УДК 597.556.15: 577.21

ЎЗБЕКИСТОН ИЧКИ СУВ ҲАВЗАЛАРИДА УЧРОВЧИ *GAMBUSIA* (TELEOSTEI: POECILIIDAE) УРУҒИ ВАКИЛЛАРИНИНГ ТАКСОНОМИК ҲОЛАТИ

Б.М. Шералиев

Ўтган асрнинг биринчи чорагида Ўзбекистонда безгак паразити ташувчиси бўлган чивин личинкаларига қарши кураш мақсадида Gambusia affinis holbrooki кенжа тури иқлимлаштирилган эди. Кейинчалик G. holbrooki алоҳида мустақил тур эканлиги маълум бўлди. Лекин шунга қарамай, адабиётларда Ўзбекистон сувларида Gambusia уруғининг икки тури (G. affinis ва G. holbrooki) учрайди деб берилади. Тадқиқотимиз натижасида эса Ўзбекистон ҳудудида улардан фақат G. holbrooki гина учраши маълум бўлди.

Калит сўзлар: *биологик қарши кураш, иқлимлаштириш, Gambusia, чучук сув балиқлари, ДНК баркодинг, BLAST.*

В первой четверти прошлого века в Узбекистане с целью борьбы с личинками комара, переносчика малярийного плазмодия, в водохранилищах была акклиматизирована Gambusia affinis holbrooki. Недавно G. holbrooki был признан отдельным валидным видом. Однако в литературе указывается, что в водоёмах Узбекистана встречаются два вида гамбузии (G. affinis и G. holbrooki). Но наше текущее исследование показало, что на территории Узбекистана встречается только G. holbrooki.

Ключевые слова: *биологический контроль, интродукция, Gambusia, пресноводная рыба, ДНК-штрихкодирование, BLAST.*

КИРИШ

Gambusia Poey, 1854 уруғи Poeciliidae оиласининг энг йирик уруғларидан бири бўлиб, айни вақтда ўз ичига 43 валид балиқ турларини қамраб олади [1]. Уруғ вакилларининг ўлчами кичик бўлиб (одатда стандарт узунлиги 60 мм дан кичик), табиий равишда Колумбиянинг шимолий ҳудудларидан то АҚШнинг марказий ва жануби-шарқий қисмигача бўлган ҳудудларда, шу билан бирга кўплаб Кариб денгизи оролларидаги сув ҳавзаларида тарқалган [2]. Уруғ вакиллари илмий нуқтаи назардан муҳим аҳамиятга эга бўлиб, улар биологиянинг турли соҳаларида, жумладан, умуртқали ҳайвонлардаги биологик ритмга жавобгар *clock* генларининг молекуляр эволюциясини ўрганишда [3], атроф-муҳит ифлосланишини аниқлашда биоиндикатор сифатида [4], модел организм сифатида турли физиологик жараёнларни тадқиқ этишда [5] фойдаланилади. Бундан ташқари, уруғ вакилларидан *G. affinis* ва *G. holbrooki* каби турлар дунёнинг кўплаб мамлакатларидаги сув ҳавзаларида безгак чивини личинкаларини қириш мақсадида иқлимлаштирилган [6].

Ўтган асрнинг 30-йилларида Шимолий Америкадан Марказий Осиё сув ҳавзаларига безгак чивинига қарши *G. holbrooki* тури олиб келинган [7]. Ушбу тур таксономик нуқтаи назардан дастлаб C.F.Girard томонидан АҚШнинг жанубий Королинадаги сув ҳавзаларидан тур мақомида кашф этилган [8]. Лекин кейинчалик қатор таксономик ишларда ушбу тур *G. affinis* нинг кенжа тури сифатида (*G. affinis holbrooki*) қайта малакаланган ҳолда тақдим этила бошланди [9, 10, 11]. Айрим муаллифлар эса унинг валидлигини сўроқ остига олди ва *G. affinis* нинг синоними сифатида қайд этди [12, 13]. Бироқ, шунга қарамасдан, сўнгги йилларда ўтказилган қатор морфометрик ва молекуляр тадқиқотлар мазкур икки тур бир-биридан алоҳида мустақил валид тур эканлигини кўрсатди [14, 15, 16].

Қатор адабиётларда Марказий Осиё сув ҳавзаларига иқлимлаштирилган вақтда *G. holbrooki* кенжа тур мақомида бўлгани кўрсатилади [9, 17]. Лекин кейинчалик турли адабиётларда Марказий Осиё сув ҳавзаларида *Gambusia* уруғи вакилларининг ҳар икки –

G. affinis ва *G. holbrooki* турлари мавжудлиги ҳақидаги маълумотлар учрай бошлади, бу ҳатто халқаро FishBase балиқлар каталогида ҳам акс этди [18]. Айрим муаллифлар эса Ўзбекистон ҳудудидан топилган ушбу икки турнинг морфометрик фарқлари тўғрисидаги натижаларини чоп эттиришди [19]. Молекуляр тадқиқотлар *G. holbrooki* нинг валидлиги борасидаги барча шубҳаларни тарқатиб юборган экан, ушбу метод ёрдамида аслида Ўзбекистон сув ҳавзаларида *Gambusia* уруғининг нечта тури борлиги ҳақидаги саволларга узилкесил жавоб бериш имкони мавжуд. Бизнинг яқинда чоп этилган Ўзбекистон балиқларининг молекуляр хилмахиллигига асосланган тадқиқотимизда сув ҳавзаларимизда *Gambusia* уруғининг фақатгина бир тури – *G. holbrooki* учраши қайд этиб ўтилган эди [20].

Мазкур мақолада юқоридаги масалага батафсил тўхталиш, мамлакатимизнинг турли ички сув ҳавзаларидан йиғилган *Gambusia* намуналари асосида “Ўзбекистон сув ҳавзаларида *Gambusia* уруғининг нечта тури мавжуд?” деган саволга аниқ жавоб бериш мақсад қилинди.

МАТЕРИАЛ ВА УСУЛЛАР

Тадқиқот давомида мамлакатимиз сув ҳавзаларининг 12 та нуқтасидан 40 дан ортиқ *Gambusia* намуналари 2018–2019 йиллар давомида йиғилди (1-жадвал, 1-расм). Балиқ намуналарини тутишда Америка ихтиолог ва герпетологлар жамияти (ASIH) томонидан ишлаб чиқилган “Тадқиқотларда балиқлардан фойдаланиш бўйича кўрсатмалар”дан (2013) (5-бўлим) фойдаланилди.

1-жадвал

***Gambusia* намуналари йиғилган сув ҳавзаси, ҳудуд, географик координаталар, сана ва GenBank рақами**

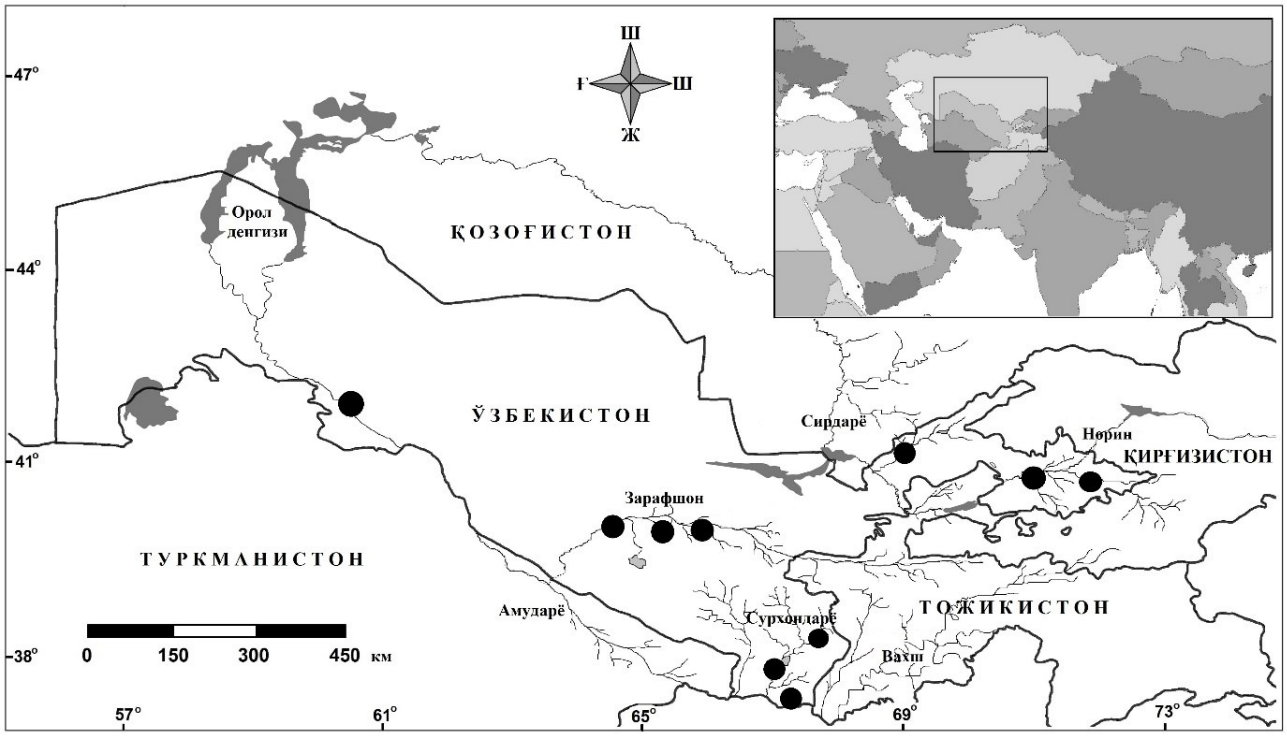
№	Сув ҳавзаси	Ҳудуд	Географик координаталар	Намуна йиғилган сана	GenBank рақами
1.	Сирдарё ҳавзаси, Катта Фарғона канали	Фарғона вилояти, Олтиариқ тумани	40.396753N, 71.407328E	25/01/2018	MW649662
2.	Зарафшон дарёси	Навоий вилояти, Конимех тумани	40.146944N, 64.891666E	16/07/2018	MW649666
3.	Амударё ҳавзаси, Сурхондарё дарёси	Сурхондарё вилояти, Термиз тумани	37.255833N, 67.338611E	19/07/2019	MW649668
4.	Амударё ҳавзаси, Сурхондарё дарёси	Сурхондарё вилояти, Термиз тумани	37.238888N, 67.329722E	21/07/2019	MW649670
5.	Амударё ҳавзаси, Қоратоғ дарёси	Сурхондарё вилояти, Узун тумани	38.363055N, 68.072059E	22/07/2019	MW649675
6.	Сурхондарё дарёси, Жанубий Сурхон сувомбори	Сурхондарё вилояти, Қумқўрғон тумани	37.823333N, 67.618611E	24/07/2019	MW649678
7.	Зарафшон ҳавзаси, Эчкиликсой сойи	Бухоро вилояти, Вобкент тумани	40.267551N, 64.743333E	27/07/2019	MW649682
8.	Зарафшон дарёси	Навоий вилояти, Қизилтепа тумани	40.071012N, 64.778429E	28/07/2019	MW649687
9.	Зарафшон дарёси	Самарқанд вилояти, Жомбой тумани	39.676388N, 67.076111E	02/08/2019	MW649689
10.	Сирдарё ҳавзаси, Қорадарё дарёси	Андижон вилояти, Балиқчи тумани	40.918813N, 71.828896E	09/08/2019	MW649695
11.	Сирдарё ҳавзаси, Чирчиқ дарёси	Тошкент вилояти, Қибрай тумани	41.274444N, 69.389166E	18/08/2019	MW649699
12.	Амударё ҳавзаси, номсиз канал	Хоразм вилояти, Урганч тумани	41.521638N, 60.566111E	21/08/2019	MW649703

Намуналар тутилиши биланоқ молекуляр текшириш мақсадида 95–99% ли этил спирт билан фиксация қилинди. Намуналар бугунги кунда Хитойдаги Жанубий-ғарбий университет Табиий фанлар факультети Балиқлар хилмахиллиги ва эволюцияси лабораториясида сақланмоқда.

ДНК экстракцияси балиқнинг сузгич қанотларидан эритувчи К-протеиназа қўллаган ҳолда стандарт фенол-хлороформ услубида амалга оширилди. Митохондриал цитохром оксидаза I (COI) генининг ПЗР амплификацияси учун R.D.Ward ва унинг ҳаммуаллифлари [21] томонидан таклиф қилинган FishF2-TCG ACT AAT CAT AAA GAT ATC GGC AC ва FishR2-ACT TCA GGG TGA CCG AAG AAT CAG AA универсал праймерлардан фойдаланилди.

ПЗР маҳсулотлари 10–100 нг ДНК намунаси, ҳар бир праймердан 1 µл, 12,5 µл Taq Master Mix (Novoprotein, Гуангдонг, Хитой) ва ddH_2O дан иборат, жами 25 µл ни ташкил этди. ПЗР даги термал циклик жараёнлар кетма-кетлиги қуйидагича бўлди: дастлаб 3 мин. 94 °C; шундан сўнг жами 35 циклда 0,5 мин. 94 °C, 45 сек. 54 °C ва 1 мин. 10 сек. 72 °C ҳамда якуний жараён 7 мин. 72 °C давом этди. ПЗР якунидаги натижа секвенслаш учун TsingKe Biological Technology Co., Ltd. (Чунцин, Хитой)га юборилди.

Тадқиқот давомида секвенс қилинган 12 та намунанинг COI гени нуклеотидлар кетма-кетлиги BLAST онлайн молекуляр аниқлагичи ёрдамида текшириб кўрилди (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Филогенетик дарахтни шакллантириш жараёнида, бевосита тадқиқотда олинган COI гени нуклеотидлар кетма-кетлиги билан биргаликда NCBI халқаро базасида сақланувчи бошқа *Gambusia* турларининг ген маълумотларидан ҳам фойдаланилди (2-жадвал). *Brachyrhaphis rhabdophora* (MG496106) ва *Belonesox belizanus* (MG496098) ташқи гуруҳ сифатида танланди.



1-расм. Тадқиқот давомида Ўзбекистоннинг турли сув ҳавзаларидан *Gambusia* намуналари олинган нуқталар.

Жамланган COI гени нуклеотидлар кетма-кетлиги Clastal_W алгоритми асосида MEGA7 [22] дастурида текисланди. Текисланган нуклеотидлар кетма-кетлигидаги камчиликлар SeaView дастурида таҳрирланди. Турларнинг ўзаро генетик масофаси – Kimura-2-parameter (K2P) кўрсаткичи ҳам MEGA7 дастури орқали ҳисобланди. Филогенетик дарахт қуриш учун Байес хулосаси (Bayesian Inference [BI]) ҳамда максимал эҳтимоллилик (Maximum Likelihood

[ML]) методларидан фойдаланилди. BI усулидаги филогенетик дарахт қуриш MrBayes 3.2 [23] дастури ёрдамида, ML услубидагиси эса MEGA7 дастурида яратилди. Филогенетик дарахт қуришнинг ҳар иккала услубида ҳам 'General Time Reversible' модели ҳамда 'Gamma distributed' билан 'Invariant sites' кўрсаткичлари (GTR+G+I) қўлланилди. Яратилган филогенетик дарахтлар FigTree 1.4.2 дастури ёрдамида таҳрирланди.

2-жадвал

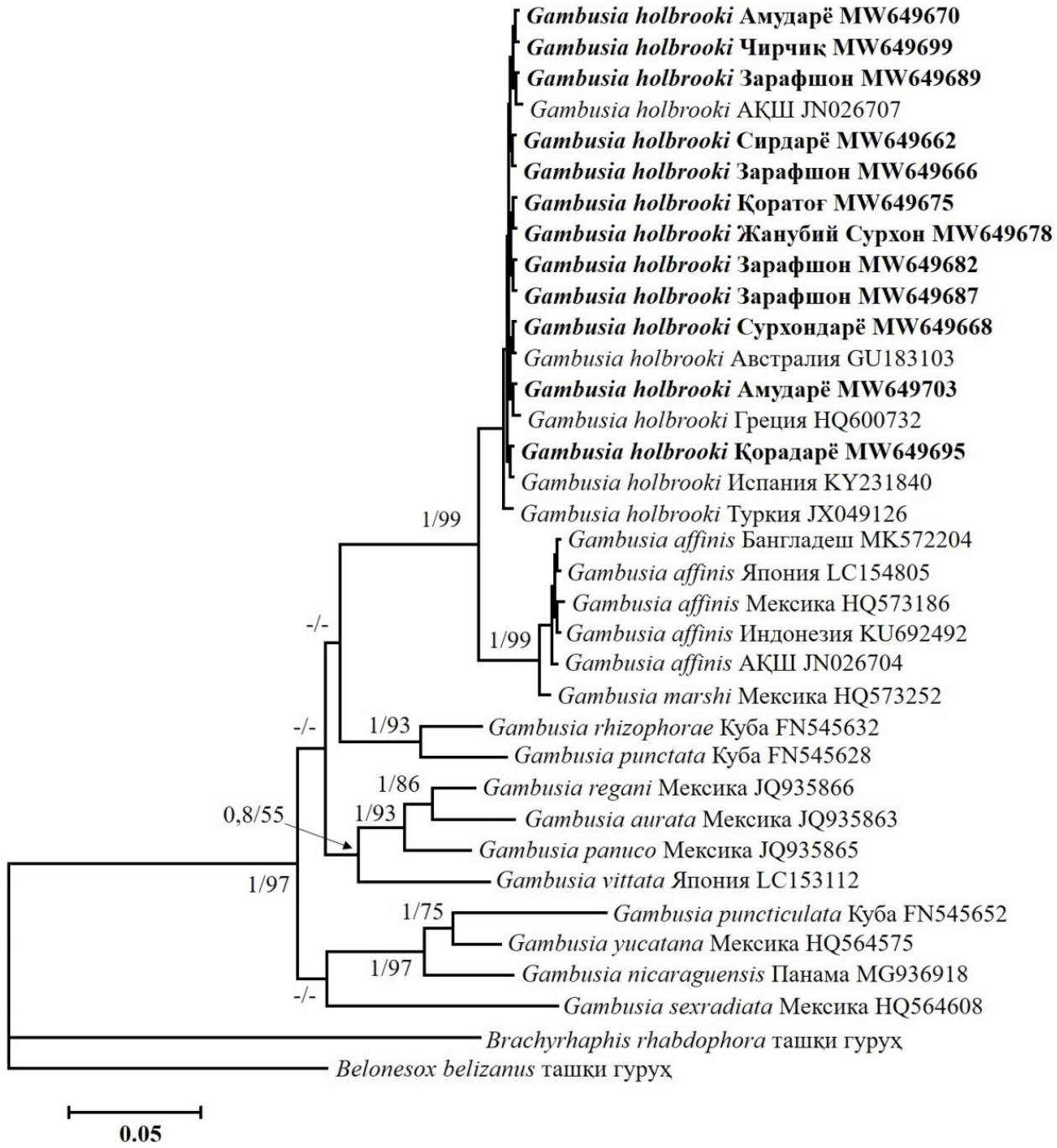
NCBI дан юклаб олинган *Gambusia* турларининг *COI* нуклеотидлар кетма-кетлиги рўйхати

Т/р	Тур номи	Ҳудуд	GenBank рақами	Т/р	Тур номи	Ҳудуд	GenBank рақами
1.	*G. affinis*	Бангладеш	MK572204	12.	*G. marshi*	Мексика	HQ573252
2.	*G. affinis*	Япония	LC154805	13.	*G. nicaraguensis*	Панама	MG936918
3.	*G. affinis*	Мексика	HQ573186	14.	*G. panuco*	Мексика	JQ935865
4.	*G. affinis*	Индонезия	KU692492	15.	*G. punctata*	Куба	FN545628
5.	*G. affinis*	АҚШ	JN026704	16.	*G. punticulata*	Куба	FN545652
6.	*G. aurata*	Мексика	JQ935863	17.	*G. regani*	Мексика	JQ935866
7.	*G. holbrooki*	АҚШ	JN026707	18.	*G. rhizophorae*	Куба	FN545632
8.	*G. holbrooki*	Австралия	GU183103	19.	*G. sexradiata*	Мексика	HQ564608
9.	*G. holbrooki*	Греция	HQ600732	20.	*G. vittata*	Япония	LC153112
10.	*G. holbrooki*	Испания	KY231840	21.	*G. yucatana*	Мексика	HQ564574
11.	*G. holbrooki*	Туркия	JX049126				

НАТИЖАЛАР

Ўзбекистон ички сув ҳавзаларидан йиғилган *Gambusia* уруғи вакилларининг 12 тасидан COI ген нуклеотидлар кетма-кетлиги ажратиб олинди. Ушбу нуклеотидлар кетма-кетлиги BLAST дастури орқали текширилганда, уларни NCBI базасидаги намуналар билан солиштириш натижаси *G. holbrooki* билан 99,85–100,00 % ни ташкил этди.

Ушбу намуналар ҳамда NCBI базасида мавжуд 13 турдаги *Gambusia* турларининг биргаликдаги филогенетик дарахти тузилди. Бунда Ўзбекистон ички сув ҳавзаларидан йиғилган барча *Gambusia* намуналари АҚШ, Австралия, Греция, Испания ва Туркия ҳудудларидаги сув ҳавзаларида учровчи *G. holbrooki* билан бир шохдан жой олди (2-расм).



2-расм. Ўзбекистон сув ҳавзаларидан йиғилган *Gambusia* намуналари ва бошқа *Gambusia* уруғи вакилларининг BI ҳамда ML методи асосида яратилган филогенетик дарахти.

Ушбу барча 17 та *G. holbrooki* намуналарининг ўзаро генетик масофаси (K2P) 0,1 % дан ошмади. Шу билан бирга, *G. holbrooki* бизнинг филогенетик дарахтда *G. affinis* ҳамда *G. marshi* га қўшни тур эканлиги маълум бўлди. *Gambusia holbrooki* ва унинг қўшни турлар билан ўзаро генетик масофаси мос равишда 3,0–3,1 % ва 2,8–2,9 % ни ташкил этди (3-жадвал). Бошқа *Gambusia* турлари билан ўзаро генетик масофаси эса 8,1–12,1 % ни ташкил этди.

3-жадвал

Ўзбекистон сув ҳавзаларидан йиғилган *G. holbrooki* (*) ҳамда бошқа *Gambusia* турларининг ўзаро ўртача K2P генетик масофаси

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	*G. affinis*													
2	*G. aurata*	10.5												
3	*G. holbrooki*	3.0	9.8											
4	*G. holbrooki* *	3.1	9.9	**0.1**										
5	*G. marshi*	0.7	10.3	2.8	2.9									
6	*G. nicaraguensis*	10.8	11.8	10.9	11.1	11.1								
7	*G. panuco*	9.6	5.3	8.4	8.6	9.5	11.2							
8	*G. punctata*	10.5	9.6	10.2	10.3	10.7	10.5	8.8						
9	*G. punticulata*	13.6	12.7	12.7	12.9	13.9	8.4	12.1	12.9					
10	*G. regani*	9.1	4.4	8.0	8.2	8.9	10.1	4.4	9.0	12.3				
11	*G. rhizophorae*	9.4	9.9	9.4	9.5	9.5	8.8	9.4	4.9	12.3	9.3			
12	*G. sexradiata*	13.2	13.3	12.1	12.1	13.0	11.3	11.7	11.3	13.0	11.9	11.1		
13	*G. vittata*	10.6	8.0	10.4	10.6	10.5	10.7	8.4	10.5	11.7	7.7	8.0	12.5	
14	*G. yucatana*	11.9	11.8	11.4	11.5	12.1	5.7	10.6	10.1	6.9	9.4	9.8	11.5	10.6

МУҲОКАМА

Ўтган асрнинг 20-йилларидан бошлаб Европа мамлакатларига безгак паразити тарқатувчисининг личинкаларини биологик назорат қилиш мақсадида минтақа сув ҳавзаларига Шимолий Америкадан *Gambusia affinis* ва *G. holbrooki* вакилларини иқлимлаштириш йўлга қўйилди [24]. Ушбу икки тур кўп жиҳатдан бир-бирига яқин бўлганлиги боис уларнинг таксономиясида узоқ йиллар давомида чалкашликлар кузатилган. Бироқ, 1988 йилда АҚШнинг жануби-шарқий қисмидаги 19 та дарё ҳавзасининг 76 нуқтасидан йиғилган намуналар асосида ўтказилган тадқиқотда *G. affinis* ва *G. holbrooki* нинг бир-биридан алоҳида тур эканлиги аниқланади [25]. Ушбу икки турнинг ўзаро солиштирма морфологик ва молекуляр-генетик фарқларига бағишланган қатор тадқиқотлар мавжуд [24, 25, 26, 27].

Ушбу икки тур балиқлар ичидаги энг инвазив турлар ҳисобланиб, маҳаллий амфибия ва балиқ турлари сонининг камайишига, баъзан эса маҳаллий даражада тамоман қирилиб кетишига сабаб бўлмоқда [28]. Мазкур икки турнинг аввал бошда таксономик жиҳатдан ўзаро кенжа тур бўлгани, баъзида эса синоним сифатида кўрилгани сабабидан, айни вақтда уларнинг қанча давлат ҳудудига тарқалиб иқлимлашгани борасида маълумотлар аниқ эмас [24].

Тадқиқот давомида мамлакатимиздаги турли сув ҳавзаларининг 12 та нуқтасидан йиғилган *Gambusia* намуналарининг барчаси ўзаро бир турга мансуб эканлиги ойдинлашди (2-расм). Ушбу намуналарнинг барчаси бошқа давлатларда аниқланган *G. holbrooki* билан филогенетик дарахтда бир кладада жойлашди. Шу билан бирга, аввалги бир қатор тадқиқот натижаларига мос равишда ушбу тадқиқотдаги филогенетик таҳлилда *G. holbrooki* нинг *G. affinis* га қўшни тур эканлиги маълум бўлди [29, 30]. Икки тур орасидаги генетик масофа 2,0 % дан юқори бўлиб (3,0–3,1%), балиқ турларининг ўзаро генетик фарқлари акс этган бошқа бир қатор тадқиқот натижаларига тўла мос келади [20, 21].

Fishbase маълумотларига кўра, айни вақтда *G. holbrooki* Европа, Осиё ҳамда Африкадаги 35 га яқин давлат ҳудудида қайд қилинган [18]. Яқинда чоп этилган бир тадқиқотда Чирчиқ дарёсида учрайдиган *G. affinis* ва *G. holbrooki* нинг морфометрик кўрсаткичлари ҳақида сўз боради [19]. Иккала турнинг меристик кўрсаткичлари орасидаги фарқлар жадвал асосида таҳлил қилинади. Унга кўра, *G. holbrooki* нинг орқа сузгич қанотларида 8 та, *G. affinis* да эса 7 та шулалар мавжудлиги кўрсатилади. Бошқа бир қатор адабиётларда ҳам ушбу икки турнинг орқа қанот сузгичлари-

даги шулалар сони айни юқоридагидек фарқ қилиши қайд қилинган [24]. Бироқ Хитойда ўтказилган тадқиқотлар давомида у ерда иқлимлаштирилган *Gambusia* уруғининг барча популяцияси фақат *G. affinis* эканлиги аниқланган [30], шу билан бирга, Ченгду провинциясидаги *G. affinis* популяциялари орасида орқа сузгич қанотида 8 та шуласи мавжуд намуналар ҳам борлиги қайд этилган [30]. Ушбу икки тур анал сузгич қанотларидаги шулалар сони билан ҳам фарқланади. *Gambusia holbrooki* да бу сон 11 га, *G. affinis* да эса 10 га тенг [30]. Чирчиқ популяцияси таҳлил қилинганда урғочи *G. affinis* вакилларининг анал сузгич қанотларида 11 та шула мавжудлиги қайд этилган [19]. Бундан аввалги тадқиқотимиз давомида Чирчиқ дарёсидан тутилган *Gambusia* намуналарининг барчаси *G. holbrooki* эканлиги аниқланган эди [20]. Фикримизча, Чирчиқ дарёсидан қайд этилган *G. affinis* намуналари янглиш идентификация қилинган. Ушбу ҳолатни келажакда Чирчиқ дарёсининг бир неча ўн нуқталаридан тутилган *Gambusia* намуналарини молекуляр-генетик асосда текшириш билан ҳал этиш мумкин.

ХУЛОСАЛАР

Юқорида келтирилганлар асосида айтиш мумкинки, *G. holbrooki* – мустақил валид турдир. Марказий Осиё, жумладан, Ўзбекистон сув ҳавзаларида *Gambusia* уруғининг битта – *G. holbrooki* тури учрайди. Ушбу тур минтақадаги ягона тирик туғувчи балиқ тури бўлиб, ўтган салкам бир асрлик вақт давомида барча сув ҳавзаларида кенг тарқалди. Уни Ўзбекистонда юқори тоғ ҳудудларидаги сув ҳавзаларидан ташқари барча текислик сув ҳавзалари, дарё, сой, кўл ва бошқа кўплаб ҳавзаларда учратиш мумкин. *Gambusia holbrooki* безгак паразитига биологик қарши курашда қўлланилган балиқ тури бўлиб, унинг иқлимлаштирилиши безгак паразитининг асосий тарқатувчиси бўлган безгак чивини личинкаларининг кескин камайишига сабаб бўлди. Бугунги кунда ушбу балиқ турининг ўлкамиз сув ҳавзаларидаги биологияси, бошқа маҳаллий турлар билан ўзаро муносабатлари деярли ўрганилмаган. Унинг биологияси, экологияси, бошқа маҳаллий балиқ турлари билан озуқа, жой каби ресурслар учун курашдаги рақобатини ўрганиш минтақа сув ҳавзалари ихтиофаунасини чуқурроқ англаш ва балиқ турларини муҳофаза қилишнинг илмий асосланган чора-тадбирларини ишлаб чиқишда муҳим қадам бўлади.

Ушбу тадқиқот давомида Ўзбекистоннинг турли сув ҳавзаларидан Gambusia holbrooki намуналарини йиғишда бизга яқиндан ёрдам берган Элбек Жалолов (Бухоро давлат университети), Сирожиддин Аллаяров (Термиз давлат университети) ҳамда Акбаржон Рўзимов (Ўзбекистон Миллий университети)ларга самимий миннатдорчилигимизни билдирамиз.

TAXONOMIC ASSESSMENT OF THE MEMBERS OF THE GENUS *GAMBUSIA* (TELEOSTEI: POECILIIDAE) FROM INLAND WATERS OF UZBEKISTAN

Bakhtiyor M. Sheraliev[1]

Ilmiy xabarnoma. Seriya: Biologik tadqiqotlar – Scientific Bulletin. Series: Biological Research. 2022. 4(64). 72-80.

[1]School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing, 400715, Beibei District, Tiansheng Road, 2 (China). E-mail: guojixy@swu.edu.cn

Keywords: biological control, acclimatization, *Gambusia*, freshwater fish, DNA barcoding, BLAST.

The genus *Gambusia* Poey, 1854 is the most speciose genus in the family Poeciliidae, including 43 valid described. They are small fishes (typically <60 mm standard length), distributed from northern Colombia to the central and south-eastern U.S.A., and across numerous Caribbean Islands.

Gambusia holbrooki was introduced from North America to Central Asian waters in the 1930s to con-

trol mosquito populations. This species has long been considered a subspecies or sometimes synonym of *G. affinis*. A number of kinds of literature indicate that *G. holbrooki* was a subspecies when it was introduced to Central Asian watersheds. For the first time, Wooten et al. (1988) justified that they are two separate valid species. After that, several studies highlighted that both species of *Gambusia* are found in inland waters of Uzbekistan. The current study aims to answer the question of how many species of *Gambusia* actually exist in the watersheds of Uzbekistan.

For this purpose, 12 sampling sites were identified in various water bodies of Uzbekistan, and more than 40 samples were collected there. DNA was extracted from 12 samples and the COI gene was amplified for molecular identification. For our analysis, 21 COI sequences encompassing 13 species of *Gambusia* were added from NCBI to our 12 samples for a final data set. *Brachyrhaphis rhabdophora* and *Belonesox belizanus* were selected as outgroups. For phylogenetic reconstructions, the datasets were analysed based on Bayesian inference (BI) methodology using MrBayes 3.2 and the maximum likelihood (ML) method of MEGA7. The phylogenetic trees were visualised and edited using FigTree 1.4.2.

All specimens of *Gambusia holbrooki* from the waters of Uzbekistan, join *G. holbrooki* from the various rivers in the U.S.A., Australia, Greece, Spain and Turkey to form one branch with high support. The most closely related species to *G. holbrooki* are *G. affinis* and *G. marshi* with high support, concordant with previous studies (K2P distances are 3.0%–3.1% and 2.8%–2.9%, respectively). The genetic distance from remain *Gambusia* species was 8.1–12.1%.

Gambusia affinis and *G. holbrooki* are considered among the most invasive fish, with well-known consequences of the decline and local extinction of native amphibians and fish. Due to the taxonomic confusion of *G. affinis* and *G. holbrooki*, the worldwide distribution of the two species is still largely unclear. According to FishBase, currently *G. holbrooki* has been recorded in about 35 countries in Europe, Asia and Africa. During this study, it became clear that all Gambusia samples collected from 12 sampling sites of Uzbekistan's watersheds belong to the same species. All of these specimens were nested in the same clade in a phylogenetic tree with G. holbrooki found in other countries. Furthermore, the genetic distance between the *G. holbrooki* and *G. affinis* based on COI markers (3.0%–3.1%) is concordant with species-level divergence in other fish taxa. Based on the above, it can be said that *G. holbrooki* is a separate valid species. Only single species of *Gambusia* - *G. holbrooki* occurs in the water basins of Central Asia, including Uzbekistan.

References:

1. Fricke, R., Eschmeyer, W.N., Van der Laan, R. (eds) (2022). *Eschmeyer's Catalog of Fishes: genera, species, references.* [Online]. URL: http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp (Electronic version accessed 04 January 2022).

2. Reznick, D.N., Furness, A.I., Meredith, R.W., Springer, M.S. (2017). The origin and biogeographic diversification of fishes in the family Poeciliidae. *PLOS ONE*. 12(3). e0172546.

3. Mao, Y., Shao, F., Zhao, Q., Peng, Z. (2021). Molecular Evolution of clock Genes in Vertebrates. *Journal of Molecular Evolution*. 89. Pp. 494–512.

4. Rautenberg, G.E., Amé, M.V., Monferrán, M.V., Bonansea, R.I., Hued, A.C. (2015). A multi-level approach using *Gambusia affinis* as a bioindicator of environmental pollution in the middle-lower basin of Suquía River. *Ecological Indicators*. 48. Pp. 706–720.

5. Brockmeier, E.K., Scott, P.D., Denslow, N.D., Leusch, F.D.L. (2016). Transcriptomic and physiological changes in Eastern Mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) after exposure to progestins and anti-progestagens. *Aquatic Toxicology*. 179. Pp. 8–17.

6. Walton, W.E. (2007). Larvivorous fish including gambusia. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 23(sp2). Pp. 184–220.

7. Mirabdullaev, I.M., Mullabaev, N.R. (2020). Ihtiofauna Uzbekistana: taksonomicheskij sostav i sovremennoe sostoyanie [Ichthyofauna of Uzbekistan: modern state and taxonomy]. *Uzbekskij biologicheskij zhurnal*. 5. Pp. 43–49.

8. Girard, C.F. (1859). Ichthyological notices. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*. 11. Pp. 56–68.

9. Mitrofanov, V.P., Dukraves, G.M., Sudorova, A.F. (1992). *Ryby Kazahstana*. Tom 5. [Fishes of Kazakhstan. Volume 5]. Almaty: Gylym.

10. La Rivers, I. (1994). *Fishes and fisheries of Nevada*. Nevada: University of Nevada Press.

11. Seegers, L., De Vos, L.D.G., Okeyo, D.O. (2003). Annotated checklist of the freshwater fishes of Kenya (excluding the lacustrine haplochromines from Lake Victoria). *Journal of East African Natural History*. 92. Pp. 11–47.

12. Bogustkaya, N.G., Naseka, A.M. (2004). *Katalog beschelyustnyh i ryb presnyh i solonovatyh vod Rossii s nomenklaturnymi i taksonomicheskimi kommentariyami*. [Catalogue of Agnathans and Fishes of Fresh and Brackish Waters of Russia with comments on nomenclature and taxonomy]. Moscow: Rossijskaya akademiya nauk.

13. Miller, R.R. (2006). *Freshwater fishes of México*. Chicago: University of Chicago Press.

14. Doadrio, I., Carmona, J.A., Fernández-Delgado, C. (2002). Morphometric study of the Iberian *Aphanius* (Actinopterygii, Cyprinodontiformes), with description of a new species. *Folia Zoologica: international journal of vertebrate zoology*. 51(1). Pp. 67–79.

15. Huber, J.H. (2019). A nomenclatural and systematic analysis of livebearing Cyprinodontiformes (Acanthopterygii: Anablepsinae, Goodeinae, Poeciliidae). *Killi-Data Series*. Pp. 4–155.

16. Kaya, C., Bayçelebi, E., Turan, D. (2020). Taxonomic assessment and distribution of fishes in upper Kura and Aras River drainages. *Zoosystematics and Evolution*. 96(2). Pp. 325–344.

17. Berg L.S. (1949). *Ryby presnyh vod SSSR i sopredel'nyh stran. Tom 3.* [Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries. Volume 3]. Moscow-Leningrad: Izdatelstvo Akademii nauk SSSR.

18. Froese, R., Pauly, D. Editors. (2021). *FishBase. World Wide Web electronic publication*. www.fishbase.org, version (08/2021)

19. Quvatov, A. (2021). Morfometricheskie priznaki *Gambusia holbrooki* i *Gambusia affinis* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) obitayushchie v reke Chirchik [Morphometric characteristics of *Gambusia holbrooki* and *Gambusia affinis* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) living in the Chirchik River]. *Uzbekskij biologicheskij zhurnal*. 2. Pp. 62–78.

20. Sheraliev, B., Peng, Z. (2021). Molecular diversity of Uzbekistan's fishes assessed with DNA barcoding. *Scientific Reports*. 11(1). e16894.

21. Ward, R.D., Zemlac, T.C., Innes, B.H., Last, P.R., Hebert, P.D.N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 360. Pp. 1847–1857.

22. Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33(7). Pp. 1870–1874.

23. Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu L., Huelsenbeck, J.P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. 61(3). Pp. 539–542.

24. Pyke G.H. (2005). A Review of the Biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 15(4). Pp. 339–365.

25. Wooten, M.C., Scribner, K.T., Smith, M.H. (1988). Genetic variability and systematics of Gambusia in the southeastern United States. *Copeia*. 2. Pp. 283–289.

26. Gao, J., Santi, F., Zhou, L., Wang, X., Riesch, R., Plath, M. (2019). Geographical and temporal variation of multiple paternity in invasive mosquitofish (*Gambusia holbrooki*, *Gambusia affinis*). *Molecular Ecology*. 28(24). Pp. 5315–5329.

27. Theodorakis, C.W., Bickham, J.W., Elbl, T., Shugart, L.R., Chesser, R.K. (1998). Genetics of radionuclide-contaminated mosquitofish populations and homology between *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 17(10). Pp. 1992–1998.

28. Alcaraz, C., Bisazza, A., Garcı´a-Berthou, E. (2008). Salinity mediates the competitive interactions between invasive mosquitofish and an endangered fish. *Oecologia*. 155. Pp. 205–213.

29. Vidal, O., García-Berthou, E., Tedesco, P.A., García-Marín, J.-L. (2010). Origin and genetic diversity of mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) introduced to Europe. *Biological Invasions*. 12(4). Pp. 841–851.

30. Gao, J., Ouyang, X., Chen, B., Jourdan, J., Plath, M. (2017). Molecular and morphometric evidence for the widespread introduction of Western mosquitofish *Gambusia affinis* (Baird and Girard, 1853) into freshwaters of mainland China. *BioInvasions Records*. 6(2). Pp. 281–289.

Муаллиф ҳақида маълумот

Шералиев Бахтиёр Маҳмутали ўғли – PhD, Хитой, Чунцин, Жанубий-ғарбий университет, Табиий фанлар факультети Балиқлар хилмахиллиги ва эволюцияси лабораторияси постдок тадқиқотчиси. E-mail: bsheraliev@swu.edu.cn