FERULA VARIA (SCHRENK) TRAUTV. BILAN BOG‘LIQ ENDOFIT MIKROORGANIZMLARNI AJRATIB OLISH VA IKKILAMCHI METABOLITLARINI EKSTRAKSIYA QILISH

Murodullayev Dilmurod, Alimova Dildora, Toshtemirov Amirbek, Davranov Kahramon & Rustamova Nigora*

Institute of Microbiology, Department of Enzymology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 7 Abdulla Qodiry Street, Shaykhontohur District, 100128, Tashkent, Uzbekistan.

* Email id of the corresponding author Nigora Rustamova n.rustamova@yahoo.com

https://doi.org/10.5281/zenodo.17185095

Annotatsiya. *Ushbu tadqiqot O‘zbekistonning Navoiy viloyati, Konimex tumanidan yig‘ilgan Ferula varia o‘simligidan endofit mikroorganizmlarni ajratib olish va ularning dastlabki morfologik xususiyatlarini o‘rganishga qaratildi. O‘simlikning ildiz, poya, barg va gul qismlaridan umumiy hisobda 42 ta bakteria va 8 ta zamburug‘ izolyati olindi. Morfologik kuzatuvlarga ko‘ra, bakteria koloniyalar rang va shakl jihatidan farq qiluvchi xilma-xillikka ega bo‘ldi, zamburug‘ izolyatlari esa radial tuzilishga ega bo‘lib, markaziy va periferik qismlarida rangi sezilarli darajada farqlandi. Ajratib olingan izolyatlardan kultural suyuqliklari tayyorlanib, xom ekstraktlar etilatsetat yordamida ekstraksiya qilindi. Olingan ekstraktlar keyingi bosqichlarda antioksidant, antitumor, antidiabetik va biotransformatsiya faoliyatini aniqlash bo‘yicha tahlillarga tayyor holda saqlanmoqda. Ushbu tadqiqot natijalari F. varia o‘simligi bilan bog‘liq endofit mikroorganizmlar farmatsevtik xomashyo sifatida istiqbolli manba bo‘lishi mumkinligini ko‘rsatadi.*

Kalit so‘zlar: *Ferula varia, Endofit mikroorganizmlar, ikkilamchi metabolitlar.*

Аннотация. *Настоящее исследование было направлено на выделение эндофитных микроорганизмов из Ferula varia, собранной в Конимехском районе Навоийской области (Узбекистан), и изучение их предварительных морфологических характеристик. Всего было получено 42 бактериальных и 8 грибных изолята из корней, стеблей, листьев и цветов растения. Морфологические наблюдения показали, что бактериальные колонии характеризовались разнообразием окраски и формы, тогда как грибные изоляты образовывали радиальные структуры с выраженными различиями в пигментации между центральной и периферической зонами. Из культурных жидкостей изолятов были приготовлены экстракты, которые выделяли с помощью этилацетатной экстракции. Полученные экстракты хранятся для последующих анализов по определению их антиоксидантной, антитуморной, антидиабетической и биотрансформационной активности. Результаты исследования указывают на то, что эндофитные микроорганизмы, ассоциированные с F. varia, могут представлять собой перспективный источник фармацевтического сырья.*

Ключевые слова: *Ferula varia, эндофитные микроорганизмы, бактериальные и грибные изоляты, сырой экстракт.*

Abstract. *This study was aimed at isolating endophytic microorganisms from Ferula varia collected in the Konimex district of Navoi region, Uzbekistan, and investigating their preliminary morphological characteristics. A total of 42 bacterial and 8 fungal isolates were obtained from the roots, stems, leaves, and flowers of the plant. Morphological observations revealed that the bacterial colonies exhibited diversity in color and shape, while the fungal*

isolates showed radial structures with distinct pigmentation differences between the central and peripheral regions. Culture broths of the isolates were prepared, and crude extracts were obtained through ethyl acetate extraction. The extracts are being stored for subsequent analyses to determine their antioxidant, antitumor, antidiabetic, and biotransformation activities. The results of this study indicate that endophytic microorganisms associated with F. varia may represent a promising source of pharmaceutical raw materials.

Key words: *Ferula varia, Endophytic microorganisms, Bacterial and fungal isolates, Crude extract.*

Kirish

Endofit mikroorganizmlar o‘simliklarning turli to‘qimalarida yashab, ular bilan simbioz aloqada bo‘ladigan, biroq o‘simlikka zarar yetkazmaydigan mikroorganizmlardir. So‘nggi yillarda endofitlar farmatsevtik sanoat uchun yangi biofaol birikmalar manbai sifatida katta qiziqish uyg‘otmoqda [1]. Ular tomonidan ishlab chiqariladigan tabiiy ikkilamchi metabolitlar antimikrob, antitumor, antioksidant, antidiabetik va boshqa biologik faolliklari bilan ajralib turadi. Shu bois dorivor o‘simliklar bilan bog‘liq endofit mikroorganizmlarni izlash va o‘rganish istiqbolli yo‘nalish hisoblanadi [2, 3].

Ferula turkumiga mansub o‘simliklar Markaziy Osiyoda keng tarqalgan bo‘lib, qadimdan an’anaviy tabobatda qo‘llanib kelinadi [4]. Xususan, *F. varia* o‘simligi xalq tabobatida yallig‘lanishga qarshi, og‘riq qoldiruvchi, parazitar kasalliklarga qarshi vosita sifatida ishlatilgan [5]. So‘nggi yillarda ushbu tur biologik faol komponentlari tufayli ilmiy tadqiqotlarning diqqat markazida bo‘lib kelmoqda.

Ammo *F. varia* bilan bog‘liq endofit mikroorganizmlarning xilma-xilligi va ularning biofaol birikmalar ishlab chiqarish salohiyati haqida yetarli ma’lumot mavjud emas. Shu sababli ushbu tadqiqotda O‘zbekistonning Navoiy viloyatida o‘suvchi *F. varia* o‘simligidan endofit mikroorganizmlarni ajratib olish, ularni dastlabki morfologik xususiyatlari asosida tavsiflash hamda keyingi kimyoviy va biologik tahlillar uchun ekstraktlarini tayyorlash asosiy maqsad qilib olindi .

Materiallar va usullar.

O‘simlik kolleksiya qilish

F. varia (Schrenk) Trautv. O‘simligi Markaziy Osiyoga xos bo‘lib, ayniqsa Qozog‘iston, Qirg‘iziston va O‘zbekiston hududlarida tabiiy ravishda uchraydi. Tadqiqotlar natijasiga ko‘ra, *F. varia* ayniqsa Navoiy viloyati, Nurota tog‘lari atrofidagi hududlarda keng tarqalgan. Qozog‘istonning Muyunkumy, Balkhash va Betpak-Dala mintaqalarida olingan kollektsiyalar mavjud. O‘zbekistonda esa Sirdaryo cho‘llari va Qizilqum hududlarida kuzatilgan lokatsiyalar qayd etilgan [4].

O‘simlik namunalarini 2025-yil aprel oyi oxirlari va may oyi boshlarida Navoiy viloyati, Konimex tumani tog’li hududidan yig‘ib olindi. Sog‘lom *F. varia* o‘simligi ildiz tizimi butun holda ehtiyotkorlik bilan kovlab olindi va ular atrofidagi tuproq bilan birga laboratoriyaga olib kelindi.

Endofit mikroorganizmlarni ajratish.

F. varia o‘simligining poya, barg, ildiz va gul qismlaridagi qoldiqlardan tozalash uchun oqar suvda yaxshilab yuvildi, keyin biroz muddat distillangan steril suvda chayildi. O‘simlik qismlari yuza sterilizatsiya qilish uchun 70% li etil spirtda 5 daqiqa, 5% li natriy gipoxlorit eritmasida 5 daqiqa davomida ushlab turildi, undan keyin 5 marotaba steril distillangan suvda chayildi. Sterilizatsiya to‘g’ri bajarilganligini aniqlash uchun 5-marta chayilgan suvdan 100 µL

olinib nutrient agar oziqali chashkaga ekildi. Yuza sterilizatsiya qilingandan keyin steril qog’oz sochiqda 5 daqiqa davomida quritildi. Taxminan 10 gramm yangi steril o‘simlik qismlarini chinni hovonchada bir xil jinsli holatga kelgunicha maydalandi. Maydalangan to‘qimaning 1 grammi 9 ml hajmli steril distillangan suvga solinib vortexda 1 daqiqa davomida aralashtirildi. Olingan suspenziya 10^3 darajagacha ketma ket suyultirildi va Nutrient Agar (tarkibi: 5 g/L pepton, 3 g/L achitqi ekstrakti, 5 g/L agar va 5 g/L NaCl; pH 7,4) hamda Kartoshka dekstrozali agar (tarkibi: dekstroza 20g/L, kartoshka nastoykasi 200gr, agar 15 g/L, oziqa muhiti avtoklav qilingandan keyin streptomitsin 50 mg/L, pH 5,7) li petri chashkalariga ekildi va termostat inkubatorga 28℃ da 5 kun davomida inkubatsiya qilindi. Koloniyalar shakli, rangi, tuzilishidagi tafovutlarga ko‘ra toza kulturalarga ajratish uchun yangi nutrient agar va kartoshka dekstrozali petri chashkalariga ko‘chirilib 4 kun davomida inkubatsiya qilindi.

Bakteria ekstraktini tayyorlash.

Ajratib olingan izolyatlar dastlab suyuq LB (Luria Bertani) muhitida (tarkibi: pepton – 10 g, achitqi ekstrakti (yeast extract) – 5 g, natriy xlorid (NaCl) – 10 g, pH 7,0) 28℃ da 150 rpm aylanish tezligida 24 soat inkubatsiya qilindi va dastlab o‘stirishdan so‘ng kultural suyuqlik 1litr hajmli Erlenmeyr kolbalariga 0,5L hajmdagi yangi LB oziqa muhitiga ko‘chirildi va shu sharoitda 72 soat davomida inkubatsiya qilindi.

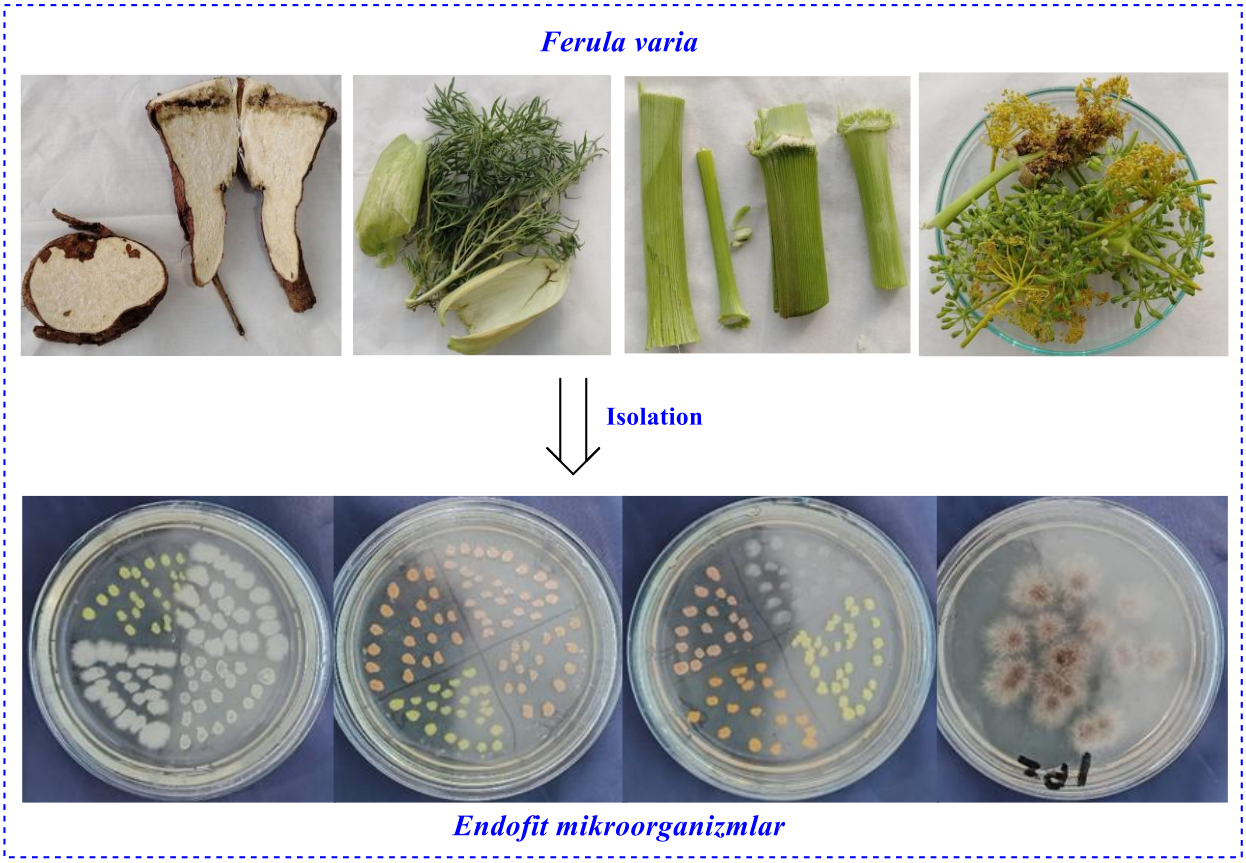
Inkubatsiya qilingan kultural suyuqlik 4000 rpm tezlikda 20 daqiqa davomida sentrifugadan o‘tkazilib supernatant qismi ajratib olindi. Hujayralardan holi qilingan supernatat separatsion voronka yordamida etil atsetat bilan 1:2 nisbatda aralashtirilib ekstraksiya qilindi. So‘ngra organik faza rotatsion bug‘latkich yordamida konsentratsiya qilinib izolyatlarning xom ekstraktlari olindi. Tayyor xom ekstraktlar keyingi kimyoviy va biologik tahlillar uchun 4℃ da saqlanmoqda.

Natijalar va muhokama

Endofit mikroorganizmlarni ajratib olish va morfologik identifikatsiya

Hozirgi vaqtda endofit mikroorganizmlardan farmasevtika sanoati uchun dori vositalari sintezida muhim manba sifatida etibor qaratilmoqda. *F. varia* o‘simligi O‘zbekiston va Markaziy Osiyo davlatlarida tabiiy antioksidant dorivor vosita sifatida istiqbolli bo‘lib, turli mahsulotlarga qo‘shilishi, giperglikemiyani kamaytirish uchun ziravor sifatida, shuningdek, giperpigmentatsiyaga qarshi farmatsevtik kosmetika vositalarida tabiiy komponent sifatida ishlatilishi mumkin deb qaralmoqda [6]. Ushbu tadqiqot O‘zbekistonda o‘sayotgan *F. varia* o‘simligining ildiz, poya, barg va gullari bilan bog‘liq endofit mikroorganizmlarning bioxilma-xilligini o‘rganishga qaratilgan.

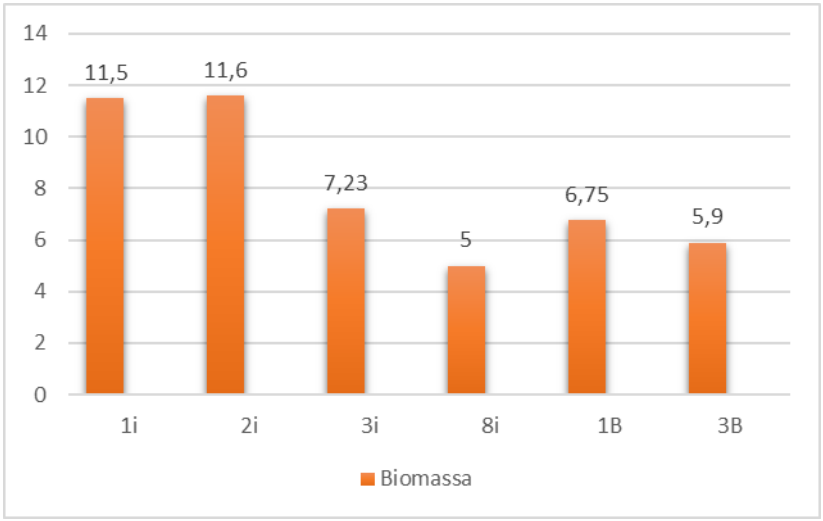
Morfologik xususiyatlariga asoslanib, jami 42 ta bakteria va 8 ta zamburug‘ izolyatlari ajratib olindi. Bakteria koloniyalari silliq, yaltiroq yoki xira yuzalarga ega bo‘lib, ularning pigmentatsiyasi sariq, to‘q sariq, och pushti, sariq-yashil va och oq ranglarda kuzatildi. Birlamchi mikroskopik kuzatilganda tayoqcha va kokksimon shaklli, uzun, qisqa, to‘g‘ri, biroz egri, yakka hamda zanjirsimon bo‘lib joylashgani ko‘rildi. Zamburug‘ izolyatlari esa radial tuzilishga ega bo‘lib, markazlari to‘q jigarrangdan qora-binafsha ranggacha, chetlari esa oq yoki kulrang tusli koloniyalar hosil qildi. Ajratib olingan bakteriya shtammlarining dastlabki morfologik identifikatsiya tahlil natijalariga ko‘ra *Bacillus, Streptococcus, Pseudomonas* avlodining turlari ekanligi aniqlaqlandi. Zamburug’ shatmlari orasida esa *Aspergillus* va *Penicillium* avlodining turlari dominatlik qilishi aniqlandi.



1-rasm. *Ferula varia* o‘simligidan endofit mikroorganizmlarning ajratilishi

Ikkilamchi metabolitlarini ekstraktsiya qilish

Tanlab olingan bakteriya shtamlari 0,5 litr hajmdagi suyuq LB oziqa muhitida 72 soat vaqt davomida inkubatsiya qilindi va kultural suyuqlik 4000 rpm aylanish tezligida 20 daqiqa davomida sentrifuga qilinib biommassalari ajratildi. 1i, 2i, 3i, 8i, 1B, 3B shtammlarning biomassalari va ikkilamchi metabolitlari ko‘pligi bilan boshqa shtammlarga nisbatan faolligi aniqlandi.



2-rasm. Endofit bakteriyalarning biomassalari

Xulosa. Ushbu ish davomida *F. varia* o‘simligining endofit mikroorganizmlar izolyatlari ajratilib kimyoviy va biologik tahlillar uchun ularning ekstraktlari tayyorlandi va 4°C haroratda saqlandi. Tadqiqotning keyingi bosqichlarida izolyatlarni molekulyar identifikatsiya qilish, ularni ekstraktlarini antioksidant, antitumor, antidiabetik, biotransformatsiya qilish xususiyatlarini o‘rganish reja qilinmoqda.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Rustamova, N., Wubulikasimu, A., Mukhamedov, N., Gao, Y., Egamberdieva, D., and Yili, A. (2020). Endophytic Bacteria Associated with Medicinal Plant Vernonia anthelmintica: Diversity and Characterization. Current microbiology *77*, 1457-1465.
2. Niu, L., Rustamova, N., Ning, H., Paerhati, P., Lu, C., and Yili, A. (2022). Diversity and Biological Activities of Endophytic Fungi from the Flowers of the Medicinal Plant Vernonia anthelmintica. International Journal of Molecular Sciences *23*, 11935.
3. Rustamova, N., Bobakulov, K., Litao, N., Nuerxiati, R., Wali, A., Setzer, W.N., and Yili, A. (2022). Secondary Metabolites and their Biological Activities from Endophytic Fungal Strain Aspergillus terreus XJA8 Associated with Vernonia anthelmintica. Journal of Biologically Active Products from Nature *12*, 421-435.
4. Abduraimov, O., Shomurodov, K., Beshko, N., Makhmudov, A., Mavlanov, B., Allamurotov, A., Sharipova, V., Mamatqosimov, O., Azizbek, A., and Abduaziz, G. (2023). Ecological Analysis of Species of the Genus Ferula L., Distributed in Navoi Region (Uzbekistan). American Journal of Plant Sciences *14*, 1248-1259.
5. Abduraimov, O., Makhmudov, A., Mavlanov, B., Shomurodov, K., Mamatqosimov, O., Allamurotov, A., Azizbek, A., and Rizamat, K. (2024). Ferula varia (Schrenk) Trautv. prospects for the cultivation and use of hydrogels (Kyzylkum desert). African Journal of Biological Sciences *6*, 5243-5249.
6. Youssef, F.S., Mamatkhanova, M.A., Mamadalieva, N.Z., Zengin, G., Aripova, S.F., Alshammari, E., and Ashour, M.L. (2020). Chemical Profiling and Discrimination of Essential Oils from Six Ferula Species Using GC Analyses Coupled with Chemometrics and Evaluation of Their Antioxidant and Enzyme Inhibitory Potential. Antibiotics *9*, 518.