UDK: 597.555.1 **DOI: 10.56292/SJFSU/vol29_iss4/a88**

*COTTUS SPINULOSUS*KESSLER, 1872 (TELEOSTEI: COTTIDAE) POPULYATSIYALARI ORASIDAGI GENETIK FARQLANISH

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ *COTTUS SPINULOSUS*KESSLER, 1872 (TELEOSTEI: COTTIDAE)

GENETIC DIFFERENTIATION AMONG POPULATIONS OF *COTTUS SPINULOSUS*KESSLER, 1872 (TELEOSTEI: COTTIDAE)

Sheraliyev Baxtiyor Maxmutali o‘g‘li[1], Urmonova Dilafruz Erkinjonovna[2], Azamov Obbosxon Sobitjon o‘g‘li[3]

[1]Sheraliyev Baxtiyor Maxmutali o‘g‘li – Farg‘ona davlat universiteti Zoologiya va umumiy biologiya kafedrasi mudiri, b.f.f.d. (PhD)

[2]Urmonova Dilafruz Erkinjonovna – Farg‘ona davlat universiteti Zoologiya va umumiy biologiya kafedrasi o‘qituvchisi

[3]Azamov Obbosxon Sobitjon o‘g‘li – Farg‘ona davlat universiteti Ixtiologiya ixtisosligi 1-bosqich tayanch doktoranti

Annotatsiya

Markaziy Osiyo suv havzalarida Cottus urug‘ining uch turi (Cottus jaxartensis, Cottus nudus va Cottus spinulosus) qayd etilgan. Farg‘ona vodiysida ushbu turlarning faqat bittasi – Cottus spinulosus uchraydi. Qoradaryo, Marg‘ilonsoy hamda So‘x daryolarida ushbu turning uchta populyatsiyasi qayd etildi. Mazkur populyatsiyalar mitoxondrial COI barkod geni asosida molekulyar-genetik tahlil etilganda, ular filogenetik shajara daraxtida alohida kladalarda joylashgani ma’lum bo‘ldi. Populyatsiyalar orasidagi genetik masofa (K2P) 0,62-0,93% oraliqda bo‘ldi.

Аннотация

В водоемах Центральной Азии отмечены три вида рода Cottus (Cottus jaxartensis, Cottus nudus и Cottus spinulosus). В Ферганской долине встречается только один из этих видов — Cottus spinulosus. Три популяции этого вида отмечены в реках Карадарья, Маргилонсой и Сох. Когда эти популяции были проанализированы на основе митохондриального гена штрих-кода COI, выяснилось, что они расположены в отдельных кладах филогенетического генеалогического древа. Генетическая дистанция между популяциями (K2P) находилась в пределах 0,62-0,93%..

Abstract

Three species of the genus Cottus (Cottus jaxartensis, Cottus nudus and Cottus spinulosus) have been recorded in the water bodies of Central Asia. Only one of these species - Cottus spinulosus - is found in the Fergana Valley. Three populations of this species were recorded in the Karadarya, Margilonsoy and Sokh rivers. When these populations were analyzed based on the mitochondrial COI barcode gene, it was revealed that they are located in separate clades in the phylogenetic family tree. Genetic distance between populations (K2P) was in the range of 0.62-0.93%.

Kalit so‘zlar: *chuchuk suv baliqlari, Farg‘ona vodiysi, molekulyar-genetik tahlil, toshbuqa, genetik masofa.*

Ключевые слова: *пресноводные рыбы, Ферганская долина, молекулярно-генетический анализ, подкаменщик, генетическая дистанция.*

Key words: *freshwater fishes, Fergana Valley, molecular-genetic analysis, sculpins, genetic distance.*

KIRISH

Cottidae Bonaparte, 1831 oilasi olabug‘asimonlar turkumining butun Yer yuzi bo‘ylab keng diapazonda tarqalgan vakillari bo‘lib, ularning bugungi kunda 18 urug‘ga mansub 203 turi aniqlangan (Fricke *et al.*, 2023). Ushbu oila vakillarining O‘zbekiston suv havzalarida faqatgina *Cottus* Linnaeus, 1758 urug‘i vakillari uchraydi. Ushbu urug‘ning ayni vaqtda 69 turi mavjud bo‘lib

(Fricke *et al*., 2023), ularning uch turi Markaziy Osiyo suv havzalaridan qayd etilgan. Bular – *Cottus jaxartensis* Berg, 1916 (Chirchiq daryosi havzasi: Ugom daryosi [Qozog‘iston va O‘zbekiston]), *Cottus nudus* Sideleva, 2021 (Aris daryosi havzasi: Mashat daryosi [Qozog‘iston]) va *Cottus spinulosus* Kessler, 1872 (Sirdaryo havzasining juda ko‘plab daryolari [Qozog‘izton, Qirg‘iziston va O‘zbekiston]). Farg‘ona vodiysidan kashf etilgan *Cottus nasalis* Berg, 1933 morfologik tahlil natijalariga ko‘ra *Cottus jaxartensis* ning sinonimi ekanligi ma’lum bo‘lgan (Sideleva, 2021). Boshqa tomondan Qozog‘istonning Aris daryosi havzasidan 2021-yilda kashf etilgan *Cottus nudus* Baykal havzasidan qayd qilingan *Cottus kessleri nudus* Dybowski, 1908 sabab homonim hisoblanadi va Xalqaro zoologik nomenklatura kodeksiga ko‘ra valid hisoblanmaydi. Shu bois ham ayni vaqtda Markaziy Osiyo suv havzalaridagi Cottus urug‘ining valid turlarini ikkita deb qarash mumkin.

V.Sideleva (2021) tomonidan olib borilgan tadqiqotlar davomida *Cottus jaxartensis* hamda *Cottus spinulosus* ning morfometrik hamda meristik ko‘rsatkichlari o‘zaro kesishishi (overlap) kuzatilgan. Shu bois ham ularni morfometrik yoki meristik ko‘rsatkichlariga ko‘ra farqlash biroz mushkul. Biroq ularni morfologik jihatdan farqlash mumkin. *Cottus jaxartensis* o‘zining eng yaqin urug‘doshi *Cottus spinulosus* dan tanasidagi mayda bo‘rtiqchalarning (spickles) faqatgina ko‘krak suzgich qanotining ostki qismida bo‘lishi (vs. tanasining barcha qismida va boshida), interorbital masofaning torligi, odatda ko‘zning gorizontal uzunligidan qisqa bo‘lishi (vs. interorbital masofa keng, odatda ko‘zning gorizontal uzunligidan katta), qorin suzgich qanoti uzun va anal teshigiga yetishi (vs. qorin suzgich qanoti kalta va anal teshigiga yetmaydi) bilan farqlanadi (Sideleva, 2021).

Cottus spinulosus Farg‘ona vodiysining ichki suv havzalarida tarqalgan o‘z urug‘ining yagona vakili bo‘lib, uni Qoradaryo, So‘x, Marg‘ilonsoy va Naymansoy havzalarida kuzatish mumkin (Sheraliyev va boshq., 2021). Bizning mazkur tur populyatsiyalarini molekulyar-genetik jihatdan o‘rganish natijalarimiz quyidagi maqolada o‘z aksini topgan.

MATERIAL VA METODIKA

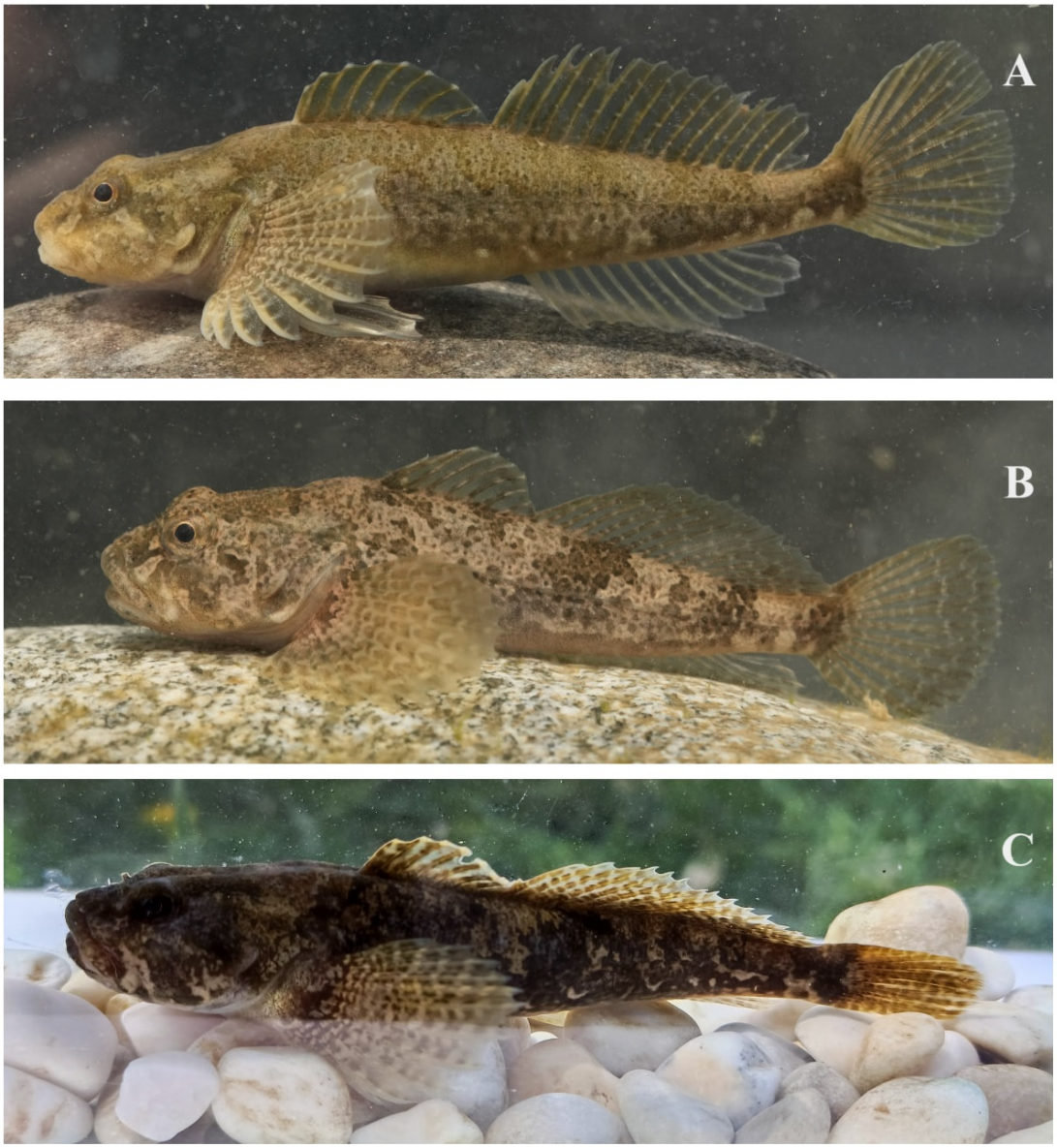
Farg‘ona vodiysida Qoradaryoning o‘rta va quyi oqimi, So‘x daryosi, Marg‘ilonsoy havzasi hamda Toshkent viloyati Bo‘stonliq tumani hududidan oqib o‘tuvchi Ugom daryosidan *Cottus* urug‘i namunalari 2017-2022-yillar davomida yig‘ilgan. Baliqlarni ovlashda kataklarining “ko‘z”i 4x6 mm, uzunligi 2-3 metr bo‘lgan kichik to‘rdan foydalanilgan. Baliq tutish jarayonida xalqaro normalar, jumladan, “Amerika ixtiologlar va gerpetologlar jamiyati” (American Society of Ichthyologists and Herpetologists [ASIH]) tomonidan ishlab chiqilgan “Tadqiqot ishida baliqlardan foydalanish bo‘yicha yo‘riqnomalar” (2013) dagi qoidalarga to‘la rioya qilingan. Dala sharoitida ovlangan baliqlar dastlab 4% li formalin eritmasida fiksatsiya qilingan. Oradan uch kun o‘tgach, doimiy saqlash uchun 70% li etil spirtiga solingan. Baliq namunalarini molekulyar-genetik jihatdan o‘rganish uchun namunalarning ayrimlari tutilgan zahoti 96% li etil spirtiga solingan va –20°C li haroratda saqlangan. Tadqiqotning taksonomik bosqichlari Farg‘ona davlat universiteti Zoologiya va umumiy biologiya kafedrasi laboratoriyasida amalga oshirilgan. Turni aniqlashda L.Berg (1949) hamda V.Sideleva (2021) tomonidan tuzilgan aniqlagichlardan foydalanilgan.

DNK ekstraktsiyasi ko‘krak suzgich qanotidan erituvchi K-proteinaza qo‘llagan holda standart fenol-xloroform uslubida amalga oshirildi. Mitoxondrial sitoxrom oksidaza I (COI) genining PZR amplifikatsiyasi uchun Ivanova va boshqalar (2007) tomonidan taklif qilingan (FishF2_t1 5`-TGT AAA ACG ACG GCC AGT CGA CTA ATC ATA AAG ATA TCG GCA C-3’ va FishR2_t1 5`-CAG GAA ACA GCT ATG ACA CTT CAG GGT GAC CGA AGA ATC AGA A-3`) universal praymerlardan foydalanildi. PZR mahsulotlari 10 ng DNK namunasi, har bir praymerdan 1 µl, 12,5 µl Taq Master Mix (Novoprotein, Guangdong, Xitoy) va ddH_2O dan iborat, jami 25 µl ni tashkil etdi. PZR amplifikatsiyani amalga oshirish uchun dastlab 95°C da 5 daqiqalik dastlabki bosqichdan o‘tkazilgan, undan keyin jami 35 sikldan iborat quyidagi ketma-ketlik amalga oshirilgan: 94°C da 45 soniya denaturatsiya, 48°C da 45 soniya va 70°C da 90 soniya elongatsiya. So‘nggi bosqich esa

72°C da 10 daqiqadan iborat bo‘lib, bu yakuniy bosqich hisoblanadi. Filogenetik daraxt ‘Neighbor-Joining‘ uslubi asosida MEGA7 dasturidan foydalanilgan holda yaratildi (Kumar *et al*., 2016).

NATIJALAR VA MUHOKAMA

Qoradaryo, Marg‘ilonsoy hamda So‘x daryolaridan tutilgan *Cottus spinulosus* namunalari morfologik jihatdan deyarli o‘xshash bo‘ldi (1-rasm).

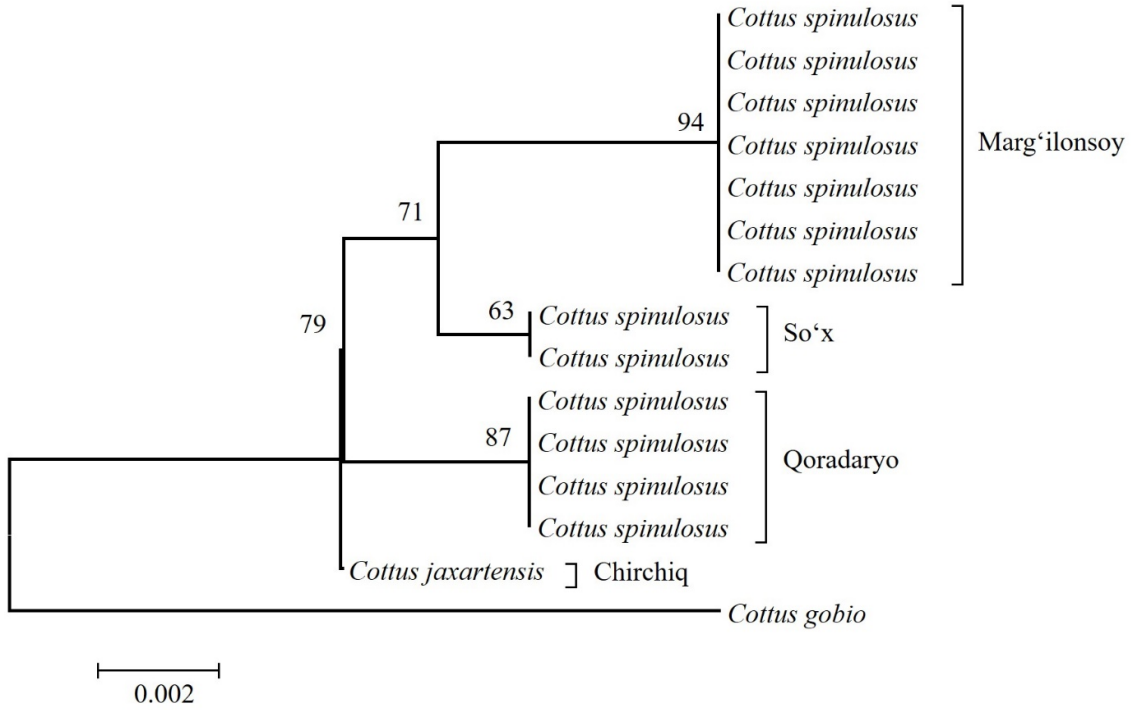


1-rasm. *Cottus spinulosus* ning Qoradaryo (A), Marg‘ilonsoy (B) hamda So‘x (C) daryolaridan tutilgan namunalari [Qoradaryo va Marg‘ilonsoydan tutilgan namunalar rasmi muallifi Jörg Freyhof].

Mazkur namunalar tanasining mayda bo‘rtiqchalar bilan qoplanganligi, shu bilan birga qorin suzgich qanotining kaltaligi hamda anal teshigiga yetmasligi bilan V.Sideleva (2021) qayd etgan *Cottus spinulosus* deb xulosa qilishga asos bo‘ldi. Qolaversa ushbu uch havza toshbuqalarining umumiy ko‘rinishi o‘zaro o‘xshash bo‘lib, faqat birozgina tana rangi va undagi dog‘larning ifodalanishida farq qildi. Ushbu farqlanishni baliqlar yashash muhitiga moslanish belgisi sifatida baholash mumkin.

BIOLOGIYA

Biroq ushbu uch populyatsiyani mitoxondrial COI geni yordamida molekulyar-genetik jihatdan tekshirib ko‘rganimizda ular bir-biridan farqli alohida uch kladadan joylashgani ma’lum bo‘ldi (2-rasm).



2-rasm. Farg‘ona vodiysidan yig‘ilgan *Cottus spinulosus* hamda *Cottus jaxartensis* (*Cottus gobio* tashqi guruh [outgroup] sifati) ning ‘Neighbor-Joining‘ uslubida yaratilgan filogenetik shajara daraxti

Yuqoridagi filogenetik shajara daraxtidan ko‘rinib turibdiki, Qoradaryo, So‘x hamda Marg‘ilonsoy havzasi populyatsiyalari o‘zaro alohida shoxlarda joylashgan. Chirchiq havzasida uchrovchi *Cottus jaxartensis* ushbu uch populyatsiyaning filogenetik daraxtidagi umumiy qo‘shni turi hisoblanadi. Qoradaryo populyatsiyasi Marg‘ilonsoy va So‘x populyatsiyalaridan mos ravishda 0,93% hamda 0,62% genetik masofa (K2P) qayd etdi. Marg‘ilonsoy hamda So‘x populyatsiyalari orasidagi genetik masofa ham 0,62% ga teng bo‘ldi (1-jadval). Ushbu holatda uch populyatsiya orasidagi genetik masofa umumiy qabul qilingan turlararo genetik farqlanish ko‘rsatkichi (>2%) dan kichik bo‘lib, tur ichida farqlanish deb xulosa qilsa bo‘ladi. Biroq boshqa tomondan *Cottus jaxartensis* hamda *Cottus spinulosus* ning Qoradaryo, Marg‘ilonsoy hamda So‘x populyatsiyalari o‘zaro mos tarzda 0,31%, 0,62% va 0,31% genetik farqlanishni namoyon qildi. Yoki tashqi guruh sifatida tanlangan va Markaziy Osiyo suv havzalarida uchramaydigan *Cottus gobio* hamda *Cottus jaxartensis* orasidagi genetik masofa ham 2% dan kichik (1,71%) bo‘ldi.

1-jadval. *Cottus spinulosus* ning uch populyatsiyasi hamda *Cottus jaxartensis* va *Cottus gobio* orasidagi genetik masofa

		1	2	3	4
	C. spinulosus Qoradaryo				
	C. spinulosus Marg‘ilonsoy	0,0093			
	C. spinulosus So‘x	0,0062	0,0062		
	C. jaxartensis Chirchiq	0,0031	0,0062	0,0031	
	C. gobio	0,0203	0,0235	0,0203	0,0171

Bir tur doirasidagi ayni shunday genetik farqlanish Ozark platosi (AQSh) ning endem turi hisoblanagan *Cottus hypselurus* Robins & Robison, 1985 da ham kuzatilgan (Kinziger & Wood, 2003). Fikrimizcha, *Cottus* urug‘i vakillarini genetik jihatdan farqlash uchun mitoxondrial COI barkod geni yetarli emas. Bu o‘rinda nisbatan tezroq evolyutsiyalanuvchi boshqa DNK markerlaridan foydalanish (masalan, cytb, CR) maqsadga muvofiq hisoblanadi.

Yuqorida olingan natijadan xulosa qilish mumkinki, *Cottus spinulosus* ning Farg‘ona vodiysi ichki suv havzalaridagi uch populyatsiyasi o‘zaro bir-biridan aniq farqlanuvchi genetik kladalardan joy olgan. Ushbu genetik farqlanishning morfologik asoslarini mazkur populyatsiya vakillarini chuqur morfologik tekshirish hamda olingan natijalarni keng qamrovli statistik uslublarda tahlil etish orqali topish lozim. Bu mazkur farqlanish tur ichida yoki turlararo holatda kuzatilayotganiga aniqlik kiritib beradi. Agar tez evolyutsiyalanuvchi DNK markerlari orqali tekshirib ko‘rilganda ham yuqoridagidek farqli kladalar kuzatiladigan, shu bilan birga ushbu populyatsiya vakillari orasida ishonchli morfometrik, meristik yoki morfologik farqlar qayd etiladigan bo‘lsa, ushbu uch populyatsiya ham o‘z navbatida uch alohida turni ifoda etadi. Bu esa Farg‘ona vodiysidagi *Cottus* urug‘ining tur xilma-xilligi biz avval o‘ylagandan ko‘ra kengroq ekanligini bildiradi.

Minnatdorchilik. Farg‘ona vodiysi suv havzalaridan *Cottus spinulosus* namunalarini yig‘ishda yaqindan yordam bergan Farg‘ona davlat universiteti Zoologiya va umumiy biologiya kafedrasi professor-o‘qituvchilari Yorqinoy Qayumova hamda Dildoraxon Komilovalarga hamda Ugom daryosidan *Cottus jaxartensis* namunalarini yig‘ishda yordam bergan Akbarjon Ro‘zimovga o‘zimizning samimiy minnatdorchiligimizni bildirib o‘tamiz.

ADABIYOTLAR RO‘YXATI

1. Fricke, R., Eschmeyer, W. N. & Van der Laan, R. (eds) 2023. Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References. (http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp). (murojaat etilgan sana: 06.09.2023).

2. Ivanova N.V., Zemlak T.S., Hanner R.H., Hebert P.D.N. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Molecular Ecology Notes, 2007. Vol. 7(4), – P. 544-548.

3. Kinziger A.P., Wood R.M. Molecular Systematics of the Polytypic Species Cottus hypselurus (Teleostei: Cottidae). Copeia, 2003. Vol. 3, – P. 624-627.

4. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Molecular Biology and Evolution, 2016. Vol. 33(7), – P. 1870-1874.

5. Sheraliyev B.M., Qayumova Y.Q., Komilova D.I. Farg‘ona vodiysi suv havzalarida tarqalgan *Cottus spinulosus* Kessler, 1872 ning muhofazasiga oid // “XXI asrda Biologiyaning rivojlanish istiqbollari va ularda innovatsiyalarning ahamiyati” mavzusidagi Respublika ilmiy anjumani materiallari. Jizzax, 2021, 15-aprel, – B. 243-246.

6. Sideleva V.G. A review of sculpins (Cottoidei) of Middle Asia with a revalidation of the species *Cottus jaxartensis* and description of a new species *Cottus nudus* sp. nova. Journal of Ichthyology, 2021. Vol. 61(3), – P. 327-338.

7. UFR (Use of Fishes in Research) Committee. 2013. Guidelines for the use of fishes in research. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. - https://asih.org/animal-care-guidelines/ (murojaat etilgan sana: 01.07.2020).

8. Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. Часть III. – Москва-Ленинград: Издательство Академии наук СССР, 1949. – 926-1382 с.