

# **DNA Sequence Data: Applications in Sturgeon Taxonomy**

**Ketevan Janashvili**

*Master's thesis is presented at the Ilia State University of Natural Sciences and Engineering  
Faculty for Applied Genetics Master's Degree  
According to the requirements*

Master's Program of Applied Genetics

Supervisor Cort Anderson, Full Professor

**Ilia State University**

**Tbilisi, 2020**

## Table of Contents

Statement .....	3
List of abbreviations .....	4
აბსტრაქტი .....	5
Abstract .....	7
Acknowledgements .....	8
Introduction .....	9
Literature review and background.....	10
General description of the species distributed in territorial waters of Georgia .....	11
Commercial trade of sturgeon in Georgian markets.....	14
The object and methods of research .....	15
Sampling .....	15
DNA extraction, amplification and sequencing .....	15
Analysis of the DNA data .....	16
Results .....	16
Phylogenetic and polymorphism analysis of cyt b sequence data.....	16
Network and statistical analysis of subspecies .....	20
Discussion .....	23
Phylogenetic and polymorphism analysis of cyt b sequence data.....	23
Network and statistical analysis of subspecies .....	25
Conclusions .....	27
Bibliography:.....	28
Appendix .....	36

## **Statement**

As the author of the presented Master's Thesis, I declare that the work is my original work and does not contain materials submitted to the publication, published or protected by other authors, which are not mentioned in the work or quoted in accordance with the relevant rules.

K. Janashvili

## **List of abbreviations**

IUCN - International Union for Conservation of Nature

CITES - Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora

Cyt b - Cytochrome b, gene in mitochondrial genome, contains species-specific information and often used for phylogenetic analyses

mtDNA - The DNA located in mitochondria

CR - A critically endangered species

NCBI - National Center for Biotechnology Information

bp - A base pair of two complementary nucleotides

## აბსტრაქტი

ჩატარებული მიტოქონდრიული *cyt b*-ს კვლევით ჩვენ შევისწავლეთ ზუთხისებრთა ინდივიდები საქართველოს ტერიტორიული წყლებიდან და თევზის ბაზრებიდან. ველური ზუთხის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების მონაცემები გავაანალიზეთ გენბანკში არსებული სხვა პონტო-კასპიური ინდივიდების მონაცემებთან ერთად იმის დასადგენად, არის თუ არა გეოგრაფიულად დაშორებული პოპულაციები ან ქვესახეობები გენეტიკურად განსხვავებული. ფილოგენეტიკური ანალიზი აჩვენებს, რომ საქართველოში ამჟამად ძირითადად გავრცელებულია შემდეგი სახეობები: რუსული ზუთხი (*A. gueldenstaedtii*), სვია (*Huso huso*) და ტარაღანა (*A. stellatus*). *cyt b*-ს კვლევაზე დაყრდნობით ჩვენ ვერ განვასხვავებთ *A. gueldenstaedtii*-ს და *A. persicus*-ს ერთმანეთისგან, მათ შორის მაღალი გენეტიკური მსგავსების გამო. ჩვენ დავადგინეთ გენეტიკური დიფერენციაცია და ავაგეთ ქვესახეობებისთვის ჰაპლოტიპების ქსელი. შედარებითი სპეციფიკური გენეტიკური განსხვავებები არ დაფიქსირებულა ქვესახეობებსა და გეოგრაფიულად შორეულ პოპულაციებს შორის, გარდა *A. gueldenstaedtii*-ისა. შედეგები მხარს უჭერს არსებული მოლეკულური კვლევების შედეგებს, მაგრამ საჭიროა ჩატარდეს დამატებითი ანალიზი მიტოქონდრიული და ბირთვული მარკერებით, რათა დადგინდეს ქვესახეობებისთვის შესაბამისი ტაქსონომიური სტატუსი.

გარდა ამისა ჩვენ გამოვიკვლიეთ ბაზრებზე მოძიებული ინდივიდების სინჯები საქართველოში კომერციულად ან/და უკანონოდ გაყიდვადი სახეობების დასადგენად. ფილოგენეტიკური ანალიზით ყველაზე მეტი ინდივიდი დაჯგუფდა რუსულ (*A. gueldenstaedtii*) და ციმბირულ (*A. baerii*) ზუთხთან. გამოიკვეთა, რომ ბაზრებზე მოპოვებული ზოგიერთი ინდივიდი წარმოადგენს სტერლეტს (*A. ruthenus*), სვიას (*H. huso*), ტარაღანას (*A. stellatus*) და რუსულ ზუთხს (*A. gueldensatedtii*). ეს მონაცემები არ არის საკმარისი დასკვნების გამოსატანად, მაგრამ შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ დაცული სახეობები არალეგალურად იყიდება ბაზრებზე, რადგან სახეობების

როგორცაა *A. stellatus* და *H. huso*, არ არის ცნობილი, რომ ხდებოდეს მათი იმპორტი ქართულ ბაზარზე ან იწარმოებოდეს ადგილობრივ ფერმერულ მეურნეობაში.

**საკვანძო სიტყვები:** პონტო-კასპიური ზუთხი, ციტოქრომი b, ქვესახეობა, ქართული ბაზრები.

## Abstract

A survey of mitochondrial *cyt b* sequences from Georgian territorial waters and fish markets reveals that some species still inhabit this region and illegal selling may be occurring. This study also examined sequence data of wild individuals, along with other Ponto-Caspian individuals downloaded from GenBank, to find whether geographically distant populations or subspecies are genetically distinct. The analysis shows that the wild species common to Georgia are mainly *A. gueldenstaedtii*, *H. huso* and *A. stellatus*. Based on *cyt b*, we are not able to distinguish between *A. gueldenstaedtii* and *A. persicus*, because of the high genetic similarity between them. We used these sequences to infer an haplotype network. No specific genetic differences were observed between subspecies, or geographically distant populations, except in *A. gueldenstaedtii*. The results confirm previous molecular studies, but analyses with additional mtDNA and nuclear markers should be conducted to determine the true taxonomic status of the subspecies.

Additionally, we examined individuals obtained from markets, to identify commercial species sold in Georgia and/or reveal illegal trade in wild individuals. The most frequently sold individuals were clustered with Russian sturgeon (*A. gueldensatedtii*) and Siberian sturgeon (*A. baerii*), based on phylogenetic analysis. Some market-acquired individuals were also identified as Sterlet (*A. ruthenus*), Beluga (*H. huso*), Stellate sturgeon (*A. stellatus*), and Russian sturgeon (*A. gueldensatedtii*). These data are not definitive, but we can assume that protected species are illegally sold occasionally in the markets, because it is not known whether species such as *H. huso* and *A. stellatus* are imported to the Georgian market or produced on from local farms.

**Key words:** Ponto-Caspian sturgeon, Cytochrome b, Subspecies, Georgian markets.

## **Acknowledgements**

I am grateful to Fauna and Flora International (FFI) and Ilia State University (ISU) for helping me to conduct the research. I am grateful to T. Edisherashvili, L. Ninua, and T. Beridze for providing tissue samples of sturgeon. Special thanks to T. Beridze for her contribution to the laboratory work. I would like to thank Professor Anderson for supervising and all the other people who have contributed to this research.