqaro samaradorlik va xavfsizlik standartlariga javob beradigan istiqbolli tabiiy birikmalar va ularga asoslangan mahalliy ishlab chiqarilgan biofarmatsevtika vositalarini ishlab chiqish dolzarb vazifalardan biri hisoblanadi.

Mazkur dissertatsiya ishi Oʻzbekiston Respublikasi Prezidentining 2018-yil 14-fevraldagi PQ-3532-sonli “Farmatsevtika tarmogʻini jadallik bilan rivojlantirish boʻyicha qoʻshimcha choralar toʻgʻrisida”gi Qarori, Oʻzbekiston Respublikasi Prezidentining 2020-yil 25-noyabrdagi PQ-4899-sonli “Biotexnologiyalarni rivojlantirish va mamlakatning biologik xavfsizlik tizimini takomillashtirish boʻyicha chora-tadbirlar majmui toʻgʻrisida”gi Qarori, shuningdek Oʻzbekiston

¹ Oʻzbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi PQ-4947 “Oʻzbekistonni rivojlantirishning beshta ustuvor yoʻnalishi boʻyicha harakatlar strategiyasi”/Elektron manba: <https://lex.uz/uz/docs/3107042>

Respublikasining 2022–2026-yillarga mo'ljallangan “Yangi O‘zbekiston” taraqqiyot strategiyasini amalga oshirish bo‘yicha 2022-yil 28-yanvardagi PF-23-sonli Prezident Farmoni hamda 2025-yil 28-yanvardagi PF-13-sonli “Farmatsevtika tarmog‘ini jadallik bilan rivojlantirish bo‘yicha qo‘shimcha chora-tadbirlar to‘g‘risida”gi Farmoni hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa me‘yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo‘nalishlariga mosligi. Ushbu tadqiqot respublika fan va texnologiyalarini rivojlantirishning VI ustuvor yo‘nalishi “Tibbiyot va farmakologiya”ga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o‘rganilganlik darajasi. Endofitik mikroorganizmlar, xususan zamburug‘lar, biologik faol ikkilamchi metabolitlarning noyob manbai bo‘lib, keng spektrli farmakologik faollikka ega ekanligi ko‘p marta qayd etilgan (Singh, 2023; Zhao, 2024). Endofitik zamburug‘lar steroidlar, terpenoidlar, alkaloidlar, fenolik birikmalar, xantonlar, izokumarinlar, peptidlar va poliketidlar kabi turli kimyoviy klasslarga mansub birikmalar hosil qilishi mumkin (Li, 2023; Kumar & Verma, 2024). Bu birikmalar antimikrob, antivirus, antioksidant, antitumor, yallig‘lanishga qarshi va immunomodulyator kabi ko‘plab biologik-faol xususiyatlarga ega ekanligi qayd etilgan (Patel, 2023; Chen, 2024).

So‘nggi yillarda endofit zamburug‘lardan olingan metabolitlar va ularning farmatsevtik va biologik imkoniyatlari yanada keng e‘tirof etilmoqda. Masalan, Wang va boshqalarning 2024-yilgi tahlilga ko‘ra, so‘ggi 5 yilda endofit zamburug‘lardan 907 ta yangi tabiiy birikmalar — poliketidlar, terpenoidlar, steroidlar, alkaloidlar, peptidlar va glykozidlar — ajratilgan (Wang, 2024). Shuningdek, endofitlardan olingan bioaktiv moddalar qatorini ko‘paytirish uchun ozuqa muhitlarini optimallashtirish, epigenetik va molekulyar usullar yordamida modifikatsiya qilish keng qo‘llanilmoqda (Zhao, 2024; Li, 2023). Biroq, muhim ilmiy bo‘shliqlar mavjud. Ayniqsa, ba‘zi hosil qilingan metabolitlar inson salomatligiga zararli kabi savollar mavjud (Patel, 2023).

Mamlakatimizda bu yo‘nalishdagi tadqiqotlar asosan O‘zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasining Mikrobiologiya va O‘simlik moddalari kimyosi institutlarida olib borilmoqda, ammo *Z. pedicellata* dan ajratilgan endofitlar kompleks tarzda o‘rganilmagan. Shu bois, *Z. pedicellata* Pazij et Vved dan ajratilgan endofit zamburug‘larning ikkilamchi metabolitlarini tadqiq etish nafaqat endofitlarning biokimyoviy potensialini kengaytiradi, balki yuqori farmakologik ahamiyatga ega yangi tabiiy birikmalarni aniqlash va samarali, xavfsiz dori vositalarini yaratish imkonini beradi.

Tadqiqotning dissertatsiya bajarilgan oliy ta‘lim yoki ilmiy–tadqiqot muassasasining ilmiy–tadqiqot ishlari rejalari bilan bog‘liqligi. Dissertatsiya ishi Milliy tadqiqot universiteti “TIQXMMI” huzuridagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar instituti “Oziq-ovqat mahsulotlarining biologik tadqiqi va ekspertizasi” laboratoriyasi, shuningdek O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi akademik S.Y. Yunusov nomidagi O‘simlik moddalari kimyosi instituti “Molekulyar

genetika” laboratoriyasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejasi doirasida bajarildi.

Tadqiqot maqsadi: *Z. pedicellata* Pazij et Vved dan ajratilgan endofit zamburug‘lar ikkilamchi metabolitlarining biologik faolligini o‘rganish, shuningdek faol zamburug‘ izolyatlarining to‘liq genom va metabolom tahlillarini o‘tkazish.

Tadqiqot vazifalari:

1. *Z. pedicellata* Pazij et Vved bilan assotsiatsiyalangan endofit zamburug‘larni ajratish va ularni molekulyar-genetik identifikatsiya qilish;

2. Ajratib olingan endofit zamburug‘lar tomonidan sintez qilinadigan ikkilamchi metabolitlarning biologik faolligini (antimikrob, saratonga qarshi va antioksidant) o‘rganish;

3. *Z. pedicellata* Pazij et Vved dan ajratib olingan endofit zamburug‘lar ekstraktlarining kimyoviy tarkibini aniqlash;

4. Eng faol shtammlarning to‘liq genom sekvensini amalga oshirish, jumladan genomni yig‘ish va uning funksional annotatsiyasini amalga oshirish;

5. Tanlab olingan shtammlarda ikkilamchi metabolitlar sinteziga javob beruchi biosintetik gen klasterlarini antiSMASH dasturi yordamida tahlil qilish;

6. Ajratib olingan endofit zamburug‘laridan foydalanilgan holda kojik kislotasi biosintezining laboratoriya sharoitida optimallashtirish;

Tadqiqot obyekti: O‘zbekiston Respublikasi hududida o‘sadigan dorivor o‘simlik *Z. pedicellata* Pazij et Vved dan ajratib olingan endofit zamburug‘lar.

Tadqiqot predmeti: *Z. pedicellata* Pazij et Vved dan ajratib olingan endofit zamburug‘larning ikkilamchi metabolitlarining biologik faolliqi, kimyoviy tarkibi va genetik xususiyatlari.

Tadqiqot usullari: Tadqiqotda mikrobiologik usullar (endofit zamburug‘larni ajratish, agar diffuziya usuli, zamburug‘lar genom tahlili), biotexnologiya usullari (ikkilamchi metabolitlarni ajratish va tozalash, spektrofotometrik va xromatografik tahlil), shuningdek molekulyar biologiya usullari (DNK ekstraksiyasi, ITS-mintaqasini PCR usuli bilan amplifikatsiya qilish, sekvenslash va nukleotid ketma-ketliklarini bioinformatik tahlil qilish) qo‘llanildi.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

1. Ilk bor O‘zbekiston hududida o‘suvchi *Z. pedicellata* Pazij et Vved dorivor o‘simligidan endofit zamburug‘lar ajratib olindi va molekulyar identifikatsiya qilindi;

2. Ajratib olingan endofit zamburug‘lar tomonidan biosintez qilingan ikkilamchi metabolitlarning antimikrob, sitotoksik va antioksidant faolliqi aniqlandi;

3. *Z. pedicellata* Pazij et Vved bilan assotsiatsiyalangan endofit zamburug‘lar ekstraktlarining kimyoviy tarkibi xromatografik va spektrofotometrik tahlil usullari yordamida ilk bor o‘rganildi;

4. Ilk bor faol endofit zamburug‘ izolyat *A. aflatoxiformans* S13 ning to‘liq genom sekvensi va funksional annotatsiyasi amalga oshirildi;

5. Birinchi marta AntiSMASH tahlili yordamida *A. aflatoxiformans* S13

endofit zamburug'ining ikkilamchi metabolitlar sinteziga javobgar bo'lgan 84 ta gen klasterini o'z ichiga oluvchi yuqori biosintetik salohiyati aniqlandi;

6. *A. aflatoxiformans* S13 va *R. arrhizus* S8.2 endofit zamburug'laridan foydalangan holda kojik kislotasini biotexnologik yo'l bilan olishning laboratoriya sharoitlari ishlab chiqildi va optimallashtirildi;

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

Tadqiqot natijalari yuqori biosintez salohiyatiga ega bo'lgan va farmakologik faol birikmalar olish uchun istiqbolli endofit zamburug'larni aniqlash imkonini berdi. Ajratib olingan shtammlar — *A. aflatoxiformans* S13 va *R. arrhizus* S8.2 asosida kojik kislotasi biosintezining laboratoriya sharoitlari optimallashtirilgan bo'lib, bu jarayonni keyinchalik kengaytirish va preparatni sanoat miqyosida ishlab chiqarish uchun zamin yaratadi.

Eng faol shtamm — *A. aflatoxiformans* S13 ning to'liq genom sekvensi va uning biosintez gen klasterlari tahlili yangi ikkilamchi metabolitlar olish maqsadida yo'naltirilgan bioinjeneriya va metabolom tadqiqotlarini amalga oshirish imkoniyatlarini ochadi. Tadqiq etilgan endofitlarning genetik va kimyoviy xususiyatlarini o'z ichiga olgan holda yaratilgan ma'lumotlar bazasi tabiiy birikmalar asosida yangi biotexnologik preparatlarni ishlab chiqishda foydalanilishi mumkin.

Shuningdek, ishlab chiqilgan yondashuvlar va usullar O'zbekiston hududidagi boshqa dorivor o'simliklar endofit mikroorganizmlarini tadqiq qilishda qo'llanilishi mumkin. Bu mamlakatimizda biotexnologiya sohasini rivojlantirish va import o'rnini bosuvchi biologik faol moddalarni yaratishga hissa qo'shadi.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi. Ushbu tadqiqot zamonaviy biotexnologiya, molekulyar biologiya, mikrobiologiya, bioinformatika va kimyoviy tahlil usullaridan foydalangan holda amalga oshirilgan. Endofit zamburug'larning identifikatsiyasi DNKning ITS-mintaqalari bo'yicha o'tkazilgan bo'lib, bu taksonomik mansublikni aniq identifikatsiyasini kafolatlaydi. Ikkilamchi metabolitlarning biologik faolligi standartlashtirilgan usullar bilan baholangan (antimikrob, antioksidant, saratonga qarshi faollik), tajribalar takrorlanuvchiligi va nazorat namunalar ma'lumotlarning reprezentativligini ta'minlaydi. Genom va metabolom ma'lumotlarning ishonchliligi antiSMASH, KEGG, COG, GO dasturlaridan foydalangan holda amalga oshirilgan, shuningdek, zamburug' ekstraktlarining kimyoviy tarkibi YuSSX, LC-MS/MS, GC-MS va rentgenostruktura tahlili (X-ray) usullari bilan o'rganilgan bo'lib, bu natijalar aniqligi va takrorlanuvchiligini ta'minlaydi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati. Ishning ilmiy ahamiyati *Z. pedicellata* Pazij et Vved bilan assotsiyalashgan endofit zamburug'larni kompleks o'rganishda, jumladan ularning molekulyar identifikatsiyasi, ikkilamchi metabolitlarning kimyoviy tarkibi, to'liq genom sekvensi va genomlarning bioinformatik tahlilini o'rganishda namoyon bo'ladi. Olingan ma'lumotlar endofit zamburug'larning biosintez salohiyati va ularning antimikrob, antioksidant va antiproliferativ faollikka ega biologik faol birikmalarni sintez qilish qobiliyati haqida tushunchalarni kengaytiradi.

Tadqiqotning amaliy ahamiyati *A. aflatoxiformans* S13 va *R. arrhizus* S8.2 endofit zamburug'laridan foydalangan holda kojik kislota olishning laboratoriya texnologiyasini ishlab chiqishda namoyon bo'ladi, bu esa uning keyingi biotexnologik ishlab chiqarilishiga asos yaratadi. Natijalar endofit zamburug'lardan dorivor o'simliklarning yangi biologik faol moddalarini qidirish va optimallashtirishda qo'llanilishi mumkin, shuningdek, mahalliy farmatsevtika sanoatining rivojlanishiga hissa qo'shadi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. *Z. pedicellata* Pazij et Vved o'simligidan ajratilgan endofit zamburug'larning molekulyar identifikatsiyasi va biologik faolligi bo'yicha olingan natijalar asosida:

Z. pedicellata Pazij et Vved o'simligidan ajratilgan endofit zamburug'larning etil atsetat ekstraktlari O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi O'simlik moddalari kimyosi institutida "Tabiiy va sintetik birikmalarning biologik faolligini *in vitro* o'rganish. Oqsil injenerligi. Rekombinant oqsillarni tayyorlash. Ijtimoiy abamiyatga ega bo'lgan va boshqa turdagi kasalliklar diagnostikasi uchun aniq molekulyar-genetik markyorlarni ishlab chiqish" mavzusidagi fundamental tadqiqotlarda qo'llanilgan (O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi ma'lumotnomasi № 4/1255-3004, 2025-yil 27-noyabr). Natijada, mazkur ekstraktlar *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* va *Pseudomonas aeruginosa* ga nisbatan kuchli antibakterial faollik, shuningdek, HeLa, HEp-2, HBL-100 va CCRF-CEM saraton hujayra liniyalariga nisbatan sitotoksik faollik namoyon qilgan; ajratilgan shtammlarning DNK ketma-ketliklari xalqaro NCBI ma'lumotlar bazasida ro'yxatdan o'tkazilgan: *R. arrhizus* (PX396432), *A. doliconidium* (OR435582), *P. africana* (OR435585), *A. alternata* (OR435586) va *A. aflatoxiformans* (PX396498). GenBank bazasida ketma-ketliklarning ro'yxatdan o'tkazilishi xalqaro ma'lumotlar bazasini boyitdi va ularning endofit zamburug'lar bo'yicha keyingi ilmiy tadqiqotlar hamda biotexnologik ishlanmalarda foydalanish imkonini yaratdi.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 2 ta xalqaro va 2 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 9 ta ilmiy ish, shulardan 5 tasi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiya vaziligi xuzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasining doktorlik dissertatsiyalar asosiy ilmiy natijalarini chop etish uchun tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda, jumladan 3 tasi respublika va 2 tasi xorijiy ilmiy jurnallarda nashr qilingan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya ishi kirish, uchta bob, xulosalar, adabiyotlar ro'yxati hamda ilovalardan iborat. Dissertatsiyaning hajmi 120 betni tashkil etgan.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Kirish qismida dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zaruriyligi, maqsad va vazifalari asoslab berilgan, tadqiqotning obyekt va predmetlari tavsiflangan, tadqiqotning respublika fan va texnologiyalarni rivojlantirishning ustuvor

yo‘nalishlariga muvofiqligi keltirilgan, tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarning nazariy va amaliy ahamiyati ochib berilgan, tadqiqot natijalarini amaliyotga joriy qilish, nashr etilgan ishlar va dissertatsiya tuzilishi bo‘yicha ma‘lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning «**Endofit zamburug‘lardan ajratib olingan ikkilamchi metabolitlarning biologik faolligini tadqiq etish va zamonaviy OMIKS-texnologiyalardan foydalanish istiqbollari**» deb nomlangan birinchi bobida endofit zamburug‘lar ikkilamchi metabolitlarining biologik faolligiga bag‘ishlangan mahalliy va xorijiy adabiyot ma‘lumotlarining kengaytirilgan sharhi taqdim etilgan. Bundan tashqari, ularni tadqiq qilishda qo‘llaniladigan OMIKS-texnologiyalarning zamonaviy usullari va yondashuvlari batafsil ko‘rib chiqilgan.

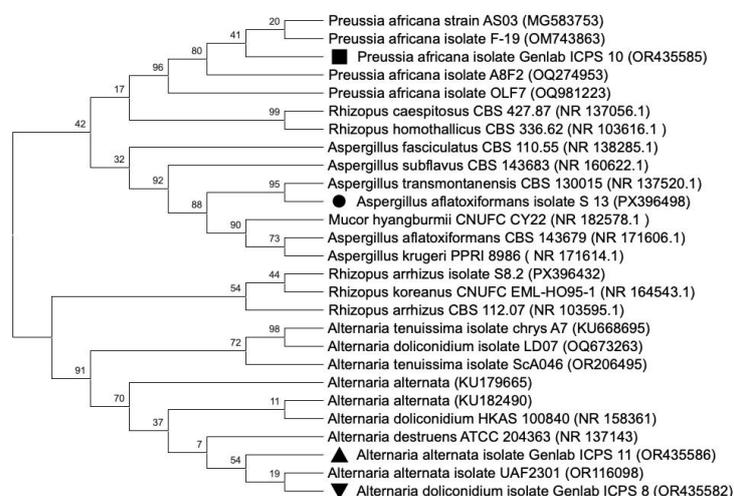
Dissertatsiyaning “**Tadqiqot materiallari va usullari**” deb nomlangan ikkinchi bobida eksperimental qism taqdim etilgan bo‘lib, unda foydalanilgan reaktivlarning tavsifi keltirilgan, endofit zamburug‘lar ikkilamchi metabolitlarining biologik faolligini o‘rganish usullari bayon etilgan, shuningdek, faol izolyatlarning genom va metabolom tahlilini o‘tkazishga bo‘lgan yondashuvlar yoritilgan.

Dissertatsiyaning uchinchi bobi “**Endofit zamburug‘lar ikkilamchi metabolitlarining biologik faolligini o‘rganish, shuningdek, faol endofit izolyatlarning genom va metabolom tahlilini o‘tkazish**”ga bag‘ishlangan. Ushbu bobda *Z. pedicellata* Pazij et Vved. dan olingan endofit zamburug‘larni ajratib olish va identifikatsiya qilish natijalari, shuningdek, ularning ikkilamchi metabolitlarining antimikrob va sitotoksik faolligi tadqiqotlari taqdim etilgan. Bundan tashqari, eng faol zamburug‘ izolyatining to‘liq genom tahlili va metabolom tahlili o‘tkazilgan.

AA. *pedicellata* Pazij et Vved. dan endofit zamburug‘larni ajratish va identifikatsiya qilish. Tadqiqotda *Z. pedicellata* Pazij et Vved o‘simligidan 24 ta zamburug‘ izolyati ajratib olindi. Eng yuqori antibakterial faollik namoyon qilgan izolyatlarni aniq taksonomik identifikatsiya qilish maqsadida, zamburug‘lar taksonomiyasi uchun universal molekulyar marker hisoblangan ribosomal DNKning ichki transkripsiya qilinuvchi speyserlari (ITS4 va ITS5 uchastkalari) amplifikatsiyasi va sekvensi o‘tkazildi; barcha olingan nukleotid ketma-ketliklari GenBank bazasida ro‘yxatdan o‘tkazildi. NCBI bazasida BLAST-qidiruv natijalariga ko‘ra, 8.2, 8.3, 8.5, 8.6 va S.13 izolyatlari mos ravishda *Rhizopus arrhizus* (PX396432), *Alternaria doliconidium* (OR435582), *Preussia africana* (OR435585), *Alternaria alternata* (OR435586) va *Aspergillus aflatoxiformans* (PX396498) sifatida identifikatsiya qilindi. Barcha faol izolyatlar *Ascomycota* bo‘limiga mansub, *Mucoromycota* ga tegishli bo‘lgan *R. arrhizus* bundan mustasno. Filogenetik daraxt sekvins natijasida olingan ITS ketma-ketliklari va ularga GenBankdagi eng yaqin besh gomologlar asosida MEGA 12 dasturi yordamida qurildi (1-rasm).

Ajratilgan izolyatlarning makro- va mikromorfologik belgilarini molekulyar identifikatsiya natijalari bilan mos kelishi aniqlandi. *R. arrhizus* 8.2 koloniyalari agarli muhitlarda tez o‘sadigan, mitseliylari paxtasimon tuzilishga ega bo‘lib, dastlab oq rangda, keyinchalik esa kulrang-krem rangiga o‘tadi; mikroskop ostida

keng koenotsitik gifa, tugunlarga ega stolonlar, ulardan chiqadigan rizoidlar to'plami, uzun sporangiesimon tashuvchilar va ular uchida joylashgan sharsimon sporangiyalar, shuningdek o'ziga xos bo'lgan soyabon-simon kolumellalar hamda ko'plab silliq sporangioporalarning mavjudligi kuzatildi (2a-rasm).



1-rasm. MEGA 12 dasturida Neighbor-Joining usuli bilan *Z. pedicellata* Pazij et Vved. dan olingan 8.2, 8.3, 8.5, 8.6 va S.13 izolyatlarining ITS-ketma-ketliklari asosida qurilgan filogenetik daraxt.

A. aflatoxiformans S13 PDA muhitida tez o'sadigan, zich, dastlab oq paxtasimon mitseliyga ega bo'lib, vaqt o'tishi bilan markaziy qismida krem-sariq tusiga kiradi; mikroskopik kuzatuvlarda silliq konidiy tashuvchilar, sharsimon vezikulalar, asosan bir qatorli fialidalar hamda ko'plab mayda sharsimon yoki yarim-sharsimon, och sariq-yashil rangli konidiylar aniqlandi (2b-rasm). Mazkur makro- va mikromorfologik belgilar majmui ushbu turlarga oid adabiyotlarda keltirilgan tavsiflarga to'liq mos keladi va molekulyar identifikatsiya natijalarining ishonchligini tasdiqlaydi.



a. *R. arrhizus* 8.2

b. *A. aflatoxiformans* S13

2-rasm. *Z. pedicellata* Pazij et Vved o'simligidan ajratilgan endofit zamburug'lar koloniyalarining KDA muhitida o'stirilganda kuzatilgan makro- va mikromorfologiyasi.

Endofit zamburug'lar ekstraktlarining antimikrob faolligi. *Z. pedicellata* Pazij et Vved o'simligidan ajratib olingan endofit zamburug'lar ekstraktlarining antimikrob xususiyatlari beshta shartli patogen mikroorganizmga nisbatan o'rganildi. 8.2, 8.3, 8.5, 8.6 va S.13 izolyatlarining ekstraktlari test qilingan

mikroorganizmlarga qarshi yaqqol antibakterial faollikni namoyon etib, turli diametrdagi ingibirlash zonalarini hosil qildi (1-jadval).

R. arrhizus 8.2 ekstraktlari o'rtacha, biroq keng ta'sir doirasiga ega antimikrob faollik ko'rsatdi; ingibirlash zonalarini 12.05 ± 0.15 mm dan 18.3 ± 0.2 mm gacha bo'ldi. Keyinchalik ekstrakt silikagel kolonkasidan foydalanilgan holda qutiblilik darajasiga ko'ra fraksiyalarga ajratildi. Birinchi, qutibsiz n-geksan fraksiyasi antimikrob faollikni namoyon etmadi. Xloroform fraksiyasi barcha fraksiyalar ichida eng yuqori faollikni ko'rsatib, ingibirlash zonalarini 20.5 ± 0.3 mm – 37.75 ± 0.25 mm diapazonda bo'ldi. Etilatsetat (EtOAc) fraksiyasi ham sezilarli antimikrob faollikni namoyish etdi (12.44 ± 0.16 mm – 20.4 ± 0.15 mm). Shu bilan birga, metanol ekstrakti faqat *P. aeruginosa* ga nisbatan faollik ko'rsatib, 11.78 ± 0.45 mm ingibirlash zonasini hosil qildi. *A. doliconidium* ekstraktlari *B. subtilis*, *S. aureus* va *P. aeruginosa* ga nisbatan yuqori antibakterial faollikni ko'rsatdi; ularning ingibirlash zonalarini mos ravishda 17.36 ± 0.18 mm, 20.6 ± 0.15 mm va 24.4 ± 0.36 mm ni tashkil etdi, biroq *E. coli* va *C. albicans* ga qarshi faollik kuzatilmadi. *P. africana* va *A. alternata* ekstraktlari o'xshash natijalarni ko'rsatdi: *B. subtilis*, *S. aureus* va *P. aeruginosa* ga nisbatan aniq antibakterial faollik, ammo *E. coli* va *C. albicans* ga qarshi ta'sir yo'qligi qayd etildi. *A. aflatoxiformans* ekstraktlari esa keng ta'sir doirasiga ega bo'lib, besh turning barchasiga nisbatan faollikni ko'rsatdi. Ingibirlash zonalarini 10.00 ± 0.2 mm dan 13.26 ± 0.15 mm gacha bo'ldi.

1-jadval

Endofit zamburug'lar etilatsetat ekstraktlarining antimikrob faolligi

Zamburug' izolyatlari	Ingibirlash zonasi (mm, o'rtacha ± SE, n = 3)				
	Grammusbat bakteriyalar		Grammanfiy bakteriyalar		Achitqilar
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
<i>R. arrhizus</i>	17.25±0.4	18.3±0.2	16.1±0.15	14.00±0.12	12.05±0.15
<i>R. arrhizus</i> (n-geksan)	nofaol	nofaol	nofaol	nofaol	nofaol
<i>R. arrhizus</i> (xloroform)	35.5±0.40	35.25±0.04	32.1±0.2	37.75±0.25	20.5±0.3
<i>R. arrhizus</i> (EtOAc)	20.2±0.26	20.4±0.15	15.5±0.44	24.85±0.3	12.44±0.16
<i>R. arrhizus</i> (metanol)	nofaol	nofaol	nofaol	11.78±0.45	nofaol
<i>A. doliconidium</i>	17.36±0.18	20.6±0.15	nofaol	24.4±0.36	nofaol
<i>P. africana</i>	15.43±0.20	17.5±0.23	nofaol	18.53±0.29	nofaol
<i>A. alternata</i>	18.46±0.21	17.45±0.20	nofaol	21.23±0.14	nofaol
<i>A. aflatoxiformans</i>	12.33±0.17	13.26±0.15	10.00±0.2	12.7±0.27	12.17±0.44
Ampitsillin/sulbaktam	27.4 ±0.1	28.5±0.25	Test qilinmadi	Test qilinmadi	Test qilinmadi
Gentamitsin	Test qilinmadi	Test qilinmadi	26.1±0.15	27.51±0.15	Test qilinmadi
Flukonazol	Test qilinmadi	Test qilinmadi	Test qilinmadi	Test qilinmadi	28.33±0.33

Shuni ta'kidlash kerakki, faollik ko'rsatmagan yoki juda zaif faollikni namoyon etgan ekstraktlar jadvalda keltirilmagan. Ushbu tadqiqot natijalari *Z. pedicellata* o'simligidan ajratib olingan endofitik zamburug'larning yangi antimikrob birikmalar manbai sifatidagi katta salohiyatga ega ekanligini ko'rsatadi.

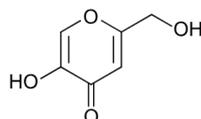
Ikkilamchi metabolitlarning sitotoksik faolligi. Zamburug‘ izolyatlaridan olingan ikkilamchi metabolitlarning sitotoksik faolligi yangi o‘smaga qarshi moddalarni dastlabki baholashda keng qo‘llaniladigan to‘rtta standart saraton hujayra liniyasidan foydalanilgan holda baholandi (2-jadval). Olingan natijalarga ko‘ra, *A. doliconidium* ekstrakti sinovdan o‘tkazilgan barcha hujayra liniyalariga nisbatan sezilarli sitotoksik faollik namoyon etmadi. *P. africana* ikkilamchi metabolitlari HeLa, HEp-2 va HBL-100 hujayralariga qarshi sitotoksik faollik ko‘rsatib, ularning o‘shini mos ravishda 59,0%, 12,0% va 20,0% ga ingibirladi. *A. alternata* ekstrakti barcha tadqiq qilingan hujayra liniyalarida kuchsiz faollik namoyon etdi, hujayra o‘shini 19,5% dan 38,0% gacha ingibirladi. *R. arrhizus* va *A. aflatoxiformans* ekstraktlari sinovdan o‘tkazilgan hujayra liniyalariga nisbatan faollik ko‘rsatmadi. Shuni ta’kidlash kerakki, barcha o‘rganilgan ekstraktlarning faolligi nazorat preparati sisplatin bilan solishtirganda pastroq bo‘ldi.

1-jadval

Ajratib olingan endofit zamburug‘lar ikkilamchi metabolitlarining sitotoksik faolligi

Ekstraktlar	Hujayra liniyalari	Hujayralar o‘shini bostirish, %			
		HeLa	HEp-2	HBL-100	CCRF-CEM
<i>R. arrhizus</i>		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
<i>A. doliconidium</i>		0.0±0.0	0.0±0.0	3.7±0.9	4.0±1.5
<i>P. africana</i>		59.0±2.4	12.0±1.7	20.0±2.1	0.0±0.0
<i>A. alternata</i>		27.3±1.4	20.1±1.4	19.5±1.3	38.0±2.3
<i>A. aflatoxiformans</i>		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Sisplatin		99.8±3.2	74.2±2.4	84.9±3.0	98.2±2.8

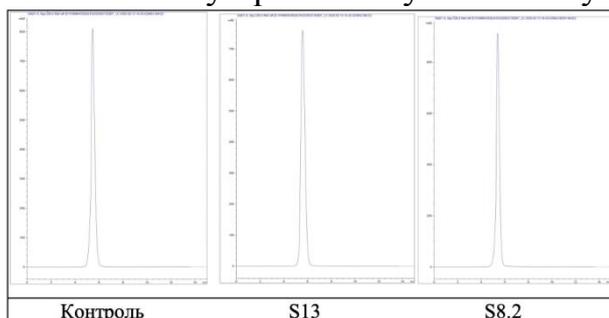
***pedicellata* Pazij et Vved dan izolatsiya qilingan endofit zamburug‘lar ekstraktlarining kimyoviy tarkibini o‘rganish.** Ish jarayonida faqat biologik faollikka emas, balki olingan ekstraktlar miqdoriga ham alohida e’tibor qaratildi, chunki individual faol moddalarni ajratib olish uchun yetarli miqdorda ekstrakt talab etiladi. *R. arrhizus* 8.2 va *A. aflatoxiformans* S13 ning kultural suyuqligi etil atsetat yordamida ekstraksiya qilinishi natijasida shisha flokonning ichki devorlarida sezilarli miqdorda kristall cho‘kma hosil bo‘ldi. Asosiy kristall birikmani aniqlash maqsadida kristallar ketma-ket organik erituvchilar bilan yuvilgan holda rekristallizatsiya usuli bilan tozalandi. Monokristallarning rentgenostrukturaviy tahlili natijasida ajratib olingan birikma kojik kislotasi ekanligi aniqlandi (3-rasm).



2-rasm. *R. arrhizus* S8.2 va *A. aflatoxiformans* S13 dan ajratib olingan kojik kislotasining kimyoviy tuzilishi.

Toza mahsulot unimdorligi *R. arrhizus* 8.2 uchun 1 litr kultural suyuqlikka 6,0 g, *A. aflatoxiformans* S13 uchun esa 8,0 g ni tashkil qildi. Har ikki shtamndan ajratilgan kojik kislotasining tozaligi YSSX usuli bilan aniqlandi (4-rasm). Xromatografik tahlil natijalari ajratilgan kojik kislotasining yuqori darajada toza

ekanligini (99,9 %) ko'rsatdi ya'ni aralashmalar mavjudligiga ishora qiluvchi qo'shimcha piklar aniqlanmadi. Bunday ko'rsatkichlar har ikki shtammning yuqori mahsuldorligi va keyingi tozalashning oddiyligi tufayli kojik kislotasini biotexnologik yo'l bilan olish uchun yuqori salohiyatini namoyon etadi.



4-rasm. *R. arrhizus* S8.2 va *A. aflatoxiformans* S13 dan ajratilgan kojik kislotasining YSSX-tahlili.

Xromatografik tahlil natijalari ajratilgan kojik kislotasining yuqori darajada toza ekanligini (99,9 %) ko'rsatdi ya'ni aralashmalar mavjudligiga ishora qiluvchi qo'shimcha piklar aniqlanmadi. Bunday ko'rsatkichlar har ikki shtammning yuqori mahsuldorligi va keyingi tozalashning oddiyligi tufayli kojik kislotasini biotexnologik yo'l bilan olish uchun yuqori salohiyatini namoyon etadi.

3-jadval

***R. arrhizus* 8.2 EtOAc ekstraktining kimyoviy tarkibi**

№	Birikmalar	Sinf	Ma'lum birikmalarning kimyoviy strukturalari
1	Okratoksin A	Kumarinlar	
2	Oksipeutsedanin metanolat	Kumarinlar	
3	Atropin metilbromid	Aniqlanmagan	
4	Gordenin	Tirozin alkaloidlari	
5	Fen-S23:1	Yog' kislotalari	
6	5-Okso-6E,8Z,11Z,14Z-eikozatetraenovaya kislota	Yog' kislotalari	
7	5-Alliloksipsoralen (5-Allyloxypsoalen)	Kumarinlar	
8	Geraklenin	Kumarinlar	

9	Salitsin	Fenol kislotalar	
10	4-hydroxy-1-methoxy-6,6,9a-trimethyl-4,5,5a,7,8,9-hexahydro-1H-benzo[e][2]benzofuran-3-one	Seskviterpenoidlar	
11	Ometoat	Aniqlanmagan	
12	Fenamifos	Alkaloidlar	
13	3-Asetil-2-(4-xlorfenil)-4-gidroksi-1-(2-indol-3-il etil)-5-okso-3-pirolin	Alkaloidlar	
14	3,4-Digidroksi-beta-fenilpropion kislota	Fenilpropanoidlar	
15	(3Z)-3-[[1,6-dimetil-2-[(1E,3E)-penta-1,3-dienil]-4a,5,6,7,8,8a-geksahidro-2H-naftalin-1-il]-gidroksimetiliden]-5-(1-gidroksi-etil)pirolidin-2,4-dion	Siklik poliketidlar	

Bundan tashqari, biologik faollik ko'rsatgan zamburug' izolatlarini ekstraktlarining kimyoviy tarkibi gaz xromatografiyasi-mass-spektrometriya (GC-MS) usuli yordamida tahlil qilindi. *A. doliconidium*, *P. africana* va *A. alternata* izolatlaridan olingan etilatsetat ekstraktlarining kimyoviy tarkibi GC-MS yordamida o'rganildi va mos ravishda 30, 23 va 44 ta birikma aniqlandi (4-6-jadval). Ushbu natijalar zamburug' ekstraktlarining tarkibida turli biologik faol birikmalar, sterollar, yog' kislotalari va fenol hosilalari mavjudligini hamda ularning birgalikda biologik ta'sirni shakllantirishini ko'rsatdi.

4-jadval

A. doliconidium EtOAc ekstraktining kimyoviy tarkibi

No	Birikmalar	Ushlash vaqti (RT, min)	%
1	Propanitril	2.292	1.94
2	Indol	13.222	3.77
3	2,2,4-Trimetil-1,3-pentandiol diizobutirat	16.998	6.95
4	(5-Nitrogeks-1-enil)benzol	17.324	0.86
5	Tirozol, asetat	19.853	2.77
6	n-Geksadekan kislota	20.839	2.35
7	3,4-Bis(metil)oxolin	21.272	0.84
8	2-Fenil-2-nonenol	21.823	1.35
9	9,12-Oktadekadien kislota (Z,Z)-	22.524	2.44
10	2,5-Piperazindion, 3-(fenilmetil)-	23.077	2.15
11	(E)-3-Fenil-2-geptenitril	23.208	1.70
12	2-(1-Piperidino)-5-nitropiridin	23.809	1.61
13	1,6-Dimetil-3,4-(5'-metilbenzo)-2-oksabitsiklo(4.1.0)gept-3-en-5-on	23.949	1.54
14	2-Fenil-2,4-oktadienol	24.015	1.07

15	(3S,9aS)-3-Benzil-2,3,4,6,7,8,9,9a-oktagidropirido[1,2-a]pirazin-1-on	24.839	2.93
16	(2-Metil-2-fenilsiklogeksil)sirka kislota, (trans)-	25.113	1.70
17	siklogeksan, 1,3,5-trifenil-	25.331	0.40
18	Etanon, 1-(3-indolil)-2-(4-metilfenil)-	26.409	0.22
19	1'-Fosfaspiro[tsiklopropan-1,2'-indan], 1'-mentil-	27.252	2.88
20	(1R)-1-(2,6-Dixlor-3-ftorfenil)etanol, metil efiri	27.447	1.03
21	1H-Izoindol-1,3(2H)-dion, 2-butil-4,5,6,7-tetragidro-	27.732	0.82
22	1-(3-Xlorfenil)-3-metil-1H-pirazol-5-amin	30.200	1.82
23	2-Etilakridin	30.424	1.09
24	2-Gidrazino-8-gidroksi-4-fenilxinolin	30.645	9.98
25	Ergosta-5,7,9(11),22-tetraen-3-ol, (3 β ,22E)-	34.209	4.08
26	Ergosta-7,22-dien-3-ol, (3 β ,22E)-	35.378	1.70
27	Kampesterol	35.516	4.54
28	Stigmasterol	36.307	5.86
29	Ergost-7-en-3-ol	36.756	3.26
30	Gamma-sitosterol	37.382	26.07

5-jadval

P. Africana EtOAc ekstraktining kimyoviy tarkibi

No	Birikmalar	Ushlash vaqti (RT, min)	%
1	Benzil spirt, 4-gidroksi-	15.053	6.25
2	Benzil spirt, 4-(atsetiloksi)-	15.281	1.54
3	2,2,4-Trimetil-1,3-pentandiol diizobutirat	16.996	2.42
4	6-Xromanol	17.158	1.40
5	4-(4-gidroksi-3-metoksifenil)-2-butanon	17.685	3.83
6	7-Metil-oksa-tsiklododeka-6,10-dien-2-on	18.235	2.26
7	Benzenthioil, 3-etoksi-	19.149	1.98
8	Geksadekanovaya kislota, metil efiri	20.453	0.39
9	n-Geksadekan kislota	20.852	1.73
10	Geksadekan kislota, etil efiri	21.119	0.61
11	9,12-Oktadekadien kislota, metil efiri	22.105	0.32
12	Z-11-Pentadetsen ol	22.532	0.71
13	9(E),11(E)-Kon'yugatsiyalangan linol kislota, etil efiri	22.715	1.90
14	(E)-9-Oktadetsen kislota, etil efiri	22.758	1.54
15	1-(4-Gidroksi-3-metoksifenil)dek-4-en-3-on	23.98	0.56
16	5-Gidroksi-1-(4-gidroksi-3-metoksifenil)dekan-3-on	24.824	0.39
17	1-(3-Xlorfenil)-3-metil-1H-pirazol-5-amin	25.37	1.80
18	2-(Atsetometil)-3-(metoksikarbonil)bifenilen	25.766	1.04
18	Skvalen	28.503	9.49
20	cis-Tsiklogeks-4-en-1,2-dikarbon kislota, geksilfenetil efiri	28.947	4.34
21	Ergosterol	34.953	35.40
22	Stigmasterol	36.258	3.17
23	Gamma-Sitosterol	37.342	16.89

6-jadval

A. Alternata EtOAc-ekstrakti komponentlari

No	BirikmalarUshlab turish vaqti (RT, min)	Ushlash vaqti (RT, min)	%
1	Propanitril	2.259	0.72
2	Gidrazin, 1,2-dimetil-	2.412	0.08
3	Atsetaldegid, di-sek-butil atsetal	4.672	2.72
4	2,3-Butandiol	4.861	0.49
5	Malevin anhidrid	5.974	4.56
7	2-Gidroksi-3-pentanon	6.989	1.63
8	1-Metoksi-geksan	7.129	0.98
9	5-Metil-2(3H)-furanon	7.233	5.66
10	Digidro-3-metilen-2,5-furandion	7.603	16.58
11	2-Furankarboksaldegid, 5-metil-	7.926	0.50

12	2,4-Digidroksi-2,5-dimetil-3(2H)-furan-3-on	8.148	0.76
13	Yantar anhidrid	9.004	23.72
14	1,4-Butandiamin	9.911	0.17
15	Metilentsiklopropan karbon kislotasi	10.291	1.51
16	Feniletil spirt	10.455	1.92
17	Izopropil 3-metoksipropionat	10.649	3.37
18	d-Treo-O-etiltreonin	10.727	2.47
29	1,4-Dioksan-2,5-dion, 3,6-dimetil-	11.338	1.24
20	5,5-Dimetil-2-fenil-1-pirrolin-3-on	11.382	0.76
21	Imidazol-2-karbon kislotasi, 1-metil-	12.115	0.23
22	2-Kumaranon	12.315	1.49
23	5-Gidroksimetilfurfural	12.379	1.54
24	4-Gidroksi-benziletanol	15.032	4.25
25	4-(2-Metoksietil)fenol	15.183	1.58
26	Feniletilaktat	15.381	0.92
27	1,4,7,10,13,16,19,22-Oktaoksatsiklotetrakosan-2,14-dion	15.521	0.57
28	Pentan kislotasi, 2,2,4-trimetil-3-karboksi-izopropil, izobutil efiri	16.97	3.40
29	6-Xromanol	17.129	0.27
30	Etanol, 2-[2-(2-butoksietoksi)etoksi]-	17.92	0.32
31	1-Oksa-2-sila-5-boratsiklopent-3-en, 4,5-dietil-2,2-dimetil-3-(1-metiletetil)-	18.172	0.22
32	Pirazol-5-karbon kislotasi, 1,3-dimetil-	18.22	1.64
33	Fenol, 3-fenoksi-	19.283	1.20
34	Nonan kislotasi, 9-okso-, metil efiri	20.442	0.69
35	trans-4,6-Dimetil-3,7,9-trioksa-bitsiklo[4.2.1]nonan	20.517	0.40
36	Pirrolo[1,2-a]pirazin-1,4-dion, geksagidro-3-(2-metilpropil)-	20.678	0.59
37	2-Propanon, 1-fenil-, oksim	20.892	0.57
38	3a-(3,4-Metilendioksi)-geksagidroindon	21.054	0.38
39	N-[1-(4-Metoksi-6-oksopiran-2-il)-2-metilbutil]atsetamid	22.536	0.42
40	1-Metoksi-3-(metoksimetoksi)-benzol	22.697	3.88
41	Etil 5-(furan-2-il)-1,2-oksazol-3-karboksilat	23.571	0.42
42	1,1,1,5,7,7-Geptametil-3,3-bis(trimetilsiloksi)tetrasiloksan	23.68	0.92
43	Tsiklogeksan, 1,3,5-trifenil-	25.308	0.75
44	1H-indol-2-karbon kislotasi, 6-(4-etoksifenil)-3-metil-4-okso-4,5,6,7-tetragidro-, izopropil efiri	35.714	0.60

Aniqlangan moddalar orasida furan hosilalari, alkaloidlar, terpenoidlar, poliketoidlar, anhidridlar, spirtlar va fenol birikmalari ustunlik qildi, bu esa biologik faol molekular sintezga yo'naltirilgan murakkab metabolit yo'llarning mavjudligini ko'rsatadi. Yantar anhidridi, dihidro-3-metilen-2,5-furandion, 5-metil-2(3H)-furanon va kojik kislotasi kabi birikmalarning yuqori miqdorda aniqlanishi ushbu produsentlarning antioksidant va antimikrob metabolitlar sintez qilish qobiliyati kuchli ekanligidan dalolat beradi.

Olingan natijalar tadqiq qilingan izolyatlarning boy metabolik profilga ega ekanligini va uni keyingi biotexnologik tadqiqotlar uchun istiqbolli ob'ekt sifatida ko'rsatadi.

A. aflatoxiformans S13 ning to'liq genomi ketma-ketligi. *A. aflatoxiformans* S13 kojik kislotasi sintez qilish bo'yicha yuqori potensialini namoyon etdi, bu esa uni genom va biotexnologik tadqiqotlar uchun qimmatli ob'ektga aylantiradi. *A. aflatoxiformans* S13 genomi yuqori samarali texnologiyalar yordamida ketma-ket o'qildi va yig'ma majmua shaklida to'plandi, bu esa yuqori butunlik va to'liqlik ko'rsatkichlarini namoyon etdi. Genomning umumiy uzunligi 38 170 384 juft nukleotidni tashkil etdi, bu *Aspergillus* turkumining boshqa vakillari genom

o'Ichamlariga mos keladi. O'rtacha GC tarkibi 47,31 % ni tashkil etdi, bu endofit zamburug'lar uchun xos bo'lgan diapazon bilan mos keladi (7-jadval).

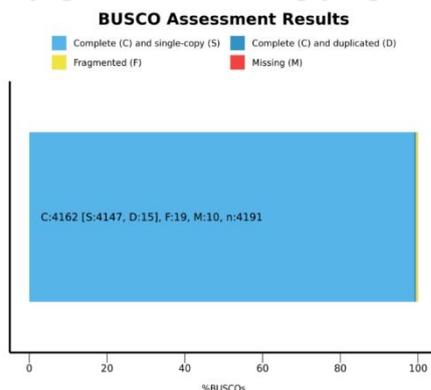
Yig'ma majmua 114 kontigni o'z ichiga oladi va umumiy uzunligi 38,1 Mb ni tashkil qiladi; uzunligi ≥ 1000 juft nukleotid bo'lgan kontiglar soni 75 tani tashkil etdi. Eng uzun kontig 2 428 351 juft nukleotiddan iborat bo'ldi. N50 ko'rsatkichi 1 010 401 juft nukleotidni, N75 esa 740 781 juft nukleotidni tashkil etdi, L50 va L75 qiymatlari mos ravishda 12 va 23 ni tashkil etdi. Bo'sh joylar soni (N) 100 kb da 0,00 bo'lib, bu identifikatsiya qilinmagan hududlarning yo'qligidan dalolat beradi.

7-jadval

QUAST dasturi yordamida genom yig'ish tahlili natijalari

Parametr	Qiymat
Kontiglar soni ($\geq 1\ 000$ bp)	75
Umumiy uzunlik (≥ 0 bp), bp	38 170 384
Kontiglar umumiy soni	114
Eng uzun kontig, bp	2 428 351
GC tarkibi, %	47.31
N50, bp	1 010 401
N75, bp	740 781
L50 (kontiglar soni)	12
L75 (kontiglar soni)	23
100 kbp ga "N" soni	0.00

Genomning to'liqligi BUSCO (versiya 5.8.0) dasturi yordamida *fungi_odb10* bazasi (2024-yil yanvar, 549 ta zamburug' genomidan 758 BUSCO) asosida baholandi va yuqori darajadagi butunlik aniqlandi: C: 99,3 % to'liq BUSCO genlari, jumladan S: 99,0 % yakka genlar va D: 0,4 % duplikat genlar; F: 0,5 % fragmentlangan genlar; M: 0,2 % mavjud bo'lmagan genlar (5-asm). Ushbu ko'rsatkichlar evolyutsion jihatdan konservativ genlarning deyarli to'liq ifodalanganligini va yig'ma majmuanning yuqori sifatini ko'rsatadi. Muhim uzilishlarning yo'qligi va ketma-ketlikning past darajadagi fragmentlanishi genlarni to'g'ri moslashtirish va genom yig'masi sifatining yuqoriligini tasdiqlaydi.

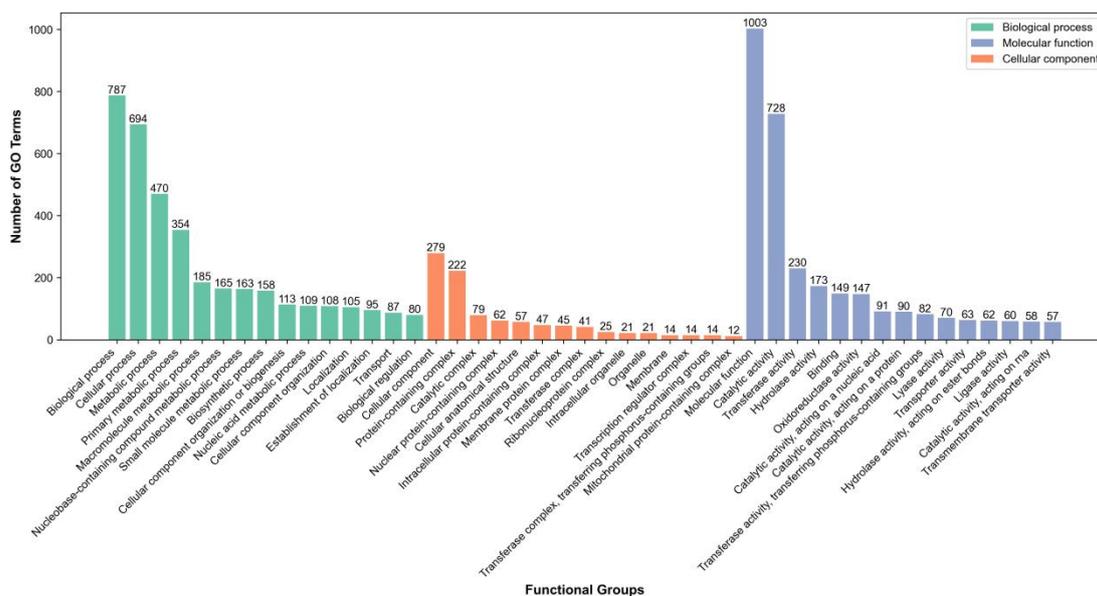


5-rasm. BUSCO usuli dasturi yordamida yig'ilgan genomni baholash natijalari.

A. aflatoxiformans S13 genomining funksional annotatsiyasi. Augustus dasturi yordamida bajarilgan genlar izohi 11 150 ta oqsillarni kodlovchi genlarni

aniqlashga imkon berdi, ularning o‘rtacha oqsil uzunligi 531,46 aminokislotadan iborat ekanligi aniqlandi.

eggNOG va InterProScan natijalarini tahlil qilish *A. aflatoxiformans* S13 ning bashorat qilingan oqsillarini Gene Ontology (GO) funksional kategoriyalariga ajratishga imkon berdi: biologik jarayonlar, molekulyar funksiyalar va hujayra komponentlari. GO terminlarining taqsimoti shuni ko‘rsatdiki, aksariyat oqsillar biologik jarayonlar (yashil kategoriya), molekulyar funksiyalar (ko‘k kategoriya) bilan bog‘liq va kichik qismi hujayra komponentlariga (sariq kategoriya) tegishli (6-rasm). Biologik jarayonlar kategoriyasida eng ko‘p oqsillar metabolizm jarayonlarda (787 oqsil), hujayra jarayonlarida (694) va katabolitik jarayonlarda (470) ishtirok etadi. Metabolizmni tartibga solish, transport va hujayra komponentlarini tashkil etish kabi boshqa jarayonlar kamroq oqsillar bilan ifodalangan (80 dan 354 gacha oqsil). Hujayra komponentlari kategoriyasida hujayra membranasi (279 oqsil), oqsil komplekslari (222) va sitoplazmatik strukturalar (79) kabi terminlar mavjud. Molekulyar funksiyalar kategoriyasida esa katalitik faollik (728 oqsil) va transferaza faolligi (230 oqsil) bilan bog‘liq terminlar ustunlik qiladi.

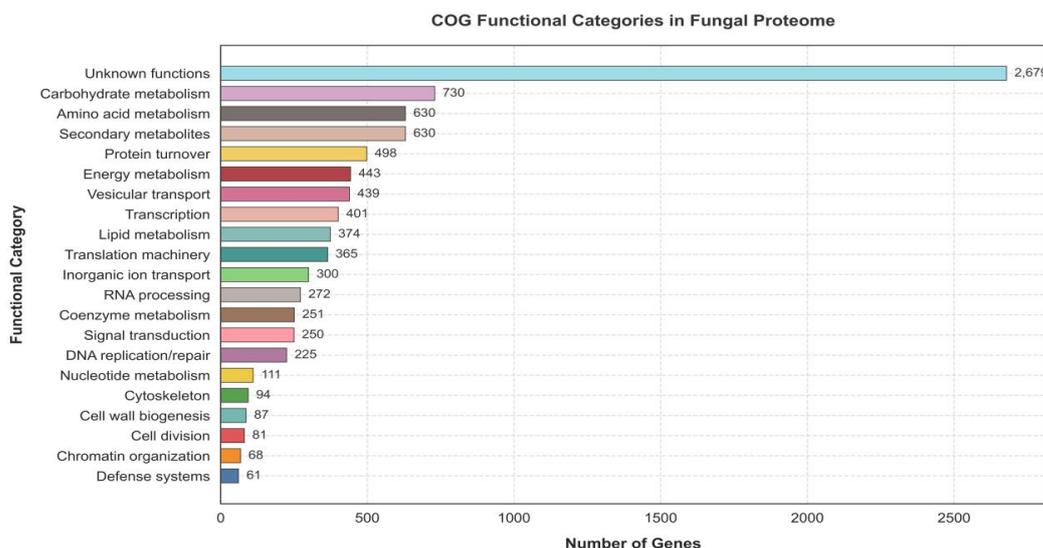


6-rasm. *A. aflatoxiformans* S13 oqsillari funksiyalarining GO-annotatsiyasi.

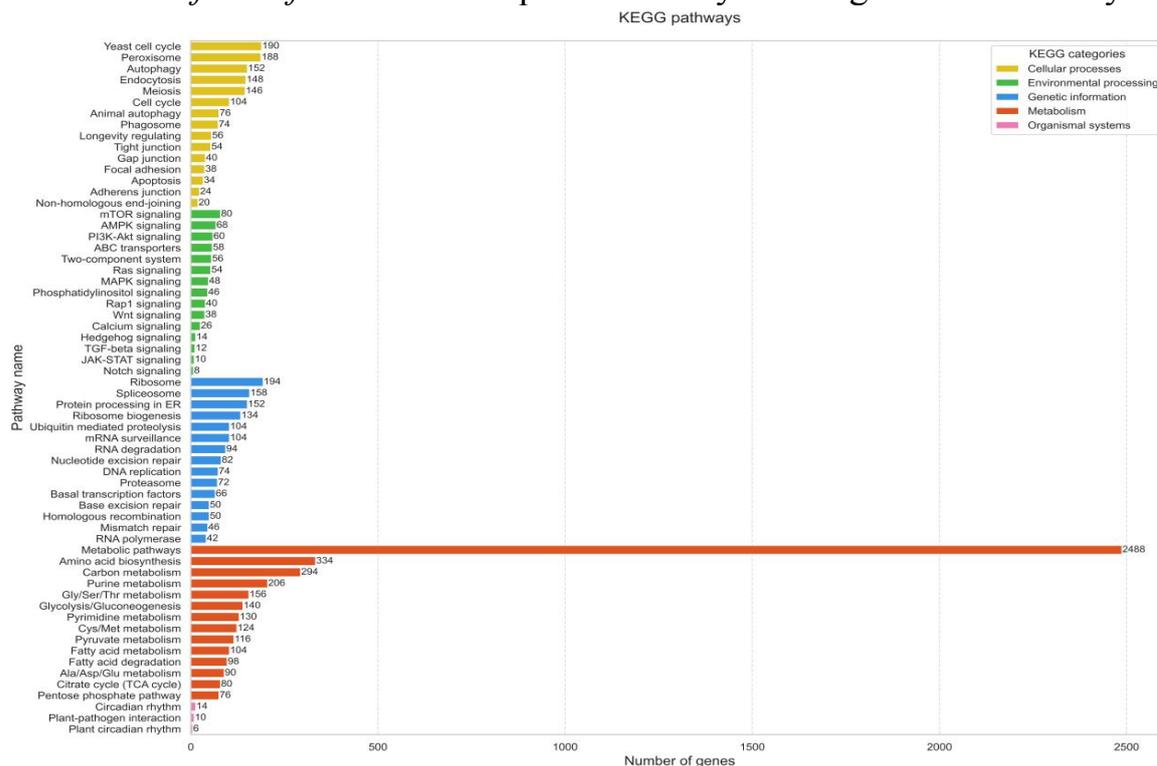
A. aflatoxiformans S13 proteomining COG tasnifi bo‘yicha funksional tahlili shuni ko‘rsatdiki, aksariyat oqsillar asosiy metabolitik jarayonlar bilan bog‘liq: uglevodlar metabolizmi – 730 oqsil, aminokislotalar metabolizmi – 630, ikkilamchi metabolitlarning sintezi va metabolizmi – 630, oqsillar almashinuvi – 498, energiya metabolizmi – 443 (7-rasm). Ushbu ma’lumotlar *A. aflatoxiformans* S13 ning metabolik moslashuvchanligini va turli muhit sharoitlariga moslasha olish qobiliyatini aks ettiradi.

A. aflatoxiformans S13 genlarining KEGG bazasi bo‘yicha funksional izohi tahlili shuni ko‘rsatdiki, aniqlangan genlarning aksariyati (2488 ta) metabolitik yo‘llarga tegishli bo‘lib, bu birlamchi va ikkilamchi metabolizmning rivojlangan

tizimini aks ettiradi. Eng ko‘p uchraydiganlar aminokislotalar metabolizmi (334 gen), uglevodlar metabolizmi (294) va lipidlar metabolizmi (206) ekanligi aniqlandi (8-rasm). Ushbu ma’lumotlar *A. aflatoxiformans* S13 ning murakkab va integratsiyalashgan metabolitik va regulyator yo‘llar tizimiga ega ekanligini ko‘rsatadi.



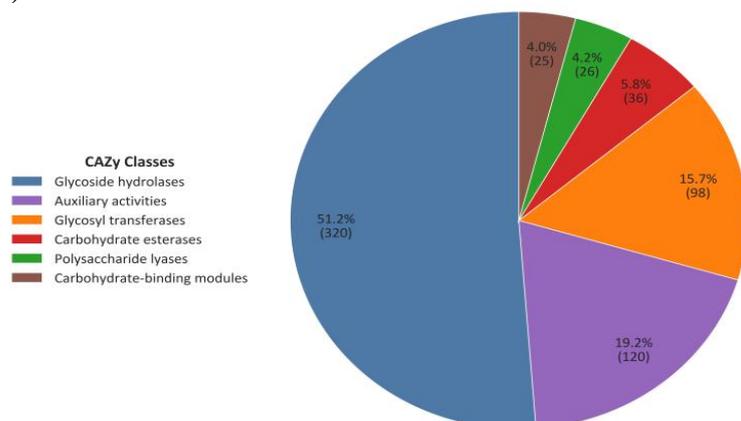
7-rasm. *A. aflatoxiformans* S13 oqsillari funksiyalarining COG-annotatsiyasi



8-rasm. KEGG ma’lumotlar bazalari bo‘yicha *A. aflatoxiformans* S13 genomining funksional annotatsiyasi.

A. aflatoxiformans S13 genomi fermentlarining CAZy klasslari bo‘yicha taqsimoti uglevodlar metabolizmining xususiyatlari va shtamning fermentativ potensialini aks ettiradi. Eng katta ulush glikozidgidrolazlar (GH, 320 gen, 51,2%) bo‘lib, ular murakkab uglevodlarning gidrolizini katalizlaydi. Keyingi o‘rinda yordamchi faolliklar (AA, 120 gen, 19,2%) bo‘lib, ular gidrolazlar bilan sinergik

ta'sir ko'rsatadi; glikoziltransferazlar (GT, 98 gen, 15,7%) glykozid bog'larini sintez qilish va modifikatsiya qilishda ishtirok etadi; karbongidrat esterazlar (CE, 36 gen, 5,8%), polisaxaridliazlar (PL, 26 gen, 4,2%) va uglevod bog'lovchi modullar (CBM, 25 gen, 4,0%) esa fermentlarni substratlarga bog'lashni ta'minlaydi (9-rasm).



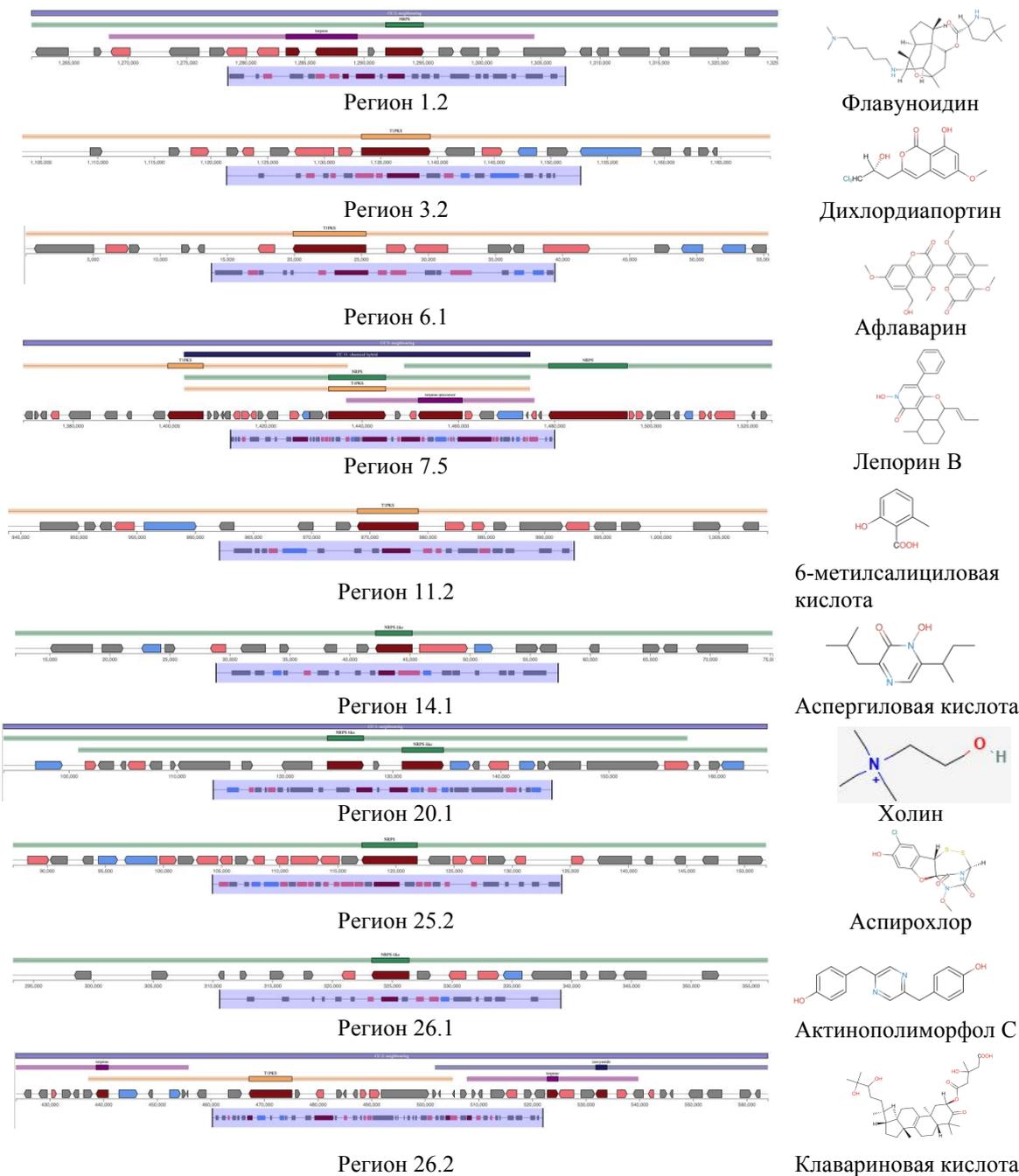
9-rasm. CAZy ma'lumotlar bazasi bo'yicha *A. aflatoxiformans* S13 genomining annotatsiyasi.

Tadqiq qilingan shtamning genomi funksional izohi GO, COG, KEGG va CAZy ma'lumotlar bazalari yordamida amalga oshirilib, uning genetik va metabolitik potensialini kompleks tarzda xarakterlash imkonini berdi.

***A. aflatoxiformans* S13 ning AntiSMASH tahlili.** antiSMASH dasturi yordamida *A. aflatoxiformans* S13 genomida 84 ta ikkilamchi metabolitlarning biosintez gen klasterlari aniqlandi. Aniqlangan klasterlar quyidagi kategoriyalarga taqsimlandi: 22 ta terpen klasteri, 19 ta poliketid sintaz (PKS) klasteri, 19 ta nopeptid sintaz (NRPS) klasteri, 1 ta RiPP klasteri (ribosomal sintezlangan va posttranslatsion modifikatsiyalangan peptidlar), 19 ta gibrid klasterlar va 4 ta boshqa turdagi klasterlar.

MIBiG (Minimum Information about a Biosynthetic Gene Cluster) ma'lumotlar bazasi bilan solishtirma tahlil 11 ta klasterni yuqori darajada o'xshash, 7 tasini o'rta darajada va 12 tasini past darajada ma'lum biosintez tizimlariga o'xshashligini ko'rsatdi (10-rasm).

***A. aflatoxiformans* S13 va *R. arrhizus* 8.2 endofit zamburug'laridan kojik kislotani olish uchun ozuqa muhitini optimallashtirish.** Kojik kislotani olish maqsadida *A. aflatoxiformans* S13 va *R. arrhizus* 8.2 endofit zamburug'larini ko'paytirish sharoitlari standartlashtirildi: 1000 ml oziqa muhiti, 29 °C, 120 aylanish/daq, 21 kun. Optimal muhitni tanlash uchun to'rt xil variant sinovdan o'tkazildi (10-jadval), va eng yuqori kojik kislotani miqdori uchinchi muhitda olindi, u quyidagi tarkibga ega: glyukoza (100 g/l), achitqi ekstrakti (2 g/l), pepton (2 g/l), KH₂PO₄ (1 g/l) va MgSO₄·7H₂O (1 g/l). Yuqori biosintez darajasi uglerod va azotning optimal nisbati, shuningdek fosfat va magniy ionlarining fermentativ regulyatsiyada ishtiroki bilan izohlanadi. Ushbu ma'lumotlar muhit tarkibining kojik kislotani ishlab chiqarishda muhim ahamiyatga ega ekanligini tasdiqlaydi.



10-rasm. AntiSMASH 8.0.4 dasturi yordamida identifikatsiya qilingan *A. aflatoxiformans* S13 ning biosintetik gen klasterlari.

Glyukoza asosidagi muhitda (3-muhit) kojik kislota miqdoringing yuqori darajasi uning muvozanatli tarkibi bilan izohlanadi. Glyukoza ning yuqori kontsentratsiyasi (100 g/l) ikkilamchi metabolitlar sintezi uchun mavjud uglerod manbaini ta'minlaydi, azot manbalari (pepton va achitqi ekstrakti) ning optimal nisbati esa o'sish va biosintez jarayonlarini qo'llab-quvvatlaydi. KH_2PO_4 va $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ mineral tuzlari fermentativ reaksiyalar va metabolizmni regulyatsiya qilishda yordam beradi, shuningdek, kartoshkali yoki guruchli kabi oddiy muhitlarga nisbatan qulayroq sharoitlar yaratadi.

Turli oziqa muhitlarida *A. aflatoxiformans* S13 va *R. Arrhizus* S8.2 shtamlari tomonidan olingan kojik kislotasining miqdori

№	Ozuqa muhiti nomi	Tarkibi	Mahsulot unumi g/L	
			<i>A. aflatoxiformans</i> S13	<i>R. arrhizus</i> S8.2
1	PDB (kartoshka buloni) pH 6.3	200 g kartoshka, 20 g shakar 1 L suvda	2.8	3.5
2	DYPB pH 6.5	Dekstroza, achitqi ekstrakti 1%, pepton 2% / 1 l suv	1.8	1.2
3	Glukozali ozuqa muhit pH 5.6	Glyukoza 100 g/l, achitqi ekstrakti 2 g/l, pepton 2 g/l, KH ₂ PO ₄ 1 g/l, MgSO ₄ ·7H ₂ O 1 g/l	8.3	6.5
4	Guruchli ozuqa muhiti pH 7.0	Guruch qaynatmasi	2.6	3.0

XULOSALAR

“*Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved dan ajratilgan endofit zamburug‘lar ikkilamchi metabolitlarining biologik faolliklarini tadqiq etish” mavzusida o‘tkazilgan tadqiqot asosida quyidagi xulosalar qilindi:

1. Ilk bor *Z. pedicellata* Pazij et Vved o‘simligidan 24 ta endofit zamburug‘ izolyatlari ajratib olindi. Ularning orasida eng faol 5 ta izolyat molekulyar identifikatsiya qilindi: *R. arrhizus* S8.2, *A. doliconidium* genlab_icps_8, *P. africana* genlab_icps_10, *A. alternata* genlab_icps_13 va *A. aflatoxiformans* S_13.

2. *Z. pedicellata* Pazij et Vved o‘simligidan ajratilgan endofit zamburug‘lar ikkilamchi metabolitlarining biologik faolligi (antimikrob, saratonga qarshi) tadqiq etildi. *R. arrhizus* 8.2 ning xlorofrom fraksiyasi eng yuqori antimikrob faollikni ko‘rsatib, inhibirlash zonasining diametri $20,5 \pm 0,3$ dan $35,5 \pm 0,4$ mm aniqlandi. *P. africana* ekstrakti esa sitotoksik ta’sir ko‘rsatib, HeLa hujayralari o‘sishini $59,0 \pm 2,4$ % ga ingibirladi.

3. Birinchi marta *A. aflatoxiformans* S13 va *R. arrhizus* 8.2 endofit zamburug‘larining kojik kislotani bio-sintez qilishi aniqlandi va ushbu organik kislota toza holatda ajratib olindi. *A. doliconidium* (30 birikma), *P. africana* (23 birikma) va *A. alternata* (44 birikma) zamburug‘ ekstraktlarining kimyoviy tarkibi gaz xromatografiya-massa-spektrometriya (GC–MS) usuli bilan aniqlandi.

4. Ilk bor *Z. pedicellata* Pazij et Vved o‘simligidan ajratilgan *A. aflatoxiformans* S13 endofit zamburug‘ining to‘liq genom tahlili o‘tkazildi. Genom o‘lchami 38 170 384 j.n, GC tarkibi 47,31 % va o‘rtacha uzunligi 531,46 aminokislota bo‘lgan 11150 ta oqsil-kodlovchi genlar mavjud ekanligi aniqlandi.

5. antiSMASH dasturi yordamida *A. aflatoxiformans* S13 genomida 84 ta ikkilamchi metabolitlar gen klasterlari, jumladan 22 terpen, 19 poliketid sintaza, 19 neribosomal peptid sintaza, 1 ta RiPP va 19 ta gibrid klasterlar aniqlandi.

6. Laboratoriya sharoitida *A. aflatoxiformans* S13 va *R. arrhizus* 8.2 izolyatlarining kojik kislotani biosintez qilish sharoitlari optimallashtirildi, bu esa kelgusida ushbu organik kislotani sanoat miqyosida ishlab chiqarilishiga asos yaratadi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ PhD.03/14.07.2022.В.10.06 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ ПРИ ИНСТИТУТЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И
ПРИКЛАДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НАЦИОНАЛЬНОГО
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО УНИВЕРСИТЕТА «ТИИИМСХ»**

**ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО УНИВЕРСИТЕТА «ТИИИМСХ»**

МАРДИЕВА КАМИЛА МАРАТОВНА

**ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВТОРИЧНЫХ
МЕТАБОЛИТОВ ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ
Ziziphora pedicellata Pazij et Vved**

**03.00.04 – Микробиология и вирусология
03.00.12 – Биотехнология**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD) ПО
БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент – 2025

Тема диссертации доктора философии (PhD) по биологическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан под номером B2024.2.PhD/B1160.

Диссертация выполнена в Институте фундаментальных и прикладных исследований Национального исследовательского университета «ТИИИМСХ» и Институте химии растительных веществ имени акад. С.Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещён на веб-странице Научного совета (www.tiame.uz) и информационно-образовательном портале «Ziyonet» (www.ziyonet.uz).

Научные руководители:

Эгамбердиева Дилфуза Рустамовна
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор

Эшбоев Фарход Бакир угли
доктора философии (PhD), старший
научный сотрудник

Официальные оппоненты:

Ташмухамедова Шохиста Сабиоровна
доктор биологических наук, профессор

Каримов Хусниддин Холмаматович
доктора философии (PhD), старший
научный сотрудник

Ведущая организации:

**Институт биоорганической химии
Академии наук Республики
Узбекистан**

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2025 года в _____ часов на заседании Научного совета PhD.03/14.07.2022.B.10.06. при Институте фундаментальных и прикладных исследований Национального исследовательского университета «ТИИИМСХ». (Адрес: 100000, Узбекистан, г.Ташкент, ул. Кори Ниязов, дом 39. Тел.: (+99871) 237-19-31; факс: (+99871) 237-38-79; e-mail: ifar@tiame.uz)

С диссертацией можно ознакомиться в Институте фундаментальных и прикладных исследований Национального исследовательского университета «ТИИИМСХ» (регистрационный номер _____). (Адрес: 100000, Узбекистан, г.Ташкент, ул. Кори Ниязов, дом 39. Тел.: (+99871) 237-19-31; факс: (+99871) 237-38-79; e-mail: ifar@tiame.uz)

Автореферат диссертации разослан «_____» _____ 2025 г.

(Реестр протокола рассылки № _____ от «_____» _____ 2025 г

М.К. Жулиев
Председатель научного совета по
присуждению учёных степеней, д.б.н.,

Н.Ш. Азимова
Учёный секретарь научного совета по присуждению
учёных степеней, PhD. старший научный сотрудник

В.Б. Файзиев
Председатель научного семинара при научном
совете по присуждению учёной степени, д.б.н. профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация автореферата доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность исследования. В мире всё более остро проявляются проблемы глобального здравоохранения. Инфекционные заболевания, включая новые вирусы и антибиотикорезистентные бактерии, ежегодно уносят более 13 миллионов жизней. Одновременно растёт распространённость хронических болезней — рака, сердечно-сосудистых и нейродегенеративных патологий, которые остаются ведущими причинами смертности. По данным Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), онкологические заболевания ежегодно вызывают около 10 миллионов смертей.

В настоящее время разработка новых эффективных и безопасных лекарственных средств остаётся одной из важнейших задач биомедицины. Особое внимание уделяется природным соединениям, на долю которых приходится около 63% низкомолекулярных препаратов. Поскольку традиционные растительные источники ограничены низким содержанием активных веществ и истощением ресурсов, перспективной альтернативой становятся вторичные метаболиты эндофитных грибов — уникальные продуценты биологически активных соединений с высоким потенциалом для создания новых лекарств. Использование биотехнологических, метаболомных и синтетико-биологических подходов позволяет повысить эффективность поиска и получения таких соединений.

В Республике Узбекистан особое внимание уделяется разработке и внедрению инновационных лекарственных средств и биологических препаратов на основе местного сырья, направленных на импортозамещение и развитие национальной фармацевтической промышленности. В 4-м направлении стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан «...были поставлены важные задачи по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, улучшению снабжения медицинских учреждений и населения доступными высококачественными лекарственными средствами и изделиями медицинского назначения»². Одним из приоритетных направлений является поиск новых источников биологически активных веществ природного происхождения с высокой терапевтической активностью и низкой токсичностью. В этом контексте особый интерес представляют вторичные метаболиты эндофитных грибов, обладающие широким спектром фармакологической активности и высоким потенциалом для разработки новых антибактериальных, противоопухолевых и противовоспалительных средств. В связи с этим актуальной является исследование эндофитных микроорганизмов, ассоциированных с лекарственными растениями, а также получение на их основе перспективных природных соединений и биопрепаратов отечественного производства, соответствующих международным стандартам эффективности и безопасности.

² Указа Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года, УП-4947 «О Стратегии действий по пяти приоритетам развития Узбекистана» // Электронный источник: <https://lex.uz/uz/docs/3107042>

Данная диссертационная работа выполнена в соответствии с Постановлением Президента Республики Узбекистан от 14 февраля 2018 года № ПП-3532 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли», Постановлением Президента от 25 ноября 2020 года № ПП-4899 «О комплексе мер по развитию биотехнологий и совершенствованию системы биологической безопасности страны», а также в рамках реализации Указа Президента Республики Узбекистан от 28 января 2022 года № УП-23 «О государственной программе по реализации Стратегии развития "Новый Узбекистан" на 2022–2026 годы» и Указа от 28 января 2025 года № УП-13 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли».

Актуальность исследований в приоритетных направлениях развития науки и техники в республике. Данное исследование проводилось в соответствии с VI приоритетным направлением развития науки и техники республики «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Эндوفитные микроорганизмы, в частности грибы, являются уникальным источником биологически активных вторичных метаболитов и обладают широким спектром фармакологической активности, что многократно отмечено в литературе (Singh, 2023; Zhao, 2024). Эндوفитные грибы способны синтезировать соединения, относящиеся к различным химическим классам, таким как стероиды, терпеноиды, алкалоиды, фенольные соединения, ксантоны, изокумарины, пептиды и поликетиды (Li, 2023; Kumar & Verma, 2024). Эти соединения обладают многочисленными биологически активными свойствами — антимикробными, противовирусными, антиоксидантными, антитуморными, противовоспалительными и иммуномодулирующими (Patel, 2023; Chen, 2024).

В последние годы метаболиты, полученные из эндوفитных грибов, и их фармацевтический и биологический потенциал получают всё более широкое признание. Например, по анализу Wang и соавторов (2024), за последние 5 лет из эндوفитных грибов было выделено 907 новых природных соединений — поликетидов, терпенов, стероидов, алкалоидов, пептидов и гликозидов (Wang, 2024). Кроме того, для увеличения разнообразия биоактивных веществ, получаемых из эндوفитов, активно применяются методы оптимизации питательных сред, эпигенетические и молекулярные подходы к модификации культур (Zhao, 2024; Li, 2023). Однако сохраняется ряд важных научных пробелов. В частности, существуют вопросы относительно потенциальной токсичности некоторых выделенных метаболитов для здоровья человека (Patel, 2023).

В нашей стране исследования в данном направлении в основном проводятся в Институте микробиологии и Институте химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан, однако эндوفиты, выделенные из *Z. pedicellata*, до настоящего времени комплексно не изучались. Поэтому исследование вторичных метаболитов эндوفитных грибов, выделенных из *Z. pedicellata* Pazij et Vved, не только расширяет биохимический потенциал

эндофитов, но и позволяет выявить новые природные соединения с высокой фармакологической значимостью для разработки эффективных и безопасных лекарственных средств.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ лаборатории «Биологические исследования и экспертиза пищевых продуктов» Института фундаментальных и прикладных исследований при Национальном исследовательском университете «ТИИМСХ», а также лаборатории «Молекулярная генетика» Института химии растительных веществ имени академика С.Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан.

Цель исследования: Изучение биологической активности вторичных метаболитов эндофитных грибов, выделенных из *Z. pedicellata* Pazij et Vved, а также проведение полногеномного и метаболомного анализа активных изолятов грибов.

Задачи исследования:

1. Выделение эндофитных грибов, ассоциированных с *Z. pedicellata* Pazij et Vved, и проведение их молекулярной идентификации;
2. Изучение биологической активности (антимикробной, противоопухолевой и антиоксидантной) вторичных метаболитов, продуцируемых выделенными эндофитными грибами;
3. Определение химического состава экстрактов эндофитных грибов, выделенных из *Z. pedicellata* Pazij et Vved;
4. Проведение полногеномного секвенирования наиболее активных штаммов, включая сборку генома и его функциональную аннотацию;
5. Анализ биосинтетических генетических кластеров, ответственных за синтез вторичных метаболитов у выбранных штаммов, с использованием программы antiSMASH;
6. Оптимизация биосинтеза койевой кислоты в лабораторных условиях с использованием изолированных эндофитных грибов;

Объект исследования: Эндофитные грибы, выделенные из лекарственного растения *Z. pedicellata* Pazij et Vved, произрастающего на территории Республики Узбекистан.

Предмет исследования: биологическая активность, химический состав и генетические особенности вторичных метаболитов эндофитных грибов, выделенных из *Z. pedicellata* Pazij et Vved.

Методы исследования. В исследовании использовали методы микробиологии (культивирование эндофитных грибов, метод диффузии в агар, анализ генома грибов), методы биотехнологии (выделение и очистка вторичных метаболитов, спектрофотометрический и хроматографический анализ), а также методы молекулярной биологии (экстракция ДНК, амплификация ITS-региона методом ПЦР, секвенирование и биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей).

Научная новизна исследования заключается в:

1. Впервые из лекарственного растения *Z. pedicellata* Pazij et Vved, произрастающего на территории Узбекистана, были выделены и молекулярно идентифицированы эндофитные грибы;

2. Установлены антимикробная, антиоксидантная и цитотоксическая активность вторичных метаболитов, продуцируемых выделенными эндофитными грибами;

3. Впервые изучен химический состав экстрактов эндофитных грибов, ассоциированных с *Z. pedicellata* Pazij et Vved, методами хроматографического и спектрофотометрического анализа;

4. Проведено полногеномное секвенирование и выполнена функциональная аннотация генома активного эндофитного штамма *A. aflatoxiformans* S13;

5. С помощью анализа AntiSMASH впервые выявлен высокий биосинтетический потенциал эндофитного гриба *A. aflatoxiformans* S13, включающий 84 генных кластера, ответственных за синтез вторичных метаболитов;

6. Разработаны и оптимизированы лабораторные условия биотехнологического получения койевой кислоты с использованием эндофитных грибов *A. aflatoxiformans* S13 и *R. arrhizus* 8.2;

Практические результаты исследования: Результаты исследования позволили выявить эндофитные грибы, обладающие высоким биосинтетическим потенциалом и перспективные для получения фармакологически активных соединений. На основе выделенных штаммов *A. aflatoxiformans* S13 и *R. arrhizus* 8.2 разработана лабораторная технология биосинтеза койевой кислоты, что создаёт предпосылки для последующего масштабирования процесса и промышленного производства препарата.

Полногеномное секвенирование активного штамма *A. aflatoxiformans* S13 и анализ его биосинтетических генных кластеров открывают новые возможности для направленного биоинженерного и метаболомного исследования с целью получения новых вторичных метаболитов. Созданная база данных генетических и химических характеристик исследованных эндофитов может быть использована при разработке новых биотехнологических препаратов природного происхождения.

Кроме того, разработанные подходы и методы могут применяться при исследовании других эндофитных микроорганизмов лекарственных растений Узбекистана, что способствует развитию отечественной биотехнологии и созданию импортозамещающих биологически активных веществ.

Достоверность результатов исследования обеспечена использованием современных методов биотехнологии, молекулярной биологии, микробиологии, биоинформатики и химического анализа. Идентификация эндофитных грибов проводилась по ITS-регионам ДНК, что гарантирует точное определение таксономической принадлежности.

Биологическая активность вторичных метаболитов оценивалась стандартизированными методами (антимикробная, антиоксидантная, противоопухолевая активность), а повторяемость экспериментов и контрольные образцы обеспечивают репрезентативность данных. Надёжность геномных и метаболомных данных подтверждена использованием antiSMASH, KEGG, COG, GO, а химический состав экстрактов исследован методами ВЭЖХ, LC-MS/MS, GC-MS и рентгеноструктурного анализа (X-ray), что обеспечивает точность и воспроизводимость результатов.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость работы заключается в комплексном изучении эндофитных грибов, ассоциированных с *Z. pedicellata* Pazij et Vved, включая их молекулярную идентификацию, химический состав вторичных метаболитов, полногеномное секвенирование и биоинформационный анализ геномов. Полученные данные расширяют представления о биосинтетическом потенциале эндофитных грибов и их способности синтезировать биологически активные соединения, включая соединения с антимикробной, антиоксидантной и противоопухолевой активностью.

Практическая значимость исследования состоит в возможности использования идентифицированных эндофитных штаммов и отработанной лабораторной технологии биосинтеза койевой кислоты при создании промышленного регламента её производства, а также при поиске и оптимизации других биологически активных соединений эндофитов лекарственных растений Узбекистана.

Внедрение результатов исследований. На основе полученных результатов по молекулярной идентификации и биологической активности эндофитных грибов, выделенных из растения *Z. pedicellata* Pazij et Vved:

этил ацетатные экстракты эндофитных грибов, выделенных из растения *Z. pedicellata* Pazij et Vved, использовались в базовых фундаментальных исследованиях в Институте химии растительных веществ АН РУз на тему: «Изучение *in vitro* биологической активности природных и синтетических соединений. Инженерия белков. Получение рекомбинантных белков. Разработка точных молекулярно-генетических маркеров для диагностики социально значимых и других видов заболеваний» (Справка АН РУз № 4/1255-3004 от 27 ноября 2025 года). В результате экстракты продемонстрировали сильную антибактериальную активность против *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, а также цитотоксическую активность против раковых клеточных линий HeLa, HEP-2, HBL-100 и CCRF-CEM;

последовательности ДНК выделенных штаммов были зарегистрированы в международной базе данных NCBI под следующими идентификаторами: *R. arrhizus* (PX396432), *A. doliconidium* (OR435582), *P. africana* (OR435585), *A. alternata* (OR435586) и *A. aflatoxiformans* (PX396498). Регистрация последовательностей в GenBank обогатила международную базу данных и создала возможность их использования для дальнейших научных

исследований и биотехнологических разработок в области эндофитных грибов;

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 2 международных и 2 республиканских научно-практических конференциях.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 5 научных статьи, в том числе 3 в республиканском и 2 в международных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, трёх глав, заключения, списка использованной литературы. Объём диссертации составляет 120 страниц компьютерного текста.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновываются актуальность и востребованность, цель и задачи темы диссертации, характеризуется объект и предмет проведённого исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениями развития науки и технологии Республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации, озаглавленной **«Исследование биологической активности вторичных метаболитов, выделенных из эндофитных грибов, и перспективы использования современных ОМИКС-технологий»**, представлен развернутый обзор отечественных и зарубежных литературных данных, посвящённых биологической активности вторичных метаболитов эндофитных грибов. Кроме того, подробно рассмотрены современные методы и подходы ОМИКС-технологий, применяемые для их исследования.

Во второй главе диссертации, **«Материалы и методы исследования»**, представлена экспериментальная часть, в которой приведены характеристики использованных реактивов, описаны методы изучения биологической активности вторичных метаболитов эндофитных грибов, а также изложены подходы к проведению геномного и метаболомного анализа активных изолятов.

Третья глава диссертации посвящена **«Изучению биологической активности вторичных метаболитов эндофитных грибов, а также проведению геномного и метаболомного анализа активных эндофитных изолятов»**. В данной главе представлены результаты выделения и идентификации эндофитных грибов, полученных из *Z. pedicellata* Pazij et Vved, а также исследования их антимицробной и цитотоксической активности вторичных метаболитов. Кроме того, проведены полногеномное

секвенирование и метаболомный анализ наиболее активного грибного изолята.

Выделение и идентификация эндофитных грибов из *Z. pedicellata* Pazij et Vved. В ходе исследований из растения *Z. pedicellata* Pazij et Vved было выделено 24 изолята грибов. С целью точной таксономической идентификации изолятов, проявивших наибольшую антибактериальную активность, была проведена амплификация и секвенирование внутренних транскрибируемых спейсеров рибосомальной ДНК (участки ITS4 и ITS5); все полученные нуклеотидные последовательности депонированы в базе GenBank. По результатам BLAST-поиска в базе NCBI изоляты 8.2, 8.3, 8.5, 8.6 и S.13 идентифицированы как *Rhizopus arrhizus* (PX396432), *Alternaria doliconidium* (OR435582), *Preussia africana* (OR435585), *Alternaria alternata* (OR435586) и *Aspergillus aflatoxiformans* (PX396498) соответственно. Все активные изоляты относятся к отделу *Ascomycota*, за исключением *R. arrhizus*, принадлежащего к *Mucoromycota*. Филогенетическое дерево построено в программе MEGA 12 на основе полученных ITS-последовательностей и пяти наиболее близких гомологов из GenBank (рис.1).

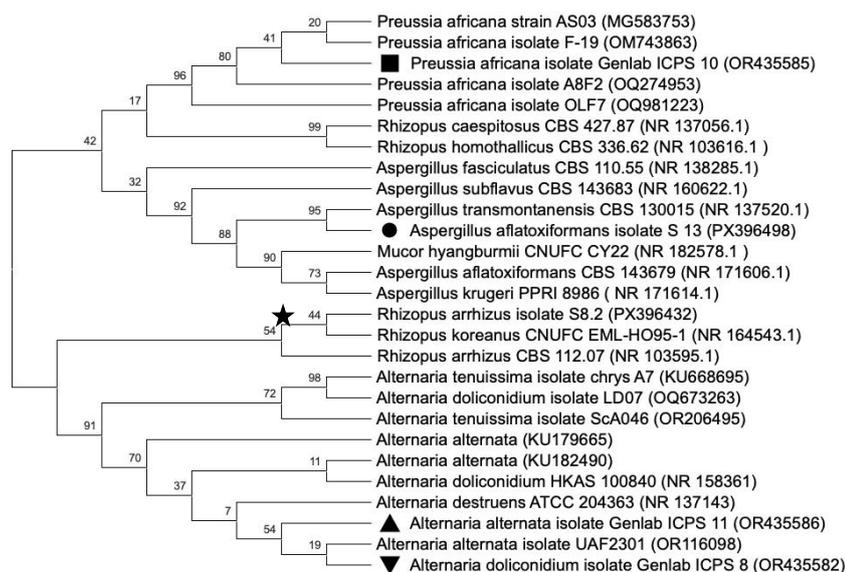


Рисунок 1. Филогенетическое дерево, построенное методом Neighbor-Joining в программе MEGA 12 на основе ITS-последовательностей изолятов 8.2, 8.3, 8.5, 8.6 и S.13 из *Z. pedicellata* Pazij et Vved.

Макро- и микроморфологические признаки выделенных штаммов согласуются с результатами молекулярной идентификации. Колонии *R. arrhizus* 8.2 на агаризованных средах быстрорастущие, обильно ватно-хлопьевидные, сначала белые, затем серовато-кремовые; микроскопически наблюдаются широкие козностические гифы, столоны с узлами, от которых отходят пучки ризоидов и длинные спорангиеносцы с шаровидными спорангиями и характерными зонтиковидными колумеллами и многочисленными гладкими спорангиоспорами (рис.2а). Колонии *A. aflatoxiformans* S13 на PDA быстрорастущие, плотные, с белым ватно-шерстистым мицелием, который со временем приобретает кремово-жёлтый–охристый оттенок в центре;

микроскопически наблюдаются гладкие конидиеносцы с шаровидными везикулами, несущими преимущественно унисерийные фиалиды, и многочисленные мелкие шаровидные либо субшаровидные светло-жёлто-зелёные конидии (рис.2b). Совокупность этих макро- и микроморфологических признаков полностью соответствует описанию соответствующих видов в литературе и служит дополнительным подтверждением надёжности молекулярной идентификации.



a. *R. arrhizus* 8.2

b. *A. aflatoxiformans* S13

Рисунок 2. Макро- и микроморфология колоний эндофитных грибов, выделенных из *Z. pedicellata* Pazij et Vved, при культивировании на КДА.

Антимикробная активность экстрактов эндофитных грибов.

Антимикробные свойства сырых экстрактов эндофитных грибов, выделенных из растения *Z. pedicellata* Pazij et Vved, были исследованы в отношении пяти патогенных микроорганизмов. Экстракты изолятов 8.2, 8.3, 8.5, 8.6 и S.13 проявили выраженную антибактериальную активность против тестируемых микроорганизмов, образуя зоны ингибирования различного диаметра (Таб.1).

Таблица 1

Антимикробная активность этилацетатных экстрактов эндофитных грибов

Изолят гриба	Зона ингибирования (мм, среднее ± SE, n = 3)				
	Грамположительные бактерии	Грамотрицательные бактерии	Дрожжи		
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
<i>R. arrhizus</i>	17.25±0.4	18.3±0.2	16.1±0.15	14.00±0.12	12.05±0.15
<i>R. arrhizus</i> (п-гексан)	Неактивен	Неактивен	Неактивен	Неактивен	Неактивен
<i>R. arrhizus</i> (хлороформ)	35.5±0.40	35.25±0.04	32.1±0.2	37.75±0.25	20.5±0.3
<i>R. arrhizus</i> (EtOAc)	20.2±0.26	20.4±0.15	15.5±0.44	24.85±0.3	12.44±0.16
<i>R. arrhizus</i> (метанол)	Неактивен	Неактивен	Неактивен	11.78±0.45	Неактивен
<i>A. doliconidium</i>	17.36±0.18	20.6±0.15	Неактивен	24.4±0.36	Неактивен
<i>P. africana</i>	15.43±0.20	17.5±0.23	Неактивен	18.53±0.29	Неактивен
<i>A. alternata</i>	18.46±0.21	17.45±0.20	Неактивен	21.23±0.14	Неактивен
<i>A. aflatoxiformans</i>	12.33±0.17	13.26±0.15	10.00±0.2	12.7±0.27	12.17±0.44
Ампициллин/сульбактам	27.4 ±0.1	28.5±0.25	не тестировалось	не тестировалось	не тестировалось
Гентамицин	не тестировалось	не тестировалось	26.1±0.15	27.51±0.15	не тестировалось
Флуконазол	не тестировалось	не тестировалось	не тестировалось	не тестировалось	28.33±0.33

Экстракты *R. arrhizus* 8.2 проявили умеренную, но широкоспектральную антимикробную активность, формируя зоны ингибирования от 12.05 ± 0.15 до 18.3 ± 0.2 мм. Далее экстракт был разделён на фракции по степени полярности с использованием силикагелевой колонки. Первая, неполярная фракция — н-гексановая не проявила антимикробной активности. Хлороформная фракция продемонстрировала наибольшую активность среди всех фракций, с зонами ингибирования в пределах 20.5 ± 0.3 мм – 37.75 ± 0.25 мм. Этилацетатная (EtOAc) фракция также показала выраженную активность (12.44 ± 0.16 мм – 20.4 ± 0.15 мм). В то же время метанольный экстракт обладал активностью только против *P. aeruginosa*, создавая зону ингибирования 11.78 ± 0.45 мм. Экстракты *A. doliconidium* проявили высокую антибактериальную активность против *B. subtilis*, *S. aureus* и *P. aeruginosa*, с зонами ингибирования 17.36 ± 0.18 мм, 20.6 ± 0.15 мм и 24.4 ± 0.36 мм соответственно, однако не проявили активности против *E. coli* и *C. albicans*. Экстракты *P. africana* и *A. alternata* показали схожие результаты: выраженную активность против *B. subtilis*, *S. aureus* и *P. aeruginosa*, но отсутствие действия на *E. coli* и *C. albicans*. Экстракты *A. aflatoxiformans* обладали широким спектром действия, ингибируя рост всех пяти микроорганизмов. Диаметры зон ингибирования составили от 10.00 ± 0.2 мм до 13.26 ± 0.15 мм.

Следует отметить, что экстракты, не проявившие или проявившие слабую активность, в таблице не указаны. Результаты настоящего исследования подчёркивают значительный потенциал эндофитных грибов, выделенных из *Z. pedicellata*, как источника новых антимикробных соединений.

Цитотоксическая активность вторичных метаболитов.

Цитотоксический потенциал вторичных метаболитов, выделенных из грибных изолятов, был оценён с использованием четырёх стандартных линий раковых клеток, обычно применяемых для первичной оценки новых противоопухолевых веществ (табл.2). Согласно полученным результатам, экстракт *A. doliconidium* не проявил заметной цитотоксичности в отношении всех протестированных клеточных линий. Вторичные метаболиты *P. africana* продемонстрировали цитотоксическую активность против клеток HeLa, HEP-2 и HBL-100, ингибируя их рост на 59,0%, 12,0% и 20,0% соответственно.

Таблица 2

Цитотоксическая активность вторичных метаболитов, выделенных эндофитных грибов

Экстракт *A. alternata* проявил слабую

Экстракты	Клеточные линии	Подавление роста клеток, %			
		HeLa	HEP-2	HBL-100	CCRF-CEM
<i>R. arrhizus</i>		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
<i>A. doliconidium</i>		0.0±0.0	0.0±0.0	3.7±0.9	4.0±1.5
<i>P. africana</i>		59.0±2.4	12.0±1.7	20.0±2.1	0.0±0.0
<i>A. alternata</i>		27.3±1.4	20.1±1.4	19.5±1.3	38.0±2.3
<i>A. aflatoxiformans</i>		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Цисплатин		99.8±3.2	74.2±2.4	84.9±3.0	98.2±2.8

ю противоопухолевую активность во всех исследованных клеточных линиях, степень ингибирования роста клеток составила от 19,5% до 38,0%. Экстракты *R.*

arrhizus и *A. aflatoxiformans* не показали активности в отношении протестированных клеточных линий. Следует отметить, что хотя все исследованные экстракты обладали меньшей активностью по сравнению с контрольным препаратом цисплатином.

Изучение химического состава экстрактов эндофитных грибов, выделенных из *Z. pedicellata* Pazij et Vved. В процессе работы особое внимание уделялось не только биологической активности, но и количеству полученных экстрактов, поскольку для выделения индивидуальных активных веществ требуется достаточный объём исходного материала. После экстракции культуральной жидкости *R. arrhizus* 8.2 и *A. aflatoxiformans* S13 этиловым ацетатом на внутренних стенках стеклянной чашки образовалось значительное количество кристаллического осадка. Для определения основного кристаллического соединения кристаллы были очищены методом перекристаллизации с последовательными промывками органическими растворителями. Анализ методом рентгеноструктурного анализа монокристаллов показал, что выделенное соединение представляет собой койевую кислоту (рис.3). Выход чистого продукта составил 6,0 г/л культуральной жидкости для штамма *R. arrhizus* 8.2 и 8,0 г/л для штамма *A. aflatoxiformans* S13. Чистота койевой кислоты, выделенной из обоих штаммов, была определена методом ВЭЖХ (рис.4). Результаты хроматографического анализа показали высокую степень чистоты (99,9 %) выделенной койевой кислоты — дополнительных пиков, указывающих на наличие примесей, обнаружено не было.

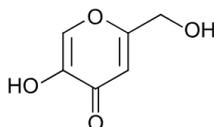


Рисунок 3. Химическая структура койевой кислоты, выделенной из *R. arrhizus* 8.2 и *A. aflatoxiformans* S13.

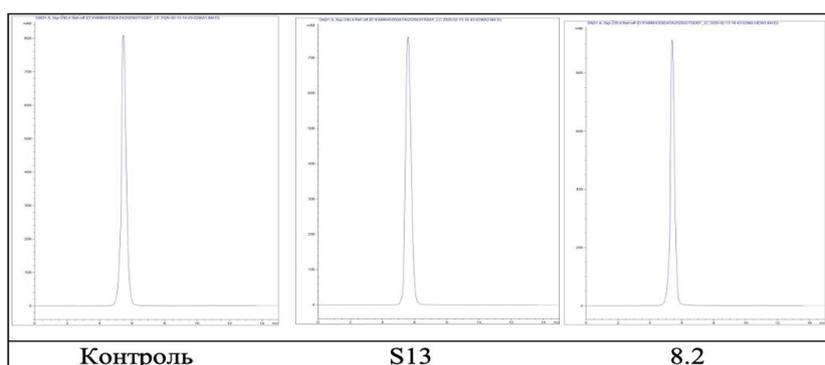
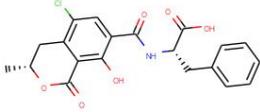
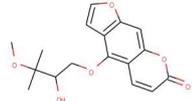
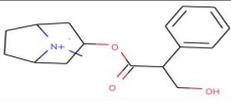
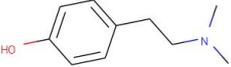
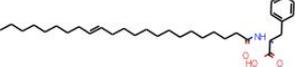
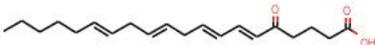
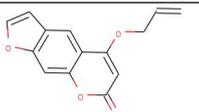
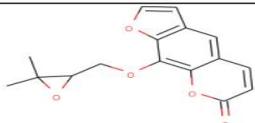
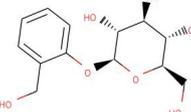
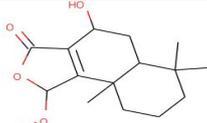
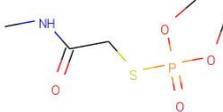
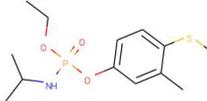
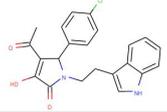
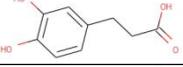
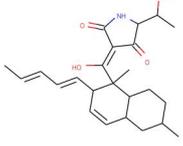


Рисунок 4. ВЭЖХ-анализ койевой кислоты, выделенной из *R. arrhizus* 8.2 и *A. aflatoxiformans* S13.

Такие показатели демонстрируют высокий потенциал обоих штаммов для биотехнологического получения койевой кислоты благодаря их высокой продуктивности и простоте последующей очистки.

Таблица 3

Химический состав EtOAc-экстракта *R. arrhizus* 8.2.

№	Соединения	Класс	Химические структуры определённых соединений
1	Охратоксин А	Кумарины	
2	Оксипеucedанин метанолат	Кумарины	
3	Атропин метилбромид	Не определено	
4	Горденин	Тирозиновые алкалоиды	
5	Фен-C23:1	Жирные кислоты	
6	5-Оксо-6E,8Z,11Z,14Z-эйкозатетраеновая кислота	Жирные кислоты	
7	5-Аллилоксипсорален (5-Allyloxypsoralen)	Кумарины	
8	Геракленин	Кумарины	
9	Салицин	Фенольные кислоты	
10	4-hydroxy-1-methoxy-6,6,9a-trimethyl-4,5,5a,7,8,9-hexahydro-1H-benzo[e][2]benzofuran-3-one	Сесквитерпеноиды	
11	Ометоат	Не определено	
12	Фенамифос	Алкалоиды	
13	3-Ацетил-2-(4-хлорфенил)-4-гидрокси-1-(2-индол-3-илэтил)-5-оксо-3-пирролин	Алкалоиды	
14	3,4-Дигидрокси-бета-фенилпропионовая кислота	Фенилпропаноиды	
15	(3Z)-3-[[1,6-диметил-2-[(1E,3E)-пента-1,3-диенил]-4а,5,6,7,8,8а-гексагидро-2Н-нафталин-1-ил]-гидроксиметилден]-5-(1-гидроксиэтил)пирролидин-2,4-дион	Циклические поликетиды	

После выделения койевой кислоты из экстрактов *R. arrhizus* 8.2, оставшаяся часть была подвергнута детальному анализу с использованием высокочувствительного метода LC–MS / MS (Таб.3). Среди обнаруженных соединений присутствовали различные фенольные производные, алкалоиды и другие низкомолекулярные метаболиты с высокой биологической активностью.

Кроме того, химический состав экстрактов грибных изолятов, проявивших биологическую активность, был проанализирован методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC-MS). Химический состав этилацетатных экстрактов из изолятов *A. doliconidium*, *P. africana* и *A. alternata* был исследован с использованием GC-MS. Всего было идентифицировано 30, 23 и 44 соединения соответственно (Таб.4-6). Эти результаты указывают на то, что грибные экстракты содержат разнообразные биологически активные соединения — стеролы, жирные кислоты и фенольные производные, которые совместно обеспечивают их биологическое действие.

Таблица 4

Химический состав EtOAc-экстракта *A. doliconidium*

№	Соединения	Время удерживания (RT, мин)	%
1	Пропаннитрил	2.292	1.94
2	Индол	13.222	3.77
3	2,2,4-Триметил-1,3-пентандиол диизобутират	16.998	6.95
4	(5-Нитрогекс-1-енил)бензол	17.324	0.86
5	Тирозол, ацетат	19.853	2.77
6	n-Гексадекановая кислота	20.839	2.35
7	3,4-Бис(метилтио)хинолин	21.272	0.84
8	2-Фенил-2-ниненол	21.823	1.35
9	9,12-Октадекадиеновая кислота (Z,Z)-	22.524	2.44
10	2,5-Пиперазиндион, 3-(фенилметил)-	23.077	2.15
11	(E)-3-Фенил-2-гептеннитрил	23.208	1.70
12	2-(1-Пиперидино)-5-нитропиридин	23.809	1.61
13	1,6-Диметил-3,4-(5'-метилбензо)-2-оксабицикло(4.1.0)гепт-3-ен-5-он	23.949	1.54
14	2-Фенил-2,4-октадиенол	24.015	1.07
15	(3S,9aS)-3-Бензил-2,3,4,6,7,8,9,9a-октагидропиридо[1,2-a]пиазин-1-он	24.839	2.93
16	(2-Метил-2-фенилциклогексил)уксусная кислота, (транс)-	25.113	1.70
17	Циклогексан, 1,3,5-трифенил-	25.331	0.40
18	Этанон, 1-(3-индолил)-2-(4-метилфенил)-	26.409	0.22
19	1'-Фосфаспиро[циклопропан-1,2'-индан], 1'-ментил-	27.252	2.88
20	(1R)-1-(2,6-Дихлор-3-фторфенил)этанол, метиловый эфир	27.447	1.03
21	1H-Изоиндол-1,3(2H)-дион, 2-бутил-4,5,6,7-тетрагидро-	27.732	0.82
22	1-(3-Хлорфенил)-3-метил-1H-пирозол-5-амин	30.200	1.82
23	2-Этилакридин	30.424	1.09
24	2-Гидразино-8-гидрокси-4-фенилхинолин	30.645	9.98
25	Эргоста-5,7,9(11),22-тетраен-3-ол, (3β,22E)-	34.209	4.08
26	Эргоста-7,22-диен-3-ол, (3β,22E)-	35.378	1.70
27	Кампестерол	35.516	4.54
28	Стигмастерол	36.307	5.86
29	Эргост-7-ен-3-ол	36.756	3.26
30	Гамма-ситостерол	37.382	26.07

Среди выявленных веществ преобладали фурановые производные, алкалоиды, терпеноиды, поликетиды, ангидриды, спирты и фенольные соединения, что указывает на сложные метаболические пути, направленные на

синтез биологически активных молекул. Высокое содержание таких соединений, как янтарный ангидрид, дигидро-3-метилен-2,5-фурандион, 5-метил-2(3H)-фуранон и койевая кислота, свидетельствует о выраженной способности продуцента к синтезу антиоксидантных и антимикробных метаболитов.

Таким образом, полученные результаты демонстрируют богатый метаболический профиль исследуемого штамма и подчёркивают его перспективность для дальнейших биотехнологических исследований.

Таблица 5

Химический состав EtOAc-экстракта *P. Africana*

№	Соединения	Время удерживания (RT, мин)	%
1	Бензиловый спирт, 4-гидрокси-	15.053	6.25
2	Бензиловый спирт, 4-(ацетилокси)-	15.281	1.54
3	2,2,4-Триметил-1,3-пентандиол диизобутират	16.996	2.42
4	6-Хроманол	17.158	1.40
5	4-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-2-бутанон	17.685	3.83
6	7-Метил-окса-циклододека-6,10-диен-2-он	18.235	2.26
7	Бензентиол, 3-этокси-	19.149	1.98
8	Гексадекановая кислота, метиловый эфир	20.453	0.39
9	n-Гексадекановая кислота	20.852	1.73
10	Гексадекановая кислота, этиловый эфир	21.119	0.61
11	9,12-Октадекадиеновая кислота, метиловый эфир	22.105	0.32
12	Z-11-Пентадеценол	22.532	0.71
13	9(E),11(E)-Конъюгированная линолевая кислота, этиловый эфир	22.715	1.90
14	(E)-9-Октадеценная кислота, этиловый эфир	22.758	1.54
15	1-(4-Гидрокси-3-метоксифенил)дек-4-ен-3-он	23.98	0.56
16	5-Гидрокси-1-(4-гидрокси-3-метоксифенил)декан-3-он	24.824	0.39
17	1-(3-Хлорфенил)-3-метил-1H-пиразол-5-амин	25.37	1.80
18	2-(Ацетометил)-3-(метоксикарбонил)бифенилен	25.766	1.04
18	Сквален	28.503	9.49
20	цис-Циклогекс-4-ен-1,2-дикарбоновая кислота, гексилфенэтиловый эфир	28.947	4.34
21	Эргостерол	34.953	35.40
22	Стигмастерол	36.258	3.17
23	Гамма-Ситостерол	37.342	16.89

Таблица 6

Химический состав EtOAc-экстракта *A. Alternata*

№	Соединения	Время удерживания (RT, мин)	%
1	Пропаннитрил	2.259	0.72
2	Гидразин, 1,2-диметил-	2.412	0.08
3	Ацетальдегид, ди-сек-бутиловый ацеталь	4.672	2.72
4	2,3-Бутандиол	4.861	0.49
5	Малевиновый ангидрид	5.974	4.56
7	2-Гидрокси-3-пентанон	6.989	1.63
8	1-Метокси-гексан	7.129	0.98
9	5-Метил-2(3H)-фуранон	7.233	5.66
10	Дигидро-3-метилен-2,5-фурандион	7.603	16.58
11	2-Фуранкарбоксальдегид, 5-метил-	7.926	0.50
12	2,4-Дигидрокси-2,5-диметил-3(2H)-фуран-3-он	8.148	0.76
13	Янтарный ангидрид	9.004	23.72
14	1,4-Бутандиамин	9.911	0.17
15	Метиленициклопропанкарбоновая кислота	10.291	1.51
16	Фенилэтиловый спирт	10.455	1.92

17	Изопропил 3-метоксипропионат	10.649	3.37
18	d-Трео-О-этилтреонин	10.727	2.47
29	1,4-Диоксан-2,5-дион, 3,6-диметил-	11.338	1.24
20	5,5-Диметил-2-фенил-1-пирролин-3-он	11.382	0.76
21	Имидазол-2-карбоновая кислота, 1-метил-	12.115	0.23
22	2-Кумаранон	12.315	1.49
23	5-Гидроксиметилфурфурол	12.379	1.54
24	4-Гидрокси-бензилэтанол	15.032	4.25
25	4-(2-Метоксиэтил)фенол	15.183	1.58
26	Фенилэтиллактат	15.381	0.92
27	1,4,7,10,13,16,19,22-Октаоксациклотетраоксан-2,14-дион	15.521	0.57
28	Пentanовая кислота, 2,2,4-триметил-3-карбоксо-изопропиловый, изобутиловый эфир	16.97	3.40
29	6-Хроманол	17.129	0.27
30	Этанол, 2-[2-(2-бутоксизтокси)этокси]-	17.92	0.32
31	1-Окса-2-сила-5-бора-циклопент-3-ен, 4,5-диэтил-2,2-диметил-3-(1-метилэтенил)-	18.172	0.22
32	Пиразол-5-карбоновая кислота, 1,3-диметил-	18.22	1.64
33	Фенол, 3-феноксо-	19.283	1.20
34	Нонановая кислота, 9-оксо-, метиловый эфир	20.442	0.69
35	транс-4,6-Диметил-3,7,9-триокса-бицикло[4.2.1]нонан	20.517	0.40
36	Пирроло[1,2-а]пиразин-1,4-дион, гексагидро-3-(2-метилпропил)-	20.678	0.59
37	2-Пропанон, 1-фенил-, оксим	20.892	0.57
38	3а-(3,4-Метилендиокси)-гексагидроиндон	21.054	0.38
39	N-[1-(4-Метокси-6-оксопиран-2-ил)-2-метилбутил]ацетамид	22.536	0.42
40	1-Метокси-3-(метоксиметокси)-бензол	22.697	3.88
41	Этил 5-(фуран-2-ил)-1,2-оксазол-3-карбоксилат	23.571	0.42
42	1,1,1,5,7,7,7-Гептаметил-3,3-бис(триметилсилокси)тетрасилоксан	23.68	0.92
43	Циклогексан, 1,3,5-трифенил-	25.308	0.75
44	1Н-индол-2-карбоновой кислоты, 6-(4-этоксифенил)-3-метил-4-оксо-4,5,6,7-тетрагидро-, изопропиловый эфир	35.714	0.60

Полногеномное секвенирование *A. aflatoxiformans* S13. *A. aflatoxiformans* S13 проявил высокий потенциал синтеза койевой кислоты, что делает его ценным объектом для геномных и биотехнологических исследований. Геном *A. aflatoxiformans* S13 был секвенирован с использованием высокопроизводительных технологий и собран в черновую сборку, демонстрирующую высокие показатели целостности и полноты. Общая длина генома составила 38 170 384 п. н., что сопоставимо с размерами геномов других представителей рода *Aspergillus*. Среднее содержание GC составило 47,31 %, что соответствует диапазону, характерному для эндофитных грибов (Таб.7).

Таблица 7

Результаты анализа сборки генома с помощью программы QUAST

Параметр	Значение
Количество контигов ($\geq 1\ 000$)	75
Общая длина (≥ 0 bp), п. н.	38 170 384
Общее число контигов	114
Наибольший контиг, п. н.	2 428 351
GC-содержание, %	47.31
N50, п. н.	1 010 401
N75, п. н.	740 781
L50 (число контигов)	12
L75 (число контигов)	23
Кол-во «N» на 100 kbp	0.00

Сборка включает 114 контигов общей длиной 38,1 Мб, при этом для контигов длиной ≥ 1000 п. н. число составило 75. Наибольший контиг достигал 2 428 351 п. н.. Показатель N50 равнялся 1 010 401 п. н., N75 — 740 781 п. н., при этом значения L50 и L75 составили 12 и 23 соответственно. Количество пробелов (N) — 0,00 на 100 кб, что свидетельствует об отсутствии неидентифицированных участков.

Оценка полноты генома по методу BUSCO (версия 5.8.0) с использованием базы данных fungi_odb10 (January 2024 release; 758 BUSCOs from 549 fungal genomes) показала высокую степень целостности: C: 99,3 % полных BUSCO-генов, включая S: 99,0 % одиночных и D: 0,4 % дублированных; F: 0,5 % фрагментированных генов; M: 0,2 % отсутствующих генов (Рис.5). Такие показатели указывают на практически полное представление эволюционно консервативных генов и высокое качество сборки. Отсутствие существенных разрывов и низкая степень фрагментации последовательности подтверждают корректность выравнивания и качество сборки генома.

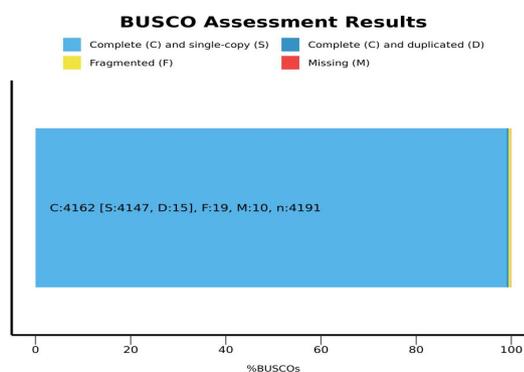


Рисунок 5. Результаты оценки собранного генома по методу BUSCO.

Функциональная аннотация генома *A. aflatoxiformans* S13.

Аннотация генов, выполненная с использованием программы Augustus, позволила предсказать 11 150 генов, кодирующих белки, со средней длиной белка 531,46 аминокислот.

Анализ результатов eggNOG и InterProScan позволил классифицировать предсказанные белки *A. aflatoxiformans* S13 по функциональным категориям Gene Ontology (GO): биологические процессы, молекулярные функции и клеточные компоненты. Распределение GO-термов показало, что большинство белков связано с биологическими процессами (зелёная категория), молекулярными функциями (синяя категория) и меньшей частью с клеточными компонентами (оранжевая категория) (Рис.6). В категории биологических процессов наибольшее количество белков участвует в метаболических процессах (787 белков), клеточном процессе (694) и катаболических процессах (470). Другие процессы, такие как регуляция метаболизма, транспорт и организация клеточных компонентов, представлены меньшим числом белков (от 80 до 354 белков). Категория клеточных компонентов представлена такими терминами, как клеточная мембрана (279 белков), протеиновые комплексы (222) и цитоплазматические

структуры (79). В категории молекулярных функций доминируют термины, связанные с каталитической активностью (728 белков) и трансферазной активностью (230 белков).

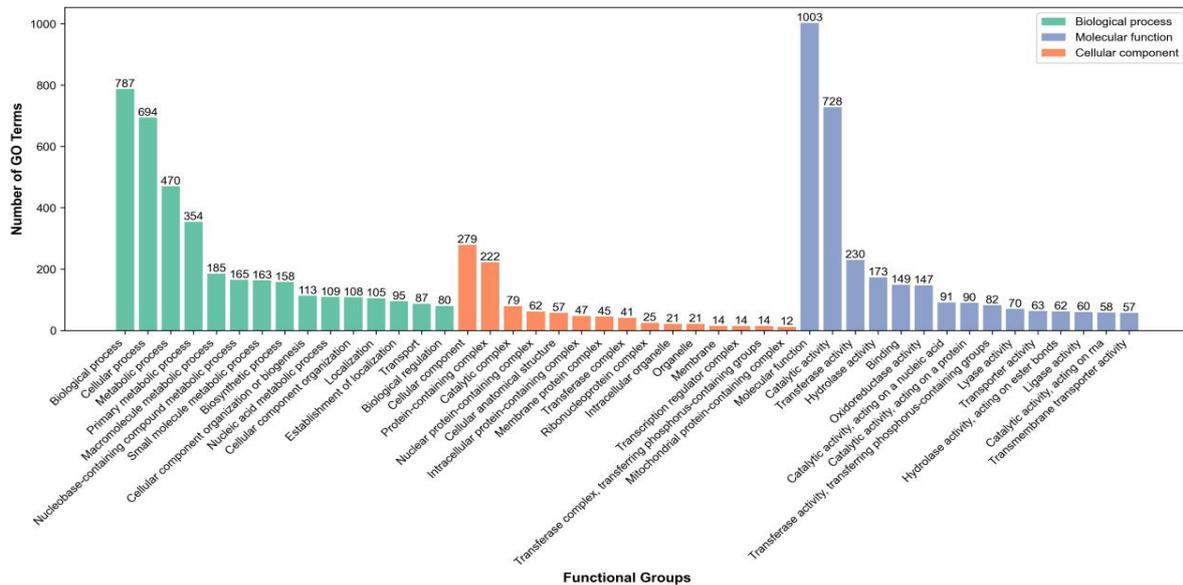


Рисунок 6. GO-аннотация функций белков *A. aflatoxiformans* S13.

Функциональный анализ протеома *A. aflatoxiformans* S13 по классификации COG показал, что большинство белков связано с ключевыми метаболическими процессами: углеводный метаболизм - 730 белков, метаболизм аминокислот - 630, синтез и метаболизм вторичных метаболитов - 630, обмен белков - 498, энергетический метаболизм - 443 (Рис.7). Эти данные отражают метаболическую гибкость *A. aflatoxiformans* S13 и его способность адаптироваться к различным условиям среды.

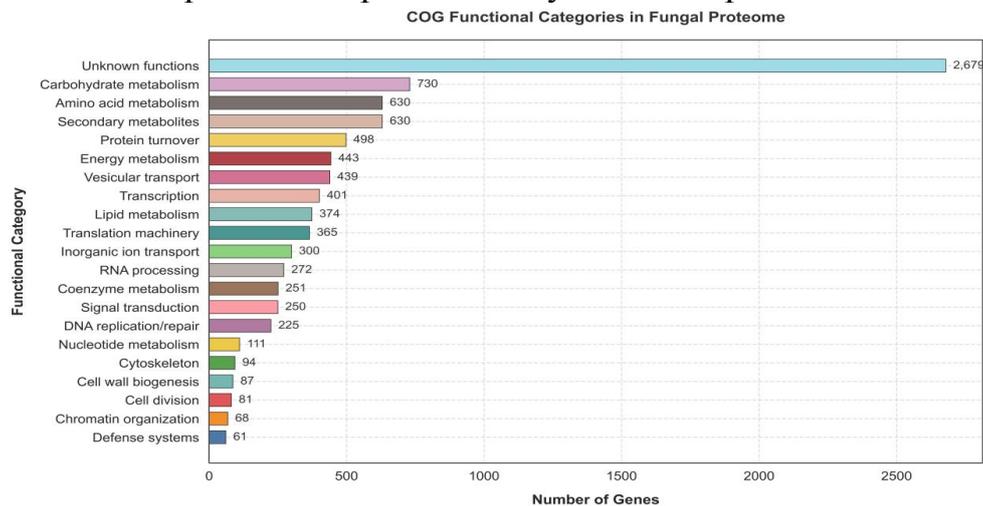


Рисунок 7. COG аннотация функций белков *A. aflatoxiformans* S13.

Анализ функциональной аннотации генов *A. aflatoxiformans* S13 по базе KEGG показал, что большинство идентифицированных генов (2488) относятся к метаболическим путям, что отражает развитую систему первичного и вторичного метаболизма. Наиболее представленными являются аминокислотный (334 гена), углеводный (294) и липидный (206) метаболизм

(Рис.8). Эти данные демонстрируют сложную и интегрированную систему метаболических и регуляторных путей у *A. aflatoxiformans* S13.

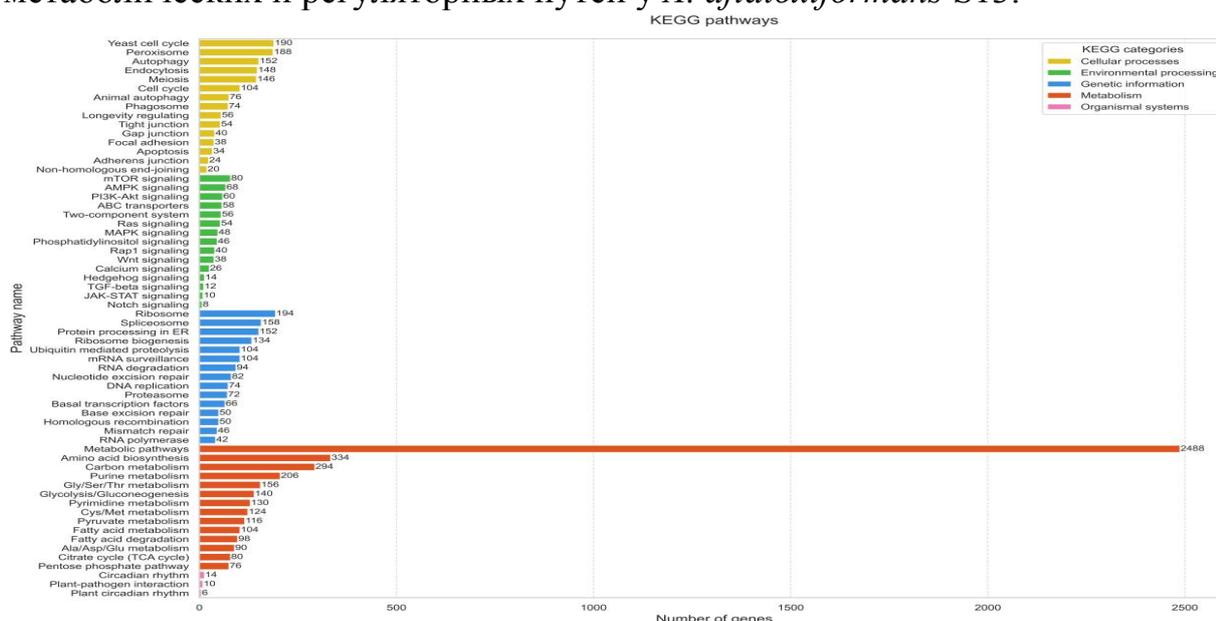


Рисунок 8. Функциональная аннотация генома *A. aflatoxiformans* S13 по базам данных KEGG.

Распределение ферментов генома *A. aflatoxiformans* S13 по классам CAZy отражает особенности углеводного метаболизма и ферментативный потенциал штамма. Наибольшую долю составляют гликозидгидролазы (GH, 320 генов, 51,2 %), катализирующие гидролиз сложных углеводов. Далее следуют ауксиллярные активности (AA, 120 генов, 19,2 %), действующие синергично с гидролазами, гликозилтрансферазы (GT, 98 генов, 15,7 %) для синтеза и модификации гликозидных связей, карбогидратэстеразы (CE, 36 генов, 5,8 %), полисахаридлиазы (PL, 26 генов, 4,2 %) и углеводсвязывающие модули (CBM, 25 генов, 4,0 %), обеспечивающие связывание ферментов с субстратами (Рис.9).

Функциональная аннотация генома исследуемого штамма, проведенная с использованием баз данных GO, COG, KEGG и CAZy, позволила комплексно охарактеризовать его генетический и метаболический потенциал.

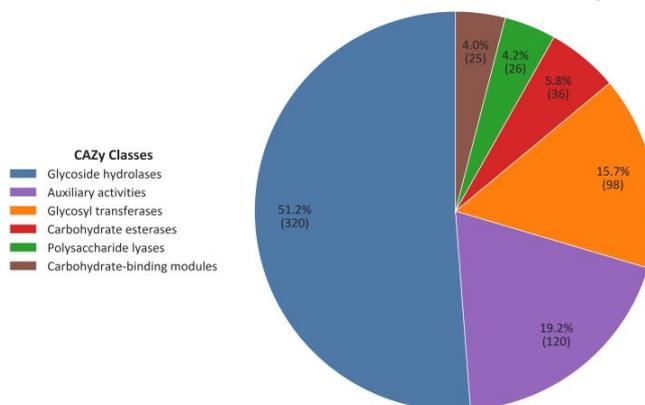


Рисунок 9. Аннотация генома *A. aflatoxiformans* S13 по базе данных CAZy.

Анализ AntiSMASH *A. aflatoxiformans* S13. Анализ с использованием программы antiSMASH выявил в геноме *A. aflatoxiformans* S13 84 кластера

генов биосинтеза вторичных метаболитов. Идентифицированные кластеры были распределены по следующим категориям: 22 терпеновых кластера, 19 поликетидных синтаз (PKS), 19 непептидных синтаз (NRPS), 1 кластер типа RiPP, 19 гибридных кластеров и 4 кластера других типов.

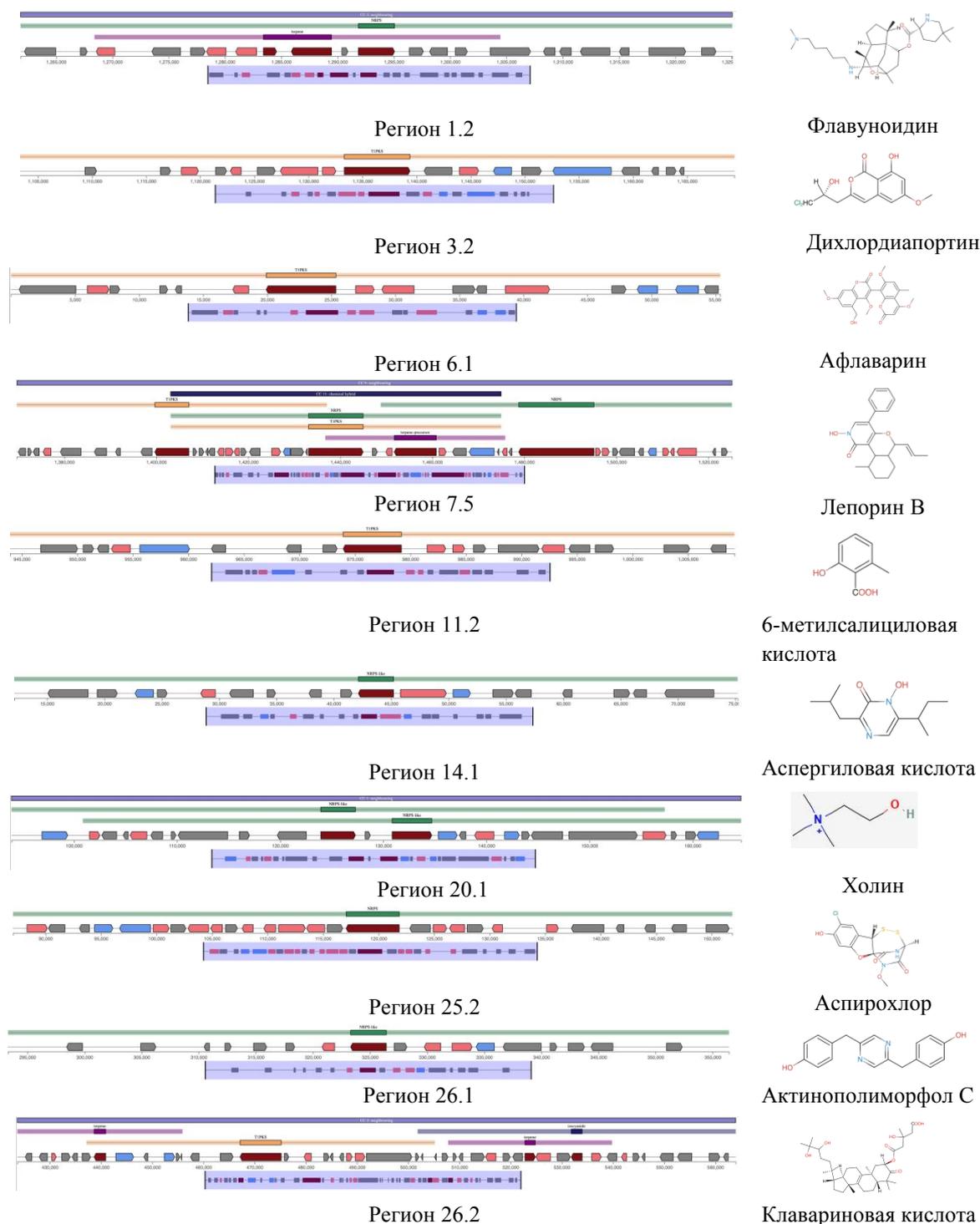


Рисунок 10. Биосинтетические генные кластеры *A. aflatoxiformans* S13 с высокой степенью сходства, идентифицированные с помощью antiSMASH.

Сравнительный анализ с базой данных MIBiG (Minimum Information about a Biosynthetic Gene Cluster) позволил установить 11 кластеров с высокой

степенью сходства, 7 — со средней, и 12 — с низкой степенью сходства к известным биосинтетическим системам (Рис. 10).

Оптимизация среды для получения койевой кислоты из выделенных эндофитных грибов *A. aflatoxiformans* S13 и *R. arrhizus* 8.2. Условия культивирования эндофитных грибов *A. aflatoxiformans* S13 и *R. arrhizus* 8.2 для получения койевой кислоты были стандартизированы: 1000 мл питательной среды, 29 °С, 120 об/мин, 21 день. Для подбора оптимальной среды проверяли четыре варианта (Таб.8), и наибольший выход койевой кислоты обеспечила третья среда, содержащая глюкозу (100 г/л), экстракт дрожжей (2 г/л), пептон (2 г/л), K_2PO_4 (1 г/л) и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1 г/л). Высокий уровень биосинтеза объясняется оптимальным соотношением углерода и азота, а также участием фосфатных и магниевых ионов в ферментативной регуляции. Эти данные подтвердили важное влияние состава среды на производство койевой кислоты.

Таблица 8

Выход койевой кислоты, полученной штаммами *A. aflatoxiformans* S13 и *R. arrhizus* 8.2 в различных питательных средах

№	Название среды	Состав	Выход продукции, гр/л	
			<i>A. aflatoxiformans</i> S13	<i>R. arrhizus</i> 8.2
1	PDB (картофельный бульон), pH 6.3	200 г картофеля, 20 г сахара на 1 л воды	2.8	3.5
2	DYPB, pH 6.5	Декстроза 2%, экстракт дрожжей 1%, пептон 2% на 1 л воды	1.8	1.2
3	Глюкозная питательная среда, pH 5.6	Глюкоза 100 г/л, экстракт дрожжей 2 г/л, пептон 2 г/л, K_2PO_4 1 г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 г/л	8.3	6.5
4	Рисовая питательная среда, pH 7.0	Отвар риса	2.6	3.0

Высокий выход койевой кислоты на глюкозной среде (среда 3) объясняется её сбалансированным составом. Концентрация глюкозы (100 г/л) обеспечивает доступный источник углерода для синтеза вторичных

метаболитов, а оптимальное соотношение азотных источников (пептон и экстракт дрожжей) поддерживает рост и биосинтез. Минеральные соли $\text{KН}_2 \text{PO}_4$ и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2 \text{O}$ способствуют ферментативным реакциям и регуляции метаболизма, создавая более благоприятные условия по сравнению с простыми средами, такими как картофельная или рисовая.

ВЫВОДЫ

На основании исследования, проведенного по теме «Изучение биологической активности вторичных метаболитов эндофитных грибов, выделенных из *Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved», были сделаны следующие выводы:

1. Впервые из *Z. pedicellata* Pazij et Vved выделено 24 эндофитных изолята грибов. Среди них молекулярно идентифицированы 5 наиболее активных изолятов: *R. arrhizus* S8.2, *A. doliconidium* genlab_icps_8, *P. africana* genlab_icps_10, *A. alternata* genlab_icps_13 и *A. aflatoxyformans* S_13.

2. Установлена биологическая активность (антимикробная, противоопухолевая) вторичных метаболитов эндофитных грибов, выделенных из растения *Z. pedicellata* Pazij et Vved. Хлороформная фракция *R. arrhizus* 8.2 проявила наибольшую антимикробную активность с диаметром зон ингибирования $20,5 \pm 0,3 - 35,5 \pm 0,4$ мм. Экстракт *P. africana* показал выраженный цитотоксический эффект, ингибируя рост клеток линии HeLa на $59,0 \pm 2,4$ %.

3. Впервые обнаружено, что эндофитные грибы *A. aflatoxyformans* S13 и *R. arrhizus* 8.2 биосинтезируют койевую кислоту, и эта органическая кислота выделена в чистом виде. Химический состав экстрактов эндофитных грибов *A. doliconidium* (30 соединений), *P. africana* (23 соединения) и *A. alternata* (44 соединения) был определен методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC–MS).

4. Впервые проведен полный геномный анализ эндофитного гриба *A. aflatoxyformans* S13, выделенного из растения *Z. pedicellata* Pazij et Vved. Установлено, что размер его генома составляет 38 170 384 п.н., содержание GC - 47,31 %, идентифицировано 11 150 белок-кодирующих генов со средней длиной 531,46 аминокислот.

5. С помощью программы antiSMASH в геноме *A. aflatoxyformans* S13 было идентифицировано 84 кластера генов вторичных метаболитов, включая 22 терпеновых, 19 поликетидсинтаз, 19 нерибосомальных пептидсинтаз, 1 RiPP и 19 гибридных кластеров.

6. В лабораторных условиях оптимизированы условия биосинтеза койевой кислоты изолятами *A. aflatoxyformans* S13 и *R. arrhizus* 8.2, что заложит основу для будущего промышленного производства этой органической кислоты.

**SCIENTIFIC COUNCIL PhD.03/14.07.2022.B.10.06 ON AWARD OF
SCIENTIFIC DEGREE AT THE INSTITUTE OF FUNDAMENTAL AND
APPLIED RESEARCH “TIHAME” NATIONAL RESEARCH UNIVERSITY**

**INSTITUTE OF FUNDAMENTAL AND APPLIED RESEARCH “TIHAME”
NATIONAL RESEARCH UNIVERSITY**

MARDIEVA KAMILA MARATOVNA

**STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF SECONDARY
METABOLITES OF ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM**
Ziziphora pedicellata Pazij et Vved

**03.00.04 – Microbiology and virology
03.00.12 – Biotechnology**

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD)
ON BIOLOGICAL SCIENCES**

Tashkent – 2025

The theme of the dissertation of the doctor of philosophy (PhD) on biological sciences was registered by the Supreme attestation commission at the Ministry of Higher education, science and innovations of the Republic of Uzbekistan under B2024.2.PhD/B1160.

The doctoral (PhD) dissertation was carried out at the Institute of Fundamental and Applied Research of the National Research University "TIAME" and the S.Y. Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan.

The abstract of the dissertation was posted in three (Uzbek, Russian, and English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.tiame.uz) and on the website of "Ziyonet" informational and educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific supervisors:

Dilfuza Rustamovna Egamberdieva
Doctor of agricultural sciences, professor

Farkhod Bakir Eshboyev
Doctor of philosophy (PhD), senior research

Official opponents:

Tashmukhamedova Shokhista Sabirovna
Doctor of Biological Sciences, Professor

Karimov Khusniddin Kholmamatovich
PhD, senior researcher

Leading organization:

Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

The defense of the dissertation will be held on "_____" _____ 2025, at the meeting of the Scientific Council PhD.03/14.07.2022.B.10.06 at the Institute of fundamental and applied research "TIAME" National Research University (Address: 39, Kari-Niyaziy street, Tashkent 100000 Uzbekistan. Phone: (+99871) 237-19-31; fax: (+99871) 237-38-79, e-mail: ifar@tiame.uz)

The doctoral (PhD) dissertation can be looked through in the Information Resource Center of Institute of fundamental and applied research "TIAME" National Research University (registration number _____). (Address: 39, Kari-Niyaziy street, Tashkent 100000 Uzbekistan. Phone: (+99871) 237-19-31; fax: (+99871) 237-38-79, e-mail: ifar@tiame.uz)

The abstract of dissertation was distributed on "_____" _____ 2025.
(Registry record No. _____ dated "_____" _____ 2025).

M.K. Juliev

Chairman of the Scientific Council for awarding of scientific degrees, Doctor of Biological Sciences

N.Sh. Azimova

Scientific Secretary of the Scientific Council on Award of Scientific Degrees, PhD, senior researcher

F.B. Fayziev

Chairman of the Scientific Seminar of the Scientific Council on Awarding Scientific Degrees, DSc, professor

INTRODUCTION (Annotation of PhD dissertation)

The aim of research work is the studying of the biological activity of secondary metabolites of endophytic fungi isolated from *Z. pedicellata* Pazij et Vved, as well as the whole-genome and metabolome analysis of the active fungal isolates.

The object of research are endophytic fungi isolated from the medicinal plant *Z. pedicellata* Pazij et Vved, growing in the territory of the Republic of Uzbekistan.

The scientific novelty of the research is as follows:

1. For the first time, endophytic fungi were isolated and molecular identified from the medicinal plant *Z. pedicellata* Pazij et Vved, growing in Uzbekistan;

2. The antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities of secondary metabolites produced by the isolated endophytic fungi were determined;

3. For the first time, the chemical compositions of extracts from endophytic fungi associated with *Z. pedicellata* Pazij et Vved were studied using chromatographic and spectrophotometric methods;

4. Whole-genome sequencing was performed, and functional annotation of the genome of the active endophytic strain *A. aflatoxiformans* S13 was completed;

5. For the first time, antiSMASH analysis revealed, the high biosynthetic potential of the endophytic fungus *A. aflatoxiformans* S13, including 84 gene clusters responsible for the synthesis of secondary metabolites;

6. Laboratory conditions for the biotechnological production of kojic acid using endophytic fungi *A. aflatoxiformans* S13 and *R. arrhizus* 8.2 were developed and optimized;

Implementation of the research results. Based on the obtained results of the molecular identification and biological activity of endophytic fungi isolated from the plant *Z. pedicellata* Pazij et Vved:

The ethyl acetate extracts of the endophytic fungi isolated from *Z. pedicellata* Pazij et Vved were used in fundamental researches at the Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, within the project: “*In vitro* study of the biological activity of natural and synthetic compounds. Protein engineering. Production of recombinant proteins. Development of precise molecular-genetic markers for the diagnosis of socially significant and other types of diseases” (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-3004 dated November 27, 2025). As a result, the extracts demonstrated strong antibacterial activity against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*, as well as cytotoxic activity against cancer cell lines HeLa, HEP-2, HBL-100, and CCRF-CEM;

The DNA sequences of the isolated strains were registered in the international NCBI database under the following accession numbers: *R. arrhizus* (PX396432), *A. doliconidium* (OR435582), *P. africana* (OR435585), *A. alternata* (OR435586), and *A. aflatoxiformans* (PX396498). The registration of these sequences in GenBank enriched the international database and created opportunities for their further use in scientific research and biotechnological developments in the field of endophytic fungi.

The structure and scope of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusions, a list of references and appendices. The length of the dissertation was 120 pages.

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PULISHED WORKS

I bo'lim (I часть: I part)

1. Kamila Mardieva, Farkhod Eshboev, Jaloliddin Abdurakhmanov, Akhror Abdurashidov, Asadali Baymirzaev, Mukaddas Umarova, Umida Khamidova, Elvira Yusupova, Sherali Kuziev, Octavio Calvo-Gomez, Dilfuza Egamberdieva, Shamansur Sagdullaev and Shakhnoz Azimova. Bioactivities of the Secondary Metabolites of Endophytic Fungi Isolated from *Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved // Journal of Science and Mathematics Letters Vol.13, No. 2, 2025, pp. 132-144, 2025 (Scopus)

2. K.M. Mardieva, F.B. Eshboev, G.B. Umarova, M.X. Yunusova, L.M. Xayruллаева, A.A. Abduraшидов, M.J. Холикова, Z.B. Кабирова, Ш.С. Азимова. Антимикробная и антиоксидантная активность вторичных метаболитов эндофитных грибов // Land of Uzbekistan, No. 6, -B. 20–24, 2025. (03.00.00. OAK Rayosatining 2020 yil 30 noyabrdagi 288/14-son qarori)

3. Kamila Mardieva, Doniyor Khamdamov, Farkhod Eshboev. Определение химического состава вторичных метаболитов эндофитного гриба *Rhizopus sp.*, изолированного из растения *Ziziphora pedicellatum* Pazij et Vved // Development of Science, Vol. 5, -B. 289–302, 2025. (02.00.00. OAK Rayosatining 2024 yil 27 sentabrdagi 361-son qarori)

4. Kamila Mardieva, Zilola Kabirova, Akhror Abdurashidov. Secondary metabolites of endophytic fungi – source of bioactive compounds // International Journal of Advanced Biotechnology and Research, Vol. 15, No. 3, pp. 8–13, 2024,. (03.00.00. №9)

5. K.M. Mardieva, D.A. Mamatkulova. Exploiting endophytic fungi from medicinal plants for new antimicrobial agents against resistant pathogens // Eurasian Journal of Medical and Natural Sciences, Vol.5, No.6, pp. 69–72, 2025. (OAK tomonidan tavsiya etilgan xalqaro nashryotlar va ma'lumotlar bazasi, №43)

II bo'lim (II часть: II part)

6. K.M. Mardieva, Sh.X. Ubaydullaeva, A.A. Abdurashidov, Kh.Kh. Dolimov, F.B. Eshboev, Sh.S. Azimova. “Antimicrobial Activities of Extracts of Endophytic Fungi Isolated from *Ziziphora clinopodioides*” // Proceedings of the International Scientific Conference “Actual Problems of Development of Bioorganic Chemistry”, Tashkent, November 13–14, 2023, pp. 160–161.

7. F.B. Eshboev, K.M. Mardieva, J.M. Abdurakhmanov, M.R. Umarova, Sh.Sh. Sagdullaev, Sh.S. Azimova. Биологическая активность вторичных метаболитов эндофитных грибов, выделенных из *Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved // 6-я Российская конференция по медицинской химии (МЕДХИМ–2024), 1–4 июля 2024, Нижний Новгород, Россия, стр. 319.

8. K.M. Mardieva, F. Eshboev, J. Abdurakhmanov, A. Abdurashidov, M. Umarova, U. Khamidova, D. Egamberdieva, Sh. Azimova. Biological Activities of the Secondary Metabolites of Endophytic Fungi Derived from *Ziziphora pedicellata* // International Conference on ICOEESD24, November 12–15, 2024, Tashkent, Uzbekistan, pp. 114.

9. Kamila Mardieva, Akhror Abdurashidov, Farkhod Eshboev, Shakhnoz Azimova. Antimicrobial and cytotoxic activities of secondary metabolites from endophytic fungi isolated from *Ziziphora pedicellata* Pazij et Vved // 2025 Symposium of Traditional Chinese Medicine: New Drug Development and Modernization of Traditional Chinese Medicine. 18-19.04.2025. Hong Kong, p.66.