DOI 10.66073/ReFocus-Conf/3010035

FERMENTATSIYAGA ASOSLANGAN BIOSINTEZ YORDAMIDA PORTULACA OLERACEA ENDOFIT MIKROORGANIZMLARI TOMONIDAN KO‘P TO‘YINMAGAN YOG‘ KISLOTALARINING ISHLAB CHIQARILISHI

Normurodova Q.T., Bekmaxamatova Nargiza Voxidovna *Mirzo Ulug‘bek nomidagi O‘zbekiston Milliy universiteti*

Annotatsiya: Ushbu tadqiqotda Toshkent viloyatining Qibray va Yangiyo‘l tumanlari agroekologik zonalaridan to‘plangan dorivor *Portulaca oleracea* o‘simligi to‘qimalaridan ajratib olingan endofit mikroorganizmlarning biologik xavfsizligi va ko‘p to‘yinmagan yog‘ kislotalari (PUFA) sintez qilish salohiyati o‘rganildi. Jami ajratilgan 31 ta endofit shtammdan qat’iy skrining va seleksiya natijasida yuqori mahsuldor va patogen bo‘lmagan 4 ta yetakchi shtamm (BPRC32, RSMAB-1, MD va PP6C1) saralab olindi. Gaz xromatografiyasi (GC-FID) va molekulyar-genetik identifikatsiya natijalari *Bacillus subtilis* RSMAB-1 (NCBI: MW368768) shtammining eykozapentaen kislota (EPA, 3.20 mg/100 mg), *Saccharomyces cerevisiae* MD (DDBJ: LC528142) shtammining esa dokozageksaen kislota (DHA, 0.25 mg/100 mg) va umumiy PUFA (10.93 mg/100 mg) ishlab chiqarishda yuqori samaradorlikka ega ekanini ko‘rsatdi. Mazkur mahalliy shtammlar sanoat biotexnologiyasida import o‘rnini bosuvchi Omega-3 va Omega-6 biologik faol qo‘shimchalarini olishda ekologik va iqtisodiy jihatdan barqaror bio-platforma bo‘lib xizmat qiladi.

Kalit so‘zlar: endofitlar, *Portulaca oleracea*, EPA, DHA, PUFA, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentatsiya, biosintez.

Аннотация: В данном исследовании изучены биологическая безопасность и потенциал синтеза полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) эндофитными микроорганизмами, выделенными из тканей лекарственного растения *Portulaca oleracea*, собранного в агроэкологических зонах Кибрайского и Янгиюльского районов Ташкентской области. Из 31 выделенного эндофитного штамма путем строгого скрининга и селекции были отобраны 4 перспективных непатогенных штамма (BPRC32, RSMAB-1, MD и PP6C1). Результаты газовой хроматографии (GC-FID) и молекулярно-генетической идентификации показали, что штамм *Bacillus subtilis* RSMAB-1 (NCBI: MW368768) обладает высокой эффективностью в производстве эйкозапентаеновой кислоты (EPA, 3.20 мг/100 мг), а штамм *Saccharomyces cerevisiae* MD (DDBJ: LC528142) – докозагексаеновой кислоты (DHA, 0.25 мг/100 мг) и общих ПНЖК (10.93 мг/100 мг). Данные локальные штаммы могут служить экологически и экономически устойчивой биоплатформой для получения импортозамещающих биологически активных добавок Омега-3 и Омега-6 в промышленной биотехнологии.

Ключевые слова: эндофиты, *Portulaca oleracea*, EPA, DHA, ПНЖК, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, ферментация, биосинтез.

Abstract: In this study, the biological safety and polyunsaturated fatty acid (PUFA) synthesis potential of endophytic microorganisms isolated from the tissues of the medicinal plant *Portulaca oleracea*, collected from the agroecological zones of Qibray and Yangiyo‘l districts of Tashkent region, were investigated. Out of 31 isolated endophytic strains, 4 highly productive and non-pathogenic leading strains (BPRC32, RSMAB-1, MD, and PP6C1) were selected through rigorous

IQTIBOS UCHUN
Normurodova Q.T., Bekmaxamatova N.V. Fermentatsiyaga asoslangan biosintez yordamida Portulaca oleracea endofit mikroorganizmlari tomonidan ko‘p to‘yinmagan yog‘ kislotalarining ishlab chiqarilishi // Fundamental va amaliy mikrobiologiyaning bugungi holati va rivojlanish istiqbollari: yosh olimlar nigohi: Respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari. – Toshkent, 2026. – B. 133–138.
DOI: https://doi.org/10.66073/ReFocus-Conf/3010035

screening and selection. Gas chromatography (GC-FID) and molecular-genetic identification results revealed that *Bacillus subtilis* RSMAB-1 (NCBI: MW368768) strain exhibited high efficiency in eicosapentaenoic acid (EPA, 3.20 mg/100 mg) production, while *Saccharomyces cerevisiae* MD (DDBJ: LC528142) strain excelled in docosahexaenoic acid (DHA, 0.25 mg/100 mg) and total PUFA (10.93 mg/100 mg) production. These indigenous strains serve as an ecologically and economically sustainable bio-platform for obtaining import-substituting Omega-3 and Omega-6 biologically active supplements in industrial biotechnology.

Keywords: endophytes, *Portulaca oleracea*, EPA, DHA, PUFA, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation, biosynthesis.

Kirish

Zamonaviy tibbiyot, diyetologiya va farmatsevtikada inson salomatligini saqlash hamda surunkali kasalliklarning oldini olishda ko‘p to‘yinmagan yog‘ kislotalarining (PUFA — Polyunsaturated Fatty Acids) o‘rni beqiyosdir. Ayniqsa, uzun zanjirli omega-3 sinfiga mansub eykozapentaen (EPA) va dokozageksaen (DHA) kislotalari inson organizmidagi eng muhim fiziologik jarayonlarni boshqarishda, qon plazmasidagi xolesterin va past zichlikdagi lipoproteinlar (PZLP) miqdorini kamaytirishda, tomirlar elastikligini oshirishda hamda yurak-qon tomir tizimi kasalliklari xavfini keskin pasaytirishda ishtirok etadi. Evolyutsion-biologik xususiyatlar tufayli inson organizmi ushbu essensial makromolekulalarni mustaqil sintez qila olmaydi, chunki odam hujayralarida tegishli desaturaza fermentlari sintezlanmaydi. Shu sababli, inson ularni muntazam ravishda tashqi manbalar — oziq-ovqat yoki biologik faol qo‘shimchalar (BFQ) orqali qabul qilishga majbur. JSST ma’lumotlariga ko‘ra, dunyo aholisining qariyb 31 foizi PUFA yetishmovchiligidan aziyat chekmoqda.

Bugungi kunda jahon bozorida ushbu moddalarning asosiy manbasi dengiz baliqlarining moyi hisoblanadi. Ammo an’anaviy baliqchilik sanoati jiddiy ekologik va iqtisodiy muammolarga duch kelmoqda. Birinchidan, global sanoat chiqindilarining dunyo okeaniga tashlanishi oqibatida baliq moyida og‘ir metallar, mikroplastiklar va dioksidlar kabi toksik moddalar to‘planmoqda. Ikkinchidan, baliq zaxiralarining kamayishi tufayli mahsulot tannarxi yil sayin oshmoqda. O‘simlik manbalari (zig‘ir, soya) esa uzun zanjirli EPA va DHA kislotalarini to‘liq shaklda saqlamaydi, ularning o‘tmishdoshi bo‘lgan alfa-linolen kislotasining organizmda faol shaklga aylanish koeffitsiyenti o‘ta past (<5%) hisoblanadi. Ushbu muammolarni bartaraf etish maqsadida, fermentatsiyaga asoslangan mikrobiologik biosintez texnologiyasini rivojlantirishga alohida e’tibor qaratilmoqda. Mikroorganizmlar yordamida PUFA olish texnologiyasi iqlim sharoitlariga va atrof-muhitning ifloslanishiga bog‘liq bo‘lmagan holda, qisqa muddatda yuqori sifatli va ekologik toza mahsulot olish imkonini beradi.

Materiallar va tadqiqot metodlari

1. O‘simlik namunalarini tanlash va fitosanitar yig‘ish. Portulaca oleracea namunalari Toshkent viloyatining Qibray va Yangiyo‘l tumanlari agrar maydonlaridan o‘simlikning jadal o‘sish (vegetatsiya) davrida, ertalabki soatlarda, ildiz, poya va barg qismlari shikastlanmagan holda yig‘ildi. Namunalar laboratoriyaga maxsus muzlatgichli konteynerlarda 2 soat ichida yetkazildi.

2. Yuzaki (sirtqi) sterilizatsiya qilish. Epifit mikroorganizmlarni tozalash maqsadida ildiz, poya va barglar dastlab oqar suvda 15 daqiqa davomida yuvildi. So‘ngra laminar-boks ichida ketma-ket: 70% li etil spirtida (1 daqiqa), 0.1% li simob dixlorid (HgCl2) eritmasida (3–5 daqiqa) ishlov berildi va steril distillangan suvda 5 marotaba chayildi. Oxirgi chayilgan suv ozuqa muhitlariga ekilib, nazorat (kontrol) o‘tkazildi.

3. Endofit mikrob kulturalarini ajratib olish (Izolyatsiya). Sterillangan organlar chinni hovonchalarda maydalanib, 1 g porsiyasi 9 ml 0.9% li NaCl eritmasida suspenziya qilindi. Eritmalar 10^-1 dan 10^-5 gacha ketma-ket suyultirilib, universal MRS agarli ozuqa muhitiga (pH 6.5) sirtqi yoyish usuli bilan ekildi. Namunalar 37°C haroratda 48 soat davomida inkubatsiya qilindi. Birinchi bosqichda o‘sgan koloniyalar morfologik belgilari bo‘yicha guruhlanib, MRS bulyonida qayta

 DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/3010035

ko‘paytirish orqali toza kultura holatiga keltirildi. Mikrob hujayralari konsentratsiyasi MakFarland standarti bo‘yicha 10^7 KOU/ml darajasiga keltirildi.

4. In vitro sharoitida toksiklik va gemolitik faollik tahlili. Biologik xavfsizlikni aniqlash uchun tarkibida 5% yuvilgan qo‘y qoni bo‘lgan oziqa agari tayyorlandi. Toza kulturalar nuqtali usulda ekilib, 37°C da 24 soat inkubatsiya qilindi. Koloniyalar atrofida to‘liq shaffof zona hosil qilgan alfa (α) yoki beta (β) gemolizli patogen shtammlar eksperimentdan chiqarib tashlandi. Atrofida hech qanday parchalanish zonasi hosil qilmagan, qon eritrotsitlariga nisbatan mutlaq neytral bo‘lgan gamma (γ) gemoliz ko‘rsatgan shtammlar xavfsiz deb topildi.

5. Lipid to‘planishini ekspress-skrining qilish usullari. Sudan Black B (Sudan qorasi B) bilan bo‘yash. Hujayra surtmasi tayyorlanib, Sudan Black B bo‘yog‘i bilan 10 daqiqa davomida bo‘yaldi va 0.5% li safranin bilan kontrastlandi. Immersion mikroskop ostida (100×) hujayra maydonining 50% dan ko‘pini egallagan yirik ko‘kimtir-qora rangli lipid globulalari aniqlangan shtammlar tanlandi.

TTC kolorimetrik tahlili: Suyuq kultura supernatantiga 0.1% li TTC (trifeniltetrazoliydixlorid) eritmasi qo‘shilib, 25°C da 1 soat saqlandi. Δ5-desaturaza fermenti ta’sirida rangsiz moddaning qizil rangli trifenilformazan (TF) cho‘kmasiga aylanishi kolorimetrik o‘lchandi.

Vodorod peroksid (H_2O_2) plastinka tahlili: Shtammlarning oksidlanishli (oksidativ) stressga bardoshliligini tekshirish uchun LB agar plastinkalariga mikrob suspenziyasi yoyilib, filtr qog‘oz disklari joylashtirildi va ularga turli konsentratsiyali H_2O_2 eritmasi (0.01%, 0.5%, 1.0%) tomizildi. 24 soatdan keyin o‘sishni ingibitsiya qilish zonalari o‘lchandi.

6. Lipidlarni jadal ekstraksiya qilish va FAME modifikatsiyasi. Umumiy lipidlarni ajratib olish Blay va Dayer (Bligh and Dyer) usuli asosida bajarildi. Hujayra qobig‘ini parchalash uchun pulsli elektroporatsiya texnologiyasi (20 kV/sm, 10 ta impuls) qo‘llanildi. Gomogenatga BHT (butilirlangan gidroksitoluol, 15 mg/ml) va xloroform: metanol (2:1 nisbatda) qo‘shilib aralashtirildi hamda sentrifugatsiya (5000 ayl/daqiqa, 10 daqiqa) qilindi. Lipid cho‘kmasiga 1 ml 0.5 N HCl ning metanoldagi eritmasi qo‘shilib, 4 soat davomida 40°C da transesterifikatsiya (yog‘ kislotalari metil efirlarini — FAME hosil qilish) reaksiyasi o‘tkazildi. FAME fraksiyasi 0.05 ml geksanda qayta eritildi.

7. Gaz xromatografiyasi (GC-FID) sharoitlari va miqdoriy tahlil. Tahlil Agilent GC gaz xromatografiyasi tizimida, Supelcowax 10 kapillyar kolonkasida bajarildi. Tashuvchi gaz — geliy (1.5 ml/daqiqa), injektor harorati 250°C, oqim bo‘linish (split) nisbati 50:1, kiritilgan namuna hajmi 1 µL. Termostat harorati 140°C dan 240°C gacha (minutiga 4°C tezlikda) bosqichma-bosqich ko‘tarildi. Komponentlar cho‘qqilari xalqaro standart etalon namunalar (Supelco 37 Component FAME Mix) tutilish vaqtlari (retention time) bilan solishtirilib aniqlandi.

8. Molekulyar-genetik identifikatsiya va statistik tahlil. Butun genomik DNK maxsus tijorat to‘plamlari (Sigma-Aldrich, AQSh) yordamida ajratildi. Bakteriyalar uchun 16S rDNK geni, zamburug‘ va achitqilar uchun ITS hududlari universal praymerlar yordamida amplifikatsiya qilindi (PZR), sekvenirlanib, NCBI BLAST ma’lumotlar bazasi bilan solishtirildi. Raqamli ma’lumotlar GraphPad Prism dasturida One-way ANOVA usulida statistik qayta ishlandi ($p \leq 0.05$).

Tadqiqot natijalari va ularning tahlili

Portulaca oleracea o‘simligi namunalarini mikrobiologik tahlil qilish natijasida jami 31 ta endofit mikroorganizm toza kultura holatida ajratib olindi. Ajratilgan umumiy mikrob izolyatlarining hududlar va o‘simlik organlari bo‘yicha miqdoriy taqsimoti 1-jadvalda keltirilgan.

1-jadval. *Portulaca oleracea* o‘simligi organlaridan ajratilgan endofit kulturalarning miqdoriy taqsimoti

***Portulaca oleracea* qismlari**	**Ildiz**	**Poya**	**Barglar**	**Jami**
1-hudud: Qibray	8	6	5	**19**

DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/3010035

2-hudud: Yangiyo‘l	6	4	2	**12**
Jami	**14**	**10**	**7**	**31**

1-jadval ma’lumotlaridan ko‘rinib turibdiki, endofit mikroorganizmlarning eng yuqori to‘planish konsentratsiyasi o‘simlikning ildiz tizimiga to‘g‘ri keladi (14 ta shtamm yoki umumiy miqdorning 45.1% qismi). Ushbu holat ildiz tizimining tuproq mikroflorasi va ildiz eksudatlari (shakar, aminokislotalar, organik kislotalar) bilan bevosita aloqada bo‘lishi hamda endofitlar kirishi uchun qulay ekologik nisha (muhit) yaratishi bilan izohlanadi. Eng kam mikrob yuklamasi esa barg qismida (7 ta shtamm) kuzatildi.

Ajratib olingan barcha 31 ta endofit shtammdan 23 tasi mutlaq γ-gemoliz ko‘rsatib, ularning biologik xavfsiz ekanligi tasdiqlandi. Qolgan 8 ta shtammda turli darajadagi gemoliz zonalari kuzatilganligi sababli tadqiqotdan chetlashtirildi. Xavfsiz deb topilgan 23 ta shtamm Sudan Black B bo‘yog‘i yordamida skrining qilinganda, ulardan 12 tasi lipid to‘plash bo‘yicha yuqori ijobiy ko‘rsatkich namoyon etdi.

Keyingi bosqichda H2O2 plastinka testi hamda TTC kolorimetrik tahlili orqali tekshirilganda, faqatgina 4 ta shtamm (BPRC32, RSMAB-1, MD va PP6C1) yuqori konsentratsiyali vodorod peroksid ta’sirida ham o‘zining metabolik yaxlitligini saqlab, yuqori fermentativ faollik ko‘rsatdi. Mazkur 4 ta yetakchi shtammning komponentli PUFA profili ko‘rsatkichlari 2-jadvalda bayon etilgan.

2-jadval. Izolyatlarning PUFA profili tahlili natijalari (mg / 100 mg FAs, M ± m, n = 3)

T/r	Kulturalar	Umumiy PUFA	DGLA	AA	EPA	NA	DHA
1	BPRC32	7.50	4.28	0.28	2.31	0.44	0.19
2	RSMAB-1	8.80	4.32	0.45	3.20	0.71	0.12
3	MD	10.93	4.94	2.69	2.63	0.42	0.25
4	PP6C1	7.69	3.70	0.05	2.28	1.55	0.11

Izoh: FAs — yog‘ kislotalari (Fatty Acids); DGLA — digomo-γ-linolen kislota; AA — araxidon kislota; EPA — eykozapentaen kislota; NA — nervon kislota; DHA — dokozageksaen kislota.

2-jadvalda keltirilgan xromatografik tahlil natijalari shuni ko‘rsatadiki, barcha 4 ta shtamm tarkibida ko‘p to‘yinmagan yog‘ kislotalarining to‘liq kompleksi mavjud. MD shtammi umumiy PUFA miqdori bo‘yicha mutlaq yetakchilikni qayd etdi (10.93 mg / 100 mg) hamda asab tizimi va miya hujayralari uchun eng qimmatli hisoblangan DHA miqdorini maksimal darajada sintez qildi (0.25 mg / 100 mg). Shuningdek, ushbu shtamm digomo-γ-linolen (4.94 mg) va araxidon (2.69 mg) kislotalariga ham boy ekanligi aniqlandi.

Bacillus subtilis RSMAB-1 shtammi esa yurak-qon tomir tizimini himoya qiluvchi va antioksidant xususiyatga ega EPA sintezi bo‘yicha eng yuqori ko‘rsatkichni namoyon etdi (3.20 mg / 100 mg).

Butun genomik DNK sekvenirlash va PZR tahlillari natijasiga ko‘ra, RSMAB-1 shtammining nukleotidlar ketma-ketligi *Bacillus subtilis* ekanligini ko‘rsatdi va u NCBI xalqaro gen bankida MW368768 kirish raqami bilan, MD shtammi esa *Saccharomyces cerevisiae* ekanligi tasdiqlanib, DDBJ xalqaro ma’lumotlar bazasida LC528142 kirish raqami bilan rasman ro‘yxatga olindi.

Muhokama

Tadqiqot davomida olingan ijobiy natijalar va yuqori lipid profili ko‘rsatkichlari o‘simliklar olami va ularning ichki to‘qimalarida simbioz yashovchi endofit mikroorganizmlar o‘rtasidagi chuqur biokimyoviy va evolyutsion aloqalarni ilmiy jihatdan asoslaydi. *Portulaca oleracea* o‘simliklar dunyosida o‘zining yuqori miqdordagi alfa-linolen, olein va linol kislotalarini sintez qilish xususiyati bilan tanilgan. Ko‘plab zamonaviy fitogenetik va molekulyar tadqiqotlar shuni isbotlaydiki, o‘simlik to‘qimalari ichida asrlar davomida birga yashash (koevolyutsiya) natijasida o‘simlik tarkibidagi ma’lum metabolik yo‘llarga javobgar bo‘lgan o‘ziga xos genlar zanjiri gorizontal transfer

mexanizmlari orqali endofitlar guruhiga o‘tishi mumkin. Aynan shu sababli, tarkibida tabiiy ravishda PUFA ko‘p bo‘lgan o‘simliklardan ajratilgan endofitlar, boshqa neytral manbalardan olingan mikroblarga qaraganda bir necha barobar yuqori lipid to‘plash salohiyatiga ega bo‘ladi.

TTC testida mikrob kulturalarining qizil rangga kirishi hujayra ichidagi Δ5-desaturaza fermentining faolligi yuqori ekanligini ko‘rsatdi. Ushbu ferment to‘yingan yog‘ kislotalari zanjirida qo‘sh bog‘lar hosil qilib, ularni yuqori molekulali PUFA shakliga o‘tkazishda asosiy katalizator hisoblanadi. H2O2 plastinka tahlilida o‘sish ingibitsiya zonalarining mutlaq kuzatilmaganligi esa ajratilgan Bacillus subtilis (MW368768) va *Saccharomyces cerevisiae* (LC528142) shtammlari hujayra membranasining tarkibiy qismi bo‘lgan lipid zanjirlari tashqi kuchli oksidlovchilar va erkin radikallar ta’siriga o‘ta yuqori strukturaviy barqarorlikka ega ekanini ko‘rsatdi. Bu xususiyat yirik bioreaktorlarda havo bilan intensiv aeralash sharoitida mikrob hujayralarining barqaror ko‘payishi uchun o‘ta muhim texnologik afzallik hisoblanadi.

Xulosa

Portulaca oleracea o‘simligining ichki to‘qimalari yuqori miqdorda lipid to‘plash va ko‘p to‘yinmagan yog‘ kislotalari (PUFA) sintez qilish qobiliyatiga ega bo‘lgan biologik xavfsiz endofit mikroorganizmlarning boy tabiiy manbai ekanligi to‘liq isbotlandi.

Ajratib olingan 31 ta shtammdan barcha skrining bosqichlaridan (gemoliz, Sudan Black B, H2O2, TTC) muvaffaqiyatli o‘tgan 4 ta eng istiqbolli shtamm aniqlandi va ularning yuqori lipid profili gaz xromatografiyasi yordamida tasdiqlandi.

Molekulyar-genetik jihatdan xarakterlangan *Bacillus subtilis* RSMAB-1 (NCBI: MW368768) shtammi yuqori miqdorda EPA (3.20 mg / 100 mg) kislotasini, *Saccharomyces cerevisiae* MD (DDBJ: LC528142) shtammi esa maksimal darajada DHA (0.25 mg / 100 mg) va umumiy PUFA (10.93 mg / 100 mg) kislotalarini sintez qilishi aniqlandi va ular xalqaro gen banklariga kiritildi.

Ajratib olingan ushbu mahalliy shtammlar patogen xususiyatga ega emasligi, inson organizmi uchun mutlaq xavfsizligi hamda mahalliy arzon ozuqa substratlarida (masalan, qishloq xo‘jaligi chiqindilari, patoka, bulyonlar) juda tez ko‘payib, yuqori ekologik toza biomassani hosil qila olish xususiyati bilan ajralib turadi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Patel A, Rova U, Christakopoulos P, Matsakas L. Introduction to Essential Fatty Acids. Nutraceutical Fatty Acids from Oleaginous Microalgae. Wiley. 2020; 1–22.
2. Kothri M, Mavrommati M, Elazzazy A, Baeshen M, Moussa T, Aggelis G. Microbial sources of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and the prospect of organic residues and wastes as growth media for PUFA-producing microorganisms. FEMS Microbiol Lett. 2020; 367.
3. D’Eliseo D, Velotti F. Omega-3 Fatty Acids and Cancer Cell Cytotoxicity: Implications for Multi-Targeted Cancer Therapy. J Clin Med. 2016; 5:15.
4. FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report. 2002.
5. Gribble MO, Karimi R, Feingold BJ, Nyland JF, O’Hara TM, Gladyshev MI, and Chen CY. Mercury, selenium and fish oils in marine food webs and implications for human health. J Mar Biol Assoc UK. 2016; 96: 43–59.
6. Byreddy AR, Gupta A, Barrow CJ, Puri M. Comparison of cell disruption methods for improving lipid extraction from thraustochytrid strains. Mar Drugs. 2015; 13: 5111–5127.
7. Zinniel DK, Lambrecht P, Harris NB, Feng Z, Kuczmarski D, Higley P, Ishimaru CA, Alahari A, Barletta RG, Vidaver AK. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. Appl Environ Microbiol. 2002; 68: 2198–2208.
8. Iranshahy M, Javadi B, Iranshahi M, Jahanbakhsh SP, Mahyari S, Hassani FV, et al. A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Portulaca oleracea L. J Ethnopharmacol. 2017; 205: 158–172.

9. Kanno M, Constant P, Tamaki H, Kamagata Y. Detection and isolation of plant-associated bacteria scavenging atmospheric molecular hydrogen. Environ Microbiol. 2016; 18: 4050-4061.