

OROLBO‘YI EKSTREMAL EKOTIZIMLARIDAN OLINGAN MAGLARDI AZOT METABOLIZMI POTENSIALI: QIYOSIY GENOMIK TAHLIL

Alimov Jahongir Egamqul o‘g‘li

Xalqaro qishloq xo‘jaligi univeristeti O‘quv ishlari bo‘yicha prorektori

O‘zbekiston milliy universiteti mustaqil tadqiqotchisi, jahongir.alimov@rau.ac.uk

Sultanov No‘monjon Nabi o‘g‘li

O‘zbekiston milliy universiteti tayanch doktoranti, nomonjonsultanov4@gmail.com

Abdusamatov Soxibjon Abdusamatovich

O‘zbekiston milliy universiteti dotsenti, sokhibjon.abdusamatov@gmail.com

Davranov Kahramon Davranovich

O‘zR FA Mikrobiologiya instituti bosh ilmiy xodimi, k_davranov@mail.ru

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.21929335>

Annotatsiya. Mazkur tadqiqotda Orolbo‘yi ekstremal ekotizimlaridan rekonstruksiya qilingan bakterial metagenomik yig‘ilgan genomlarda (MAG) azot almashinuvi bilan bog‘liq funksional genlarning tarqalishi qiyosiy genomik tahlil qilindi. Natijada atmosfera azotini fiksatsiyasi, nitratni qaytarish, DNRA hamda denitrifikatsiyaning ayrim bosqichlariga oid genlar faqat ayrim genomlarda aniqlanib, ularning notekis tarqalganligi kuzatildi. Shu bilan birga, to‘liq denitrifikatsiya (nosDZ), nitrifikatsiya va anammoks jarayonlariga oid genlar aniqlanmadi. Olingan natijalar Orolbo‘yi cho‘kindi mikrobiotasida azot almashinuvi asosan anaerob metabolik yo‘llar orqali amalga oshishini hamda ushbu jarayonlar mikroorganizmlar o‘rtasidagi funksional ixtisoslashuv asosida tashkil topganligini ko‘rsatadi.

Kalit so‘zlar: Orolbo‘yi, metagenomika, MAG, azot almashinuvi, denitrifikatsiya, DNRA, nitrifikatsiya, anammoks, qiyosiy genomika.

Аннотация. В настоящем исследовании проведён сравнительный геномный анализ функциональных генов азотного обмена в реконструированных бактериальных метagenомных геномах (MAG), полученных из экстремальных экосистем Приаралья. Установлено, что гены, связанные с фиксацией атмосферного азота, восстановлением нитрата, процессом DNRA и отдельными стадиями денитрификации, выявлены лишь в части исследованных геномов, что свидетельствует об их неравномерном распределении. При этом гены, ответственные за полную денитрификацию (nosDZ), нитрификацию и анаммокс, обнаружены не были. Полученные результаты показывают, что азотный обмен в донной микробиоте Приаралья осуществляется преимущественно посредством анаэробных метаболических путей и характеризуется функциональной специализацией микроорганизмов.

Ключевые слова: Приаралье, метagenomika, MAG, азотный обмен, денитрификация, DNRA, нитрификация, анаммокс, сравнительная геномика.

Abstract. This study presents a comparative genomic analysis of nitrogen metabolism-related functional genes in bacterial metagenome-assembled genomes (MAGs) reconstructed from the extreme ecosystems of the Aral Sea region. Genes involved in atmospheric nitrogen fixation, nitrate reduction, dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA), and several steps of denitrification were detected only in a limited number of genomes, indicating their uneven distribution among the analyzed MAGs. In contrast, genes responsible for complete denitrification (nosDZ), nitrification, and anammox were not identified. These findings suggest that nitrogen cycling in the sediment microbiota of the Aral Sea region is mainly driven by anaerobic metabolic pathways and is based on functional specialization among different microbial populations.

Keywords: Aral Sea region, metagenomics, metagenome-assembled genomes (MAGs), nitrogen metabolism, denitrification, DNRA, nitrification, anammox, comparative genomics.

Azot biosferadagi eng muhim biogen elementlardan biri bo‘lib, uning mikroorganizmlar ishtirokidagi aylanishi ekotizimlarning mahsuldorligi, modda almashinuvi va issiqxona gazlari emissiyasini boshqaruvchi asosiy biogeokimyoviy jarayonlardan hisoblanadi. So‘nggi yillarda metagenomika va metagenomik yig‘ilgan genomlar (metagenome-assembled genomes, MAG) asosidagi tadqiqotlarning rivojlanishi natijasida ilgari kultivatsiya qilib bo‘lmaydigan mikroorganizmlarning metabolik salohiyatini genom darajasida baholash imkoniyati yaratildi. Ayniqsa, azot almashinuvi bilan bog‘liq funksional genlarning MAGlar bo‘yicha taqsimlanishini aniqlash mikroorganizmlarning ekologik moslanish

strategiyalarini va biogeokimyoviy sikllardagi rolini tushunishda muhim ahamiyat kasb etmoqda [3. 2022: B.401–414; 4. 2021: B.1–12].

Denitrifikatsiya nitratning (NO_3^-) bosqichma-bosqich nitrit (NO_2^-), azot oksidi (NO), azot(I) oksidi (N_2O) va molekulyar azot (N_2) gacha qaytarilishi orqali amalga oshadigan murakkab anaerob respiratsiya jarayonidir. Zamonaviy genome-resolved metagenomika tadqiqotlari tabiiy ekotizimlarda denitrifikatsiya ko‘pincha qisman (partial yoki truncated denitrification) shaklida amalga oshishini ko‘rsatmoqda. Gao va hamkorlari denitrifikatsiyalovchi bioreaktordan rekonstruksiya qilingan MAGlar tahlili asosida mikroorganizmlarning aksariyati denitrifikatsiyaning faqat ayrim bosqichlarini bajarishini aniqlagan [2. 2019: B.297–306]. Keyinchalik Roothans va hamkorlari 1571 ta MAGni qamrab olgan qiyosiy genomik tahlilda tabiiy ekotizimlarda qisman denitrifikatorlar ustunligini ko‘rsatib, buni mikrobiomdagi metabolik mehnat taqsimoti bilan izohlagan [6. 2025: B. 1–10].

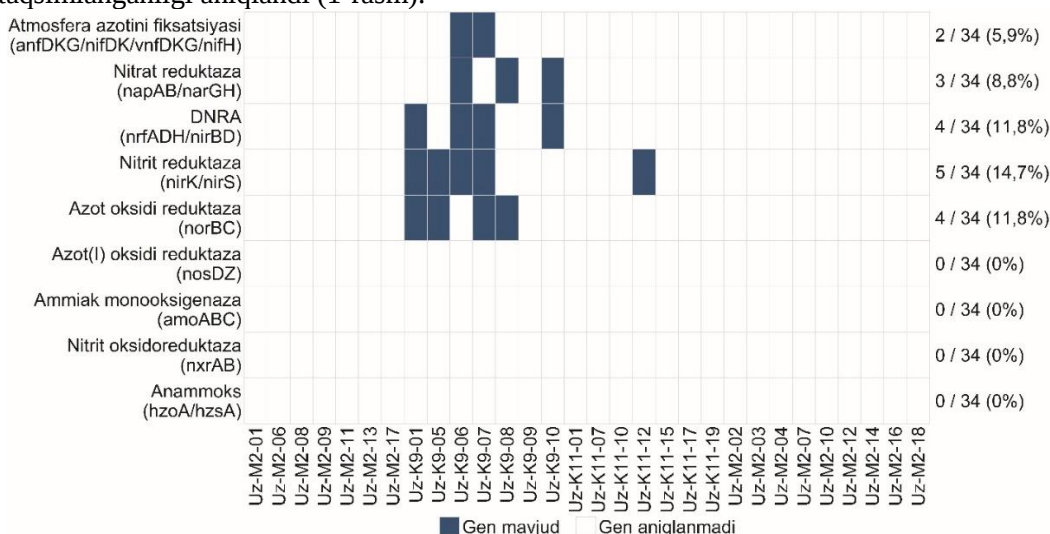
Denitrifikatsiyaning boshlang‘ich bosqichi narGHI yoki napAB genlari kodlaydigan nitrat reduktazalar yordamida amalga oshiriladi. Hosil bo‘lgan nitrit keyinchalik nirK/nirS genlari ishtirokida azot oksidiga qaytariladi yoki alternativ yo‘l – DNRA orqali nrfA va nirBD genlari yordamida ammoniyga aylantiriladi. Zamonaviy genomik va metatranskriptomik tadqiqotlar DNRA hamda denitrifikatsiya ko‘plab anaerob ekotizimlarda bir vaqtda kechishini ko‘rsatmoqda [8. 2021: B.6–8; 10. 2024: B. 4–12].

Denitrifikatsiyaning yakuniy bosqichlari norBC va nosZ genlari bilan bog‘liq. Ayniqsa, nosZ geni N_2O ni molekulyar azotgacha qaytaruvchi yagona fermentni kodlaydi va shu sababli N_2O emissiyasini cheklovchi muhim ekologik marker hisoblanadi. MAG asosidagi tadqiqotlarda nosZ genining genomlar bo‘yicha notekis tarqalishi qayd etilgan [7. 2025: B.7–14].

Orolbo‘yi dunyodagi eng yirik antropogen ekologik inqiroz hududlaridan biri bo‘lib, yuqori sho‘rlanish, organik moddalarning kamligi, kislorod tanqisligi va keskin iqlim sharoiti bilan tavsiflanadi. Bunday ekstremal sharoitlarda mikroorganizmlar murakkab metabolik moslanish strategiyalarini shakllantiradi. Shunga qaramay, Orolbo‘yi ekstremal ekotizimlaridan rekonstruksiya qilingan bakterial MAGlarda denitrifikatsiya va DNRA bilan bog‘liq funksional genlarning qiyosiy genomik tahlili hozirgacha yetarli darajada o‘rganilmagan.

Tadqiqotda Orolbo‘yi ekstremal ekotizimlaridan rekonstruksiya qilingan 34 ta bakterial metagenomik yig‘ilgan genom (MAG) qiyosiy genomik tahlil qilindi. Xom metagenomik ma‘lumotlar yig‘ilib, binlash va sifat nazoratidan o‘tkazildi. MAGlarning funksional annotatsiyasi RASTtk, NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP), KEGG hamda METABOLIC platformalari yordamida amalga oshirildi. Azot almashinuvi bilan bog‘liq napAB/narGH, nirK/nirS, nrfADH/nirBD, norBC va nosDZ genlarining genomlar bo‘yicha tarqalishi qiyosiy genomik tahlil asosida baholanib, natijalar issiqlik xaritasi ko‘rinishida vizualizatsiya qilindi [1. 2015:B.2–5; 5. 2021:B.1–10; 4. 2023:B.1–5; 9. 2022:B.2–12].

Qiyosiy genomik tahlil natijasida o‘rganilgan 34 ta bakterial MAGda azot almashinuvi genlarining notekis taqsimlanganligi aniqlandi (1-rasm).



1-rasm. Orolbo‘yi ekstremal ekotizimlaridan rekonstruksiya qilingan bakterial metagenomik yig‘ilgan genomlarda (MAG) azot almashinuvi genlarining tarqalishi.

Nitratni qaytaruvchi napAB/narGH, DNRA jarayoniga oid nrfADH/nirBD, nitrit reduktaza nirK/nirS hamda azot oksidi reduktaza norBC genlarining faqat ayrim MAGlarda aniqlanishi azot almashinuvi funksiyalarining turli mikroorganizmlar oʻrtasida taqsimlanganligini koʻrsatadi. Bunday funksional taqsimlanish ekstremal muhitlarda mikroorganizmlar oʻrtasidagi metabolik kooperatsiyani taʼminlovchi muhim ekologik moslanish mexanizmlaridan biri hisoblanadi.

Genlarning asosiy qismi Uz-K9 choʻkindi namunasidan rekonstruksiya qilingan genomlarda aniqlangani ushbu hudud mikroorganizmlarining anaerob respiratsiyaga yuqori darajada moslashganligini koʻrsatadi. Nitrat va nitritning terminal elektron akseptori sifatida ishlatilishi kislorod cheklangan choʻkindi qatlamlarida energiya almashinuvining muqobil yoʻllaridan biri hisoblanadi. Shu sababli napAB/narGH va nirK/nirS genlarining aynan ushbu namunalarda uchrashi Orolboʻyi choʻkindilarida azot birikmalarining energiya almashinuvidagi muhim roldan dalolat beradi.

Alohida eʼtiborga loyiq jihatlardan biri nrfADH/nirBD genlarining aniqlanishidir. Ushbu genlar nitritning ammoniygacha dissimilyatsion qaytarilishini (DNRA) taʼminlaydi. Denitrifikatsiyadan farqli ravishda DNRA jarayonida azot gazsimon shaklda yoʻqotilmaydi, balki ammoniy koʻrinishida ekotizimda saqlanib qoladi. Bu esa organik moddalarga boy va kislorod yetishmaydigan choʻkindi muhitlarda azot resurslarining ichki aylanishini taʼminlovchi muhim metabolik strategiya hisoblanadi.

Tahlilda nosDZ genlarining birorta ham genomda aniqlanmaganligi tadqiqotning eng muhim natijalaridan biri boʻldi. nosZ geni denitrifikatsiyaning yakuniy bosqichini katalizlovchi nitrous oxide reductase fermentini kodlaydi. Ushbu genning yoʻqligi oʻrganilgan bakterial MAGlarda denitrifikatsiyaning toʻliq metabolik yoʻli shakllanmaganligini va azot almashinuvi asosan qisman denitrifikatsiya orqali amalga oshirishini koʻrsatadi. Natijada mikrobiom tarkibida ayrim bakteriyalar nitratni nitritgacha, boshqalari esa nitritni azot oksidi yoki azot(I) oksidigacha qaytarishi mumkin, biroq N₂O ning molekulyar azotgacha qaytarilishi kuzatilmaydi.

Orolboʻyi choʻkindi mikrobiotasida azot almashinuvi bir-birini toʻldiruvchi metabolik yoʻllar kombinatsiyasi orqali amalga oshadi. Nitratni qaytarish, DNRA va qisman denitrifikatsiya jarayonlarining birgalikdagi mavjudligi ekstremal ekologik sharoitlarda mikroorganizmlar hamjamiyatining moslanish strategiyasini aks ettiradi hamda azot aylanishining funksional tashkil etilishi alohida mikroorganizmlar emas, balki butun mikrob hamjamiyati darajasida shakllanishini koʻrsatadi.

Aniqlangan genlar Orolboʻyi ekstremal choʻkindi mikrobiotasining azot almashinuvidagi potensial funksional imkoniyatlarini tavsiflaydi. Genlarning turli MAGlar boʻylab notekis taqsimlanishi azot aylanishi alohida mikroorganizmlar emas, balki mikrob hamjamiyatining metabolik hamkorligi asosida amalga oshirishini koʻrsatadi.

Biroq ushbu natijalar genomik potensialni aks ettiradi. Aniqlangan genlarning faol ekspressiyasi va metabolik faolligini tasdiqlash uchun kelgusida metatranskriptomik yoki funksional tadqiqotlar oʻtkazilishi maqsadga muvofiq.

Orolboʻyi ekstremal choʻkindi ekotizimlaridan rekonstruksiya qilingan 34 ta bakterial MAGning qiyosiy genomik tahlili azot almashinuvi bilan bogʻliq genlarning genomlar boʻylab notekis tarqalganligini koʻrsatdi. napAB/narGH, nrfADH/nirBD, nirK/nirS va norBC genlarining faqat ayrim genomlarda aniqlanishi nitratni qaytarish, DNRA hamda denitrifikatsiyaning ayrim bosqichlari mikrobiomning alohida funksional guruhlari tomonidan amalga oshirilishini koʻrsatdi. nosDZ genining barcha genomlarda aniqlanmaganligi esa Orolboʻyi choʻkindi mikrobiotasida toʻliq denitrifikatsiya emas, balki qisman denitrifikatsiya ustunligini koʻrsatadi. Olingan natijalar Orolboʻyi ekstremal ekotizimlarida azot aylanishining genomik asoslarini ochib berib, ushbu hudud mikrobiomining funksional salohiyatini baholash hamda ekstremal muhitlarda biogeokimyoviy jarayonlarni tushunish uchun muhim ilmiy asos yaratadi.

Foydalanilgan adabiyotlar roʻyxati

1. Brettin, T., Davis, J. J., Disz, T., Edwards, R. A., Gerdes, S., Olsen, G. J., ... & Xia, F. (2015). RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. *Scientific reports*, 5(1), 8365.
2. Gao, H., Mao, Y., Zhao, X., Liu, W. T., Zhang, T., & Wells, G. (2019). Genome-centric metagenomics resolves microbial diversity and prevalent truncated denitrification pathways in a denitrifying PAO-enriched bioprocess. *Water research*, 155, 275-287.
3. Hutchins, D. A., & Capone, D. G. (2022). The marine nitrogen cycle: new developments and global change. *Nature Reviews Microbiology*, 20(7), 401-414.

4. Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Kawashima, M., & Ishiguro-Watanabe, M. (2023). KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic acids research*, 51(D1), D587-D592.
5. Li, W., O'Neill, K. R., Haft, D. H., DiCuccio, M., Chetvernin, V., Badretin, A., ... & Thibaud-Nissen, F. (2021). RefSeq: expanding the Prokaryotic Genome Annotation Pipeline reach with protein family model curation. *Nucleic acids research*, 49(D1), D1020-D1028.
6. Roothans, N., van Loosdrecht, M. C., & Laureni, M. (2025). Metabolic labour division trade-offs in denitrifying microbiomes. *The ISME journal*, 19(1), wraf020.
7. Schacksen, P. S., & Nielsen, J. L. (2024). Unraveling the genetic potential of nitrous oxide reduction in wastewater treatment: insights from metagenome-assembled genomes. *Applied and environmental microbiology*, 90(9), e02177-23.
8. Sun, X., & Ward, B. B. (2021). Novel metagenome-assembled genomes involved in the nitrogen cycle from a Pacific oxygen minimum zone. *ISME communications*, 1(1), 26.
9. Zhou, Z., Tran, P. Q., Breister, A. M., Liu, Y., Kieft, K., Cowley, E. S., ... & Anantharaman, K. (2022). METABOLIC: high-throughput profiling of microbial genomes for functional traits, metabolism, biogeochemistry, and community-scale functional networks. *Microbiome*, 10(1), 33.
10. Zhuang, J. L., Sun, X., Zhao, W. Q., Zhang, X., Zhou, J. J., Ni, B. J., ... & Li, W. (2022). The anammox coupled partial-denitrification process in an integrated granular sludge and fixed-biofilm reactor developed for mainstream wastewater treatment: performance and community structure. *Water research*, 210, 117964.