

The Complete Mitochondrial Genome of *Chlorella* sp. isolated from Lake Baikal

Short communication

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Panova Yu.A.^{1,2}, Chernogor L.I.², Belikov S.I.^{2*}

¹ Siberian Federal University, Akademgorodok, 13a, Krasnoyarsk, 660036, Russia

² Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

ABSTRACT. We report here the mitochondrial genome sequence of Lake Baikal green alga extracted from complete genome of *Chlorella* sp. strain BAC9706. Sequenced mitochondrial genome of strain BAC9706 has 90.8-kbp containing including 34 protein-coding genes. Phylogenetic analysis using the mitochondrial genomes of algae of Chlorellales order indicated that the strain BAC9706 belongs *C. vulgaris* clade and is Baikal ecotype of *C. vulgaris*.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, mitochondrial genome, Lake Baikal

For citation: Panova Yu.A., Chernogor L.I., Belikov S.I. The Complete Mitochondrial Genome of *Chlorella* sp. isolated from Lake Baikal // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 5. - P. 1267-1275. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-5-1267

1. Introduction

Baikal is a unique ancient oligotrophic freshwater lake - the deepest, oldest and largest by volume in the world. The lake has an unusual climatic environment and amazing of endemic flora and fauna diversity. Autotrophic picoplankton plays a significant role in the production of primary organic matter. In summer, pico-plankton accounts for 60–90% of all primary production in Lake Baikal (Votintsev et al., 1975; Bondarenko and Guselnikova, 1989; Nagata et al., 1994). The greatest contribution to the phytoplankton biomass is made by diatoms and golden algae (Bondarenko et al., 2017), while green algae Chlorophyta are rare and represented by several species, with Chlorella-like algae noted only sporadically. Thus, authors reported the under-ice development of *Chlorella* sp. Baikal (Kozhova, 1959; 1987, Nagata et al., 1994). It was recently shown that Chlorella-like green algae dominated under the ice in 2020, and *C. vulgaris* (Beijerinck, 1890) was found at all the studied stations of the Irkutsk reservoir, indirectly adjacent to Lake Baikal. (Bashenkhaeva et al., 2020; Firsova et al., 2023).

The mass death of endemic sponges *Lubomirskia baicalensis* began in Baikal in 2011. (Belikov et al., 2019). Previously, we showed that significant changes occurred in the microbial communities of the sponge *L. baicalensis* and cell culture of the primmorph. A sig-

nificant shift in microbial communities and mass death of the main symbiotic green algae *Choricystis* and their partial replacement with other algae in sponge communities were detected. (Belikov et al., 2019; Chernogor et al., 2020).

The draft genome sequence of *Chlorella* sp. strain BAC9706 (Petrushin et al., 2020) was prepared to expand our molecular biological knowledge of these microalgae and for compare them in the future with an endosymbiotic alga strain. In this study, we assembled the complete mitochondrial genome of a microalgal strain BAC9706 morphologically similar to Chlorella-like algae.

2. Materials and methods

2.1. DNA Sequencing and assembly

The genomic DNA was isolated as previously described (Petrushin et al., 2020) and sequenced using Illumina MiSeq platform. A draft assembly was built using SPAdes v. 3.15.4 (Bankevich et al., 2012). This draft assembly contained 5,837 contigs with an N50 value of 44,654 bp, and the largest contig was 317,606 bp long.

The obtained whole-genome assembly contigs were aligned on the reference genomes derived from NCBI using BLASTn to identify mitochondrial contig.

*Corresponding author.

E-mail address: sergeibelikov47@gmail.com (S.I. Belikov)

Received: September 30, 2024; Accepted: October 23, 2024;

Available online: October 31, 2024

© Author(s) 2024. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



2.2. Mitogenome annotation

For genome annotation we used GeSeq tool (Tillich et al., 2017) with default parameters for protein-coding genes, tRNAs, and rRNAs with NC_045362 of *Chlorella vulgaris* strain NJ-7 sequence as reference for mitochondrial genome. The protein-coding genes were verified manually through alignments of homologous mitogenomes from other *Chlorella vulgaris* strains using BLAST search (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Proteins encoded in introns (orfs) were identified by translating the nucleotide sequence into protein sequence using the translate tool with standard genetic codes (<https://web.expasy.org/translate/>). Complete mitochondrial DNA sequence was uploaded to the GenBank database (accession number PQ043348). OGDRAW was used for genome maps visualization OGDRAW (Greiner et al., 2019), to prepare files for Genbank submission we used GB2sequin (<https://chlo-robox.mpimp-golm.mpg.de/GenBank2Sequin.html>) (Lehwark and Greiner, 2019).

2.3. Phylogenetic Analysis

To determine the phylogenetic relationship of *Chlorella* genus a Maximum-likelihood tree was constructed using MEGA11 (Tamura et al., 2021). All currently available sequences of complete well-annotated mitochondrial genomes belonging to the *Chlorellales* order were selected from NCBI. From these, we extracted all protein-coding sequences, performed alignments, and concatenated them. To improve alignments, sequences from outlying taxa were removed. Final phylogenetic tree is based on mitochondrial protein sequences representing 31 concatenated protein-coding mitochondrial genes (3 of 34 annotated genes for intron-encoded orfs were excluded from the analysis).

3. Results and Discussion

3.1. Nucleotide Composition and Genome Structure

The complete mitochondrial genome of *Chlorella* sp. BAC9706 was identified as a circular dou-

ble-stranded molecule with a length of 90770 bp and is located between related strains UTEX259 (98062 bp) and NJ-7 (87477 bp). The nucleotide composition of *Chlorella* sp. strain BAC9706 is 35.2 % A, 35.0 % T, 15.1 % G, and 14.6 % C, with a higher AT bias (70.2 %). The AT content of the strain BAC9706 mitogenome was slightly higher than that of the two related strains, equal to 70.0 % (Table 1).

The mitochondrial genome of strain BAC9706 contains 34 protein-coding genes (PCGs), 27 tRNA, and 3 rRNA genes. Among these, a total of 19 PCGs are encoded on the heavy (H) strand, while 15 genes are located on the light (L) strand (Fig. 1). Total length of protein-coding genes is 26969 bp, accounting for 29.7% of entire mitochondrial genome. The gene order within the mitochondrial genome is identical to that of two related strains.

The protein-coding genes include 13 for ribosomal proteins (rpl5-6, 16, rps2-4, 7, 10-14, 19), 9 for NAD(P)H-quinone oxidoreductases (nad1-7, 9 and nad4L), 5 for ATP synthases (atp1, atp4, atp6, atp8 and atp9), 3 for coxs (cox1-3), 1 for cob, and 3 orf for putative proteins. Transfer RNA genes for all 20 amino acids were identified, in which tRNA-Met, tRNA-Leu are triplicated, and tRNA-Ser, tRNA-Arg, and tRNA-Gly are duplicated.

All PCGs have a typical initiation codon ATG and stop with TAA, except for rps13, rps14, atp8, atp9, cox2, nad3 that uses a stop codon TAG. Among the protein-coding genes, nad5 is the longest gene with a length of 2019 bp, while the shortest is the atp9 gene with a length of 225 bp. The number of bases in the 13 PCGs follows the pattern A (35.2%) > T (35.00%) > G (15.1%) > C (14.6%), suggesting that AT is more preferred in PCGs.

3.2. Phylogenetic analysis

Phylogenetic analysis using the mitochondrial genomes of *Chlorellales* species indicated that strain BAC9706 is closely related to other *C. vulgaris* strains - UTEX259, NJ-7, ITBBA3-12, KNUA007 and they clustered in the *Chlorella* lineage with 100% bootstrap support (Fig. 2).

Table 1. Nucleotide distribution strains.

Nucleotide	BAC9706		UTEX259		NJ-7	
	Count, bp	%	Count, bp	%	Count, bp	%
Adenine (A)	31978	35.2	34356	35.0	30602	35.0
Cytosine (C)	13285	14.6	14462	14.7	12883	14.7
Guanine (G)	13728	15.1	14965	15.3	13348	15.3
Thymine (T)	31779	35.0	34279	35.0	30644	35.0
Purines (A + G)	45706	50.4	49321	50.3	43950	50.2
Pyrimidines (C + T)	45064	49.6	48741	49.7	43527	49.8
C + G	27013	29.8	29427	30.0	26231	30.0
A + T	63757	70.2	68635	70.0	61246	70.0
Total length	90770		98062		87477	

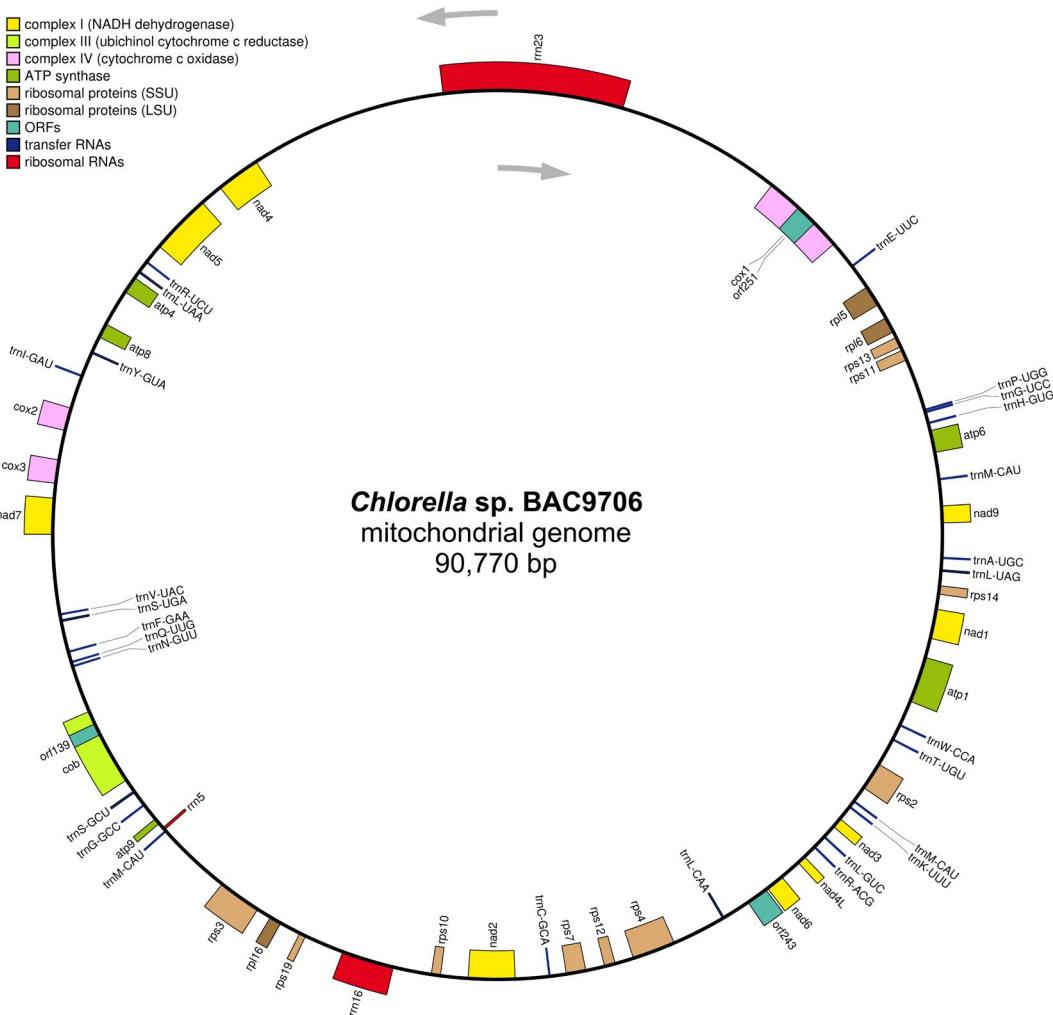


Fig.1. Mitochondrial genome map of *Chlorella* sp. strain BAC9706.

3.3. Whole mitogenome alignment

Whole genome alignment analysis for three strains *C. vulgaris* - UTEX259, NJ-7 and *Chlorella* sp. BAC9706 (Fig. 3) shows the following major differences in the mitochondrial genomes: in the UTEX259 strain, the intron of cox1 gene contains orf441, which is absent in the other two genomes; significant differences are in the gene encoding 23S rRNA and in the adjacent region, similarly, low conservation is observed next to the gene encoding 16S rRNA.

Thus, the main differences between the three closely related strains are related to the intergenic regions closed to rRNA genes.

4. Conclusions

In this study, we successfully assembled and analyzed the complete mitochondrial genome Chlorophyta green algae of the Lake Baikal. Next-generation whole genome sequencing of *Chlorella*-like green algae and bioinformatics analysis revealed a circular double-stranded molecule with a typical set of mitochondrial genes.

The constructed phylogenetic tree clearly indicates that the *Chlorella*-like strain BAC9706 is one of the representatives of the algae species *C. vulgaris*, Baikal ecotype of *C. vulgaris*.

Acknowledgements

We acknowledge D. Kuzmin, V. Sharov, K. Krutovsky and S. Feranchuk for their assistance in computational cluster administration and computation. The work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of State Assignment No. 0279-2021-0011.

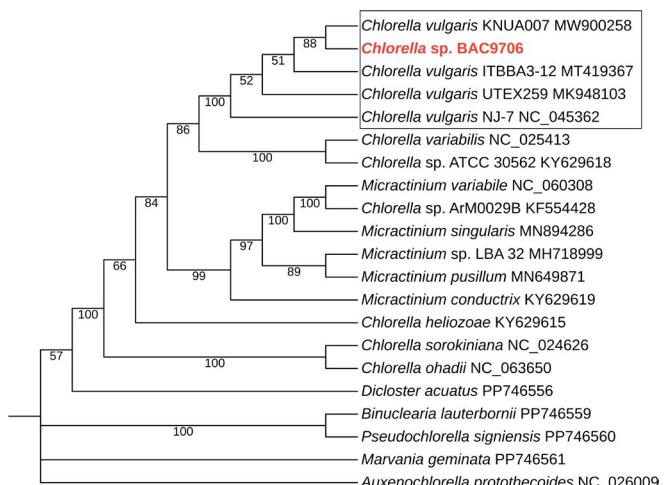


Fig.2. The Maximum Likelihood phylogenetic tree of *Chlorella* sp. strain BAC9706 based on mitochondrial concatenated protein-coding genes from Chlorellales taxa.



Fig.3. Alignment of whole genomes for three *Chlorella* strains - UTEX259 (MK948103), NJ7 (NC_045362) and *Chlorella* sp. BAC9706 (PQ043348). CDSs are shown in yellow, rRNAs in pink and tRNAs in blue. The light green line plot shows the conservation of the corresponding alignment region.

Conflict of interests

The authors hereby state that this research work and manuscript production complied with ethical standards, and none of the authors have any potential conflict of interests. We further declare that this research was not funded by any agency except RSF.

References

- Bankevich A., Nurk S., Antipov D. et al. 2012. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology* 19(5): 455-477. DOI: [10.1089/cmb.2012.0021](https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021)
- Bashenkhaeva M.V., Galachyants Y.P., Khanaev I.V. et al. 2020. Comparative analysis of free-living and particle-associated bacterial communities of Lake Baikal during the ice-covered period. *Journal of Great Lakes Research* 46(3): 508-518. DOI: [10.1016/j.jglr.2020.03.015](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2020.03.015)
- Belikov S., Belkova N., Butina T. et al. 2019. Diversity and shifts of the bacterial community associated with Baikal sponge mass mortalities. *PLoS ONE* 14(3): e0213926. DOI: [10.1371/journal.pone.0213926](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213926)
- Bondarenko N., Sheveleva N., Rozhkova N. et al. 2017. Remote mountain lakes of Eastern Siberia: a pattern of ecologically pure non-industrialized water-bodies. *Environmental Earth Sciences* 76(10): 1-10. DOI: [10.1007/s12665-017-6708-4](https://doi.org/10.1007/s12665-017-6708-4)
- Bondarenko N.A., Guselnikova N.E. 1989. Production of phytoplankton of Southern Baikal. *Bulletin of the Siberian Branch of the USSR Academy of Sciences. Issue 1.* p. 77-80.
- Chernogor L., Klimenko E., Khanaev I. et al. 2020. Microbiome analysis of healthy and diseased sponges *Lubomirskia baicalensis* by using cell cultures of primmorphs. *PeerJ* 8(e9080): 1-24. DOI: [10.7717/peerj.9080](https://doi.org/10.7717/peerj.9080)
- Firsova A., Galachyants Yu., Bessudova A. et al. 2023. Summer phytoplankton species composition and abundance in the southern basin of Lake Baikal and Irkutsk Reservoir. *Limnology and Freshwater Biology* 6: 204-228. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-6-204](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-6-204)
- Greiner S., Lehwerk P., Bock R. 2019. Organellar genome DRAW (OGDRAW) version 1.3.1: Expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes. *Nucleic Acids Research* 47(W1): W59-W64. DOI: [10.1093/nar/gkz238](https://doi.org/10.1093/nar/gkz238)
- Kozhova O.M. 1959. About the subglacial "bloom" of phytoplankton in Lake Baikal. *Bot. Zh.* 44 (7). p. 1001.
- Kozhova O.M. 1987. Phytoplankton of Lake Baikal: structural and functional characteristics. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergeb. Limnol.* 25. p. 19.
- Lehwerk P., Greiner S. 2019. GB2sequin - A file converter preparing custom GenBank files for database submission. *Genomics* 111(4): 759-761. DOI: [10.1016/j.genome.2018.05.003](https://doi.org/10.1016/j.genome.2018.05.003)
- Nagata T., Takai K., Kawanobe K. et al. 1994. Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: abundance, growth and grazing mortality during summer. *J. Plankton Research* 16(8): 945-959.
- Petrushin I.S., Belikov S.I., Belykh O.I. et al. 2020. Draft genome sequence of the green microalga *Chlorella* sp. strain BAC9706, isolated from Lake Baikal, Russia. *Microbiology Resource Announcements* 9(43). DOI: [10.1128/mra.00966-20](https://doi.org/10.1128/mra.00966-20)
- Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38(7): 3022-3027. DOI: [10.1093/molbev/msab120](https://doi.org/10.1093/molbev/msab120)
- Tillich M., Lehwerk P., Pellizzer T. et al. 2017. GeSeq - versatile and accurate annotation of organelle genomes. *Nucleic Acids Research* 45(W1): W6-W11. DOI: [10.1093/nar/gkx391](https://doi.org/10.1093/nar/gkx391)
- Totintsev K.K., Meshcheryakova A.I., Popovskaya G.I. 1975. Organic matter cycle in Lake Baikal. USSR Academy of Sciences. SO Limnol.in-t. Novosibirsk: Nauka. 189 p.

Геном митохондрий штамма *Chlorella* sp. BAC9706, выделенного из озера Байкал

Краткое сообщение

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Панова Ю.А.^{1,2}, Черногор Л.И.², Беликов С.И.^{2*}

¹ Сибирский федеральный университет, Академгородок, 13а, Красноярск, 660036, Россия

² Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. В данной статье мы представляем последовательность митохондриального генома зеленой водоросли озера Байкал, выделенную из полного генома штамма *Chlorella* sp. BAC9706. Секвенированный митохондриальный геном штамма BAC9706 имеет 90,8 тыс. п.н., содержащий в том числе 34 белок-кодирующих гена. Филогенетический анализ с использованием митохондриальных геномов водорослей порядка Chlorellales показал, что штамм BAC9706 принадлежит кладе *C. vulgaris* и является байкальским экотипом *C. vulgaris*.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris*, митохондриальный геном, озеро Байкал

Для цитирования: Панова Ю.А., Черногор Л.И., Беликов С.И. Геном митохондрий штамма *Chlorella* sp. BAC9706, выделенного из озера Байкал // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 5. - С. 1267-1275. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-5-1267

1. Введение

Байкал — уникальное древнее олиготрофное пресноводное озеро — самое глубокое, самое дренирующее и самое большое по объему в мире. Озеро имеет необычную климатическую среду и удивительное разнообразие эндемичной флоры и фауны. Автотрофный пикопланктон играет значительную роль в производстве первичного органического вещества. Летом пикопланктон обеспечивает 60–90% всей первичной продукции в озере Байкал (Votintsev et al., 1975; Bondarenko and Guselnikova, 1989; Nagata et al., 1994). Наибольший вклад в биомассу фитопланктона вносят диатомовые и золотистые водоросли (Bondarenko et al., 2017), тогда как зеленые водоросли Chlorophyta редки и представлены несколькими видами, а водоросли рода *Chlorella* отмечены лишь спорадически. Так, авторы сообщали о подледном развитии *Chlorella* sp. в озере Байкал (Kozhova, 1959; 1987, Nagata et al., 1994). Недавно было показано, что в 2020 г. подо льдом доминировали хлореллоподобные зеленые водоросли, а на всех исследованных станциях Иркутского водоканала, опосредованно прилегающего к озеру Байкал, обнаружена *Chlorella vulgaris* Beijerinck. (Bashenkhaeva et al., 2020; Firsova et al., 2023). Массовая гибель эндемичных губок

Lubomirskia baikalensis началась в Байкале в 2011 г. (Belikov et al., 2019). Ранее нами было показано, что существенные изменения произошли в микробных сообществах губки *L. baikalensis* и культуре клеток примморф. Выявлены существенный сдвиг микробных сообществ и массовая гибель основных симбиотических зеленых водорослей *Choricystis* и их частичная замена другими водорослями в сообществах губок. (Belikov et al., 2019; Chernogor et al., 2020).

Проект последовательности генома штамма *Chlorella* sp. BAC9706 (Petrushin et al., 2020) был подготовлен для расширения наших молекулярно-биологических знаний об этих микроводорослях и для сравнения их с эндосимбиотическим штаммом водоросли в будущем. В этом исследовании мы собрали полный митохондриальный геном штамма микроводоросли BAC9706, морфологически похожего на водоросли типа *Chlorella*.

2. Материалы и методы

2.1. Секвенирование и сборка ДНК

Геномная ДНК была выделена, как описано ранее (Petrushin et al., 2020), и секвенирована с использованием платформы Illumina MiSeq. Проект

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: sergeibelikov47@gmail.com (S.I. Belikov)

Поступила: 30 сентября 2024; Принята: 23 октября 2024;

Опубликована online: 31 октября 2024

© Автор(ы) 2024. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



сборки был создан с использованием SPAdes v. 3.15.4 (Bankevich et al., 2012). Этот проект сборки содержал 5837 контигов со значением N50 44 654 п.н., а самый большой контиг имел длину 317 606 п.н.

Полученные контиги полногеномной сборки были выровнены с референсными геномами, полученными из NCBI, с использованием BLASTn для идентификации митохондриального контига.

2.2. Аннотация митогенома

Для аннотации генома мы использовали инструмент GeSeq (Tillich et al., 2017) с параметрами по умолчанию для генов, кодирующих белок, тРНК и рРНК с NC_045362 последовательности штамма *Chlorella vulgaris* NJ-7 в качестве референса для митохондриального генома. Гены, кодирующие белок, были проверены вручную с помощью выравнивания гомологичных митогеномов из других штаммов *Chlorella vulgaris* с использованием поиска BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Белки, кодируемые в инtronах (orf), были идентифицированы путем перевода нуклеотидной последовательности в последовательность белка с использованием инструмента перевода со стандартными генетическими кодами (<https://web.expasy.org/translate/>). Полная последовательность митохондриальной ДНК была загружена в базу данных GenBank (номер доступа PQ043348). Для визуализации геномных карт использовался OGDRAW (Greiner et al., 2019), для подготовки файлов для отправки в Genbank мы использовали GB2sequin (<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/GenBank2Sequin.html>) (Lehwark and Greiner, 2019).

2.3. Филогенетический анализ

Для определения филогенетической связи рода *Chlorella* было построено дерево максимального правдоподобия с использованием MEGA11 (Tamura et al., 2021). Все доступные в настоящее время последовательности полных хорошо аннотированных митохондриальных геномов, принадлежащих к порядку Chlorellales, были выбраны из

NCBI. Из них мы извлекли все кодирующие белок последовательности, выполнили выравнивания и объединили их. Для улучшения выравниваний были удалены последовательности из удаленных таксонов. Окончательное филогенетическое дерево основано на последовательностях митохондриальных белков, представляющих 31 конкатенированный кодирующий белок митохондриальный ген (3 из 34 аннотированных генов, кодируемых интронами, были исключены из анализа).

3. Результаты и обсуждение

3.1. Нуклеотидный состав и структура генома

Полный митохондриальный геном *Chlorella* sp. BAC9706 был идентифицирован как кольцевая двухцепочечная молекула длиной 90770 п.н. и расположен между родственными штаммами UTEX259 (98062 п.н.) и NJ-7 (87477 п.н.). Нуклеотидный состав штамма *Chlorella* sp. BAC9706 составляет 35,2 % A, 35,0 % T, 15,1 % G и 14,6 % C, с более высоким смещением AT (70,2 %). Содержание AT в митогеноме штамма BAC9706 было немного выше, чем у двух родственных штаммов, и составило 70,0 % (Таблица 1).

Митохондриальный геном штамма BAC9706 содержит 34 гена, кодирующих белки (PCG), 27 генов тРНК и 3 гена рРНК. Из них в общей сложности 19 PCG кодируются на тяжелой (H) цепи, а 15 генов расположены на легкой (L) цепи (Рис. 1). Общая длина генов, кодирующих белки, составляет 26969 п.н., что составляет 29,7% от всего митохондриального генома. Порядок генов в митохондриальном геноме идентичен порядку генов двух родственных штаммов хлореллы.

Гены, кодирующие белки, включают 13 для рибосомальных белков (rpl5-6, 16, rps2-4, 7, 10-14, 19), 9 для НАД(Ф)Н-хинон оксидоредуктаз (nad1-7, 9 и nad4L), 5 для АТФ-синтаз (atp1, atp4, atp6, atp8 и atp9), 3 для coxs (cox1-3), 1 для cob и 3 orf для предполагаемых белков. Были идентифицированы гены транспортной РНК для всех 20 аминокислот, в которых тРНК-Met, тРНК-Leu триплицированы, а тРНК-Ser, тРНК-Arg и тРНК-Gly дублированы. Все

Таблица 1. Распределения нуклеотидов в штаммах.

Нуклеотиды	BAC9706		UTEX259		NJ-7	
	Число, п.н.	%	Число, п.н.	%	Число, п.н.	%
Аденин (A)	31978	35.2	34356	35.0	30602	35.0
Цитозин (C)	13285	14.6	14462	14.7	12883	14.7
Гуанин (G)	13728	15.1	14965	15.3	13348	15.3
Тимин(T)	31779	35.0	34279	35.0	30644	35.0
Пурины (A + G)	45706	50.4	49321	50.3	43950	50.2
Пиримидины(C + T)	45064	49.6	48741	49.7	43527	49.8
C + G	27013	29.8	29427	30.0	26231	30.0
A + T	63757	70.2	68635	70.0	61246	70.0
Общая длина	90770		98062		87477	

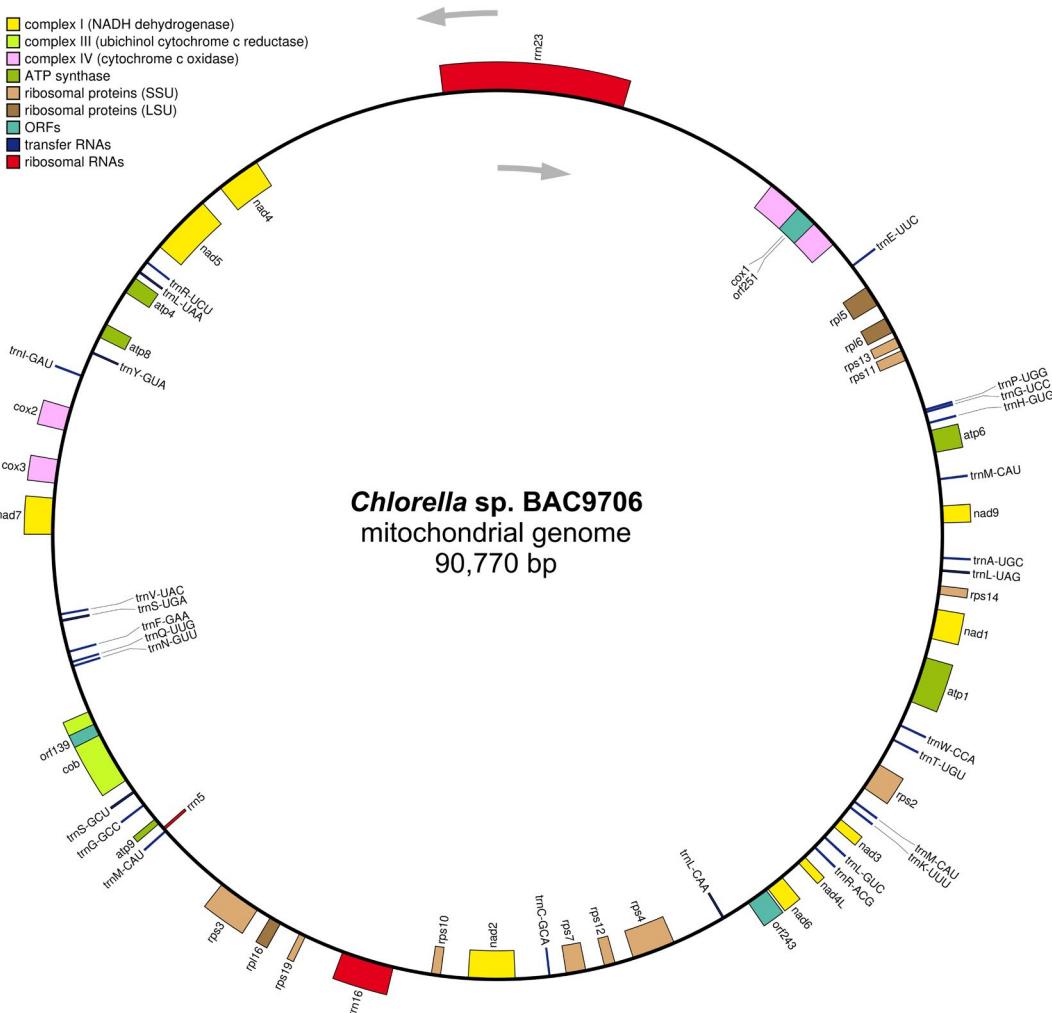


Рис.1. Карта митохондриального генома штамма Chlorella sp. BAC9706.

PCG имеют типичный инициирующий кодон ATG и стоп-кодон TAA, за исключением rps13, rps14, atp8, atp9, cox2, nad3, которые используют стоп-кодон TAG. Среди генов, кодирующих белоқ, nad5 является самым длинным геном с длиной 2019 п.н., в то время как самым коротким является ген atp9 с длиной 225 п.н. Количество оснований в 13 PCG следует схеме A (35,2%) > T (35,00%) > G (15,1%) > C (14,6%), что позволяет предположить, что АТ более предпочтителен в PCG.

3.2. Филогенетический анализ

Филогенетический анализ с использованием митохондриальных геномов видов Chlorellales показал, что штамм BAC9706 тесно связан с другими штаммами *C. vulgaris* - UTEX259, NJ-7, ITBVA3-12, KNUA007, и они сгруппированы в линию *Chlorella* со 100% поддержкой бутстрэпа (Рис. 2).

3.3. Выравнивание всего митогенома

Анализ выравнивания всего генома для трех штаммов *C. vulgaris* - UTEX259, NJ-7 и *Chlorella* sp. BAC9706 (Рис. 3) показывает следующие основные различия в митохондриальных геномах: в штамме UTEX259 инtron гена cox1 содержит orf441, который отсутствует в двух других геномах; существен-

ные различия находятся в гене, кодирующем 23S рРНК, и в прилегающей области, аналогично, низкая консервативность наблюдается рядом с геном, кодирующим 16S рРНК.

Таким образом, основные различия между тремя близкородственными штаммами связаны с межгенными областями, близкими к генам рРНК.

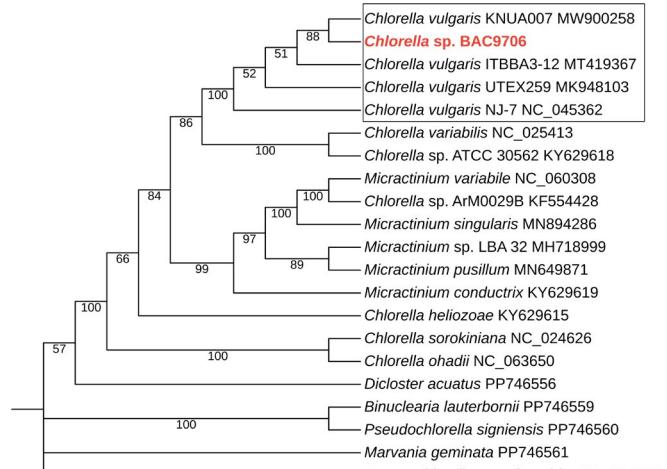


Рис.2. Филогенетическое дерево максимального правдоподобия штамма *Chlorella* sp. BAC9706 на основе митохондриальных конкатенированных генов, кодирующих белок, из таксонов Chlorellales.



Рис.3. Выравнивание целых геномов для трех штаммов *Chlorella* - UTEX259 (MK948103), NJ7 (NC_045362) и *Chlorella* sp. BAC9706 (PQ043348). CDS показаны желтым цветом, рРНК - розовым, а тРНК - синим. Светло-зеленый линейный график показывает сохранение соответствующей области выравнивания.

4. Выводы

В этом исследовании мы успешно собрали и проанализировали полный митохондриальный геном зеленых водорослей Chlorophyta озера Байкал. Полногеномное секвенирование следующего поколения зеленых водорослей *Chlorella-like* и биоинформационический анализ выявили кольцевую двухцепочечную молекулу с типичным набором митохондриальных генов.

Построенное филогенетическое дерево однозначно указывает на то, что штамм *Chlorella-like* BAC9706 является одним из представителей вида водорослей *Chlorella vulgaris*, байкальского экотипа *C. vulgaris*.

Благодарности

Выражаем благодарность Д. Кузьмину, В. Шарову, К. Крутовскому и С. Феранчуку за помощь в администрировании и проведении вычислений на вычислительном кластере. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания № 0279-2021-0011.

Конфликт интересов

Авторы настоящим заявляют, что данная исследовательская работа и написание рукописи соответствовали этическим стандартам, и ни у кого из авторов нет потенциального конфликта интересов. Мы также заявляем, что данное исследование

не финансировалось никаким агентством, кроме RSF.

Список литературы

- Bankovich A., Nurk S., Antipov D. et al. 2012. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. Journal of Computational Biology 19(5): 455-477. DOI: [10.1089/cmb.2012.0021](https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021)
- Bashenkhayeva M.V., Galachyants Y.P., Khanaev I.V. et al. 2020. Comparative analysis of free-living and particle-associated bacterial communities of Lake Baikal during the ice-covered period. Journal of Great Lakes Research 46(3): 508-518. DOI: [10.1016/j.jglr.2020.03.015](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2020.03.015)
- Belikov S., Belkova N., Butina T. et al. 2019. Diversity and shifts of the bacterial community associated with Baikal sponge mass mortalities. PLoS ONE 14(3): e0213926. DOI: [10.1371/journal.pone.0213926](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213926)
- Bondarenko N., Sheveleva N., Rozhkova N. et al. 2017. Remote mountain lakes of Eastern Siberia: a pattern of ecologically pure non-industrialized water-bodies. Environmental Earth Sciences 76(10): 1-10. DOI: [10.1007/s12665-017-6708-4](https://doi.org/10.1007/s12665-017-6708-4)
- Bondarenko N.A., Guselnikova N.E. 1989. Production of phytoplankton of Southern Baikal. Bulletin of the Siberian Branch of the USSR Academy of Sciences. Issue 1. p. 77-80.
- Chernogor L., Klimenko E., Khanaev I. et al. 2020. Microbiome analysis of healthy and diseased sponges Lubomirskia baicalensis by using cell cultures of primmorphs. PeerJ 8(e9080): 1-24. DOI: [10.7717/peerj.9080](https://doi.org/10.7717/peerj.9080)
- Firsova A., Galachyants Yu., Bessudova A. et al. 2023. Summer phytoplankton species composition and abundance in the southern basin of Lake Baikal and Irkutsk Reservoir. Limnology and Freshwater Biology 6: 204-228. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-6-204](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-6-204)

Greiner S., Lehwark P., Bock R. 2019. Organellar genome DRAW (OGDRAW) version 1.3.1: Expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes. Nucleic Acids Research 47(W1): W59-W64. DOI: [10.1093/nar/gkz238](https://doi.org/10.1093/nar/gkz238)

Kozhova O.M. 1959. About the subglacial "bloom" of phytoplankton in Lake Baikal. Bot. Zh. 44 (7). p. 1001.

Kozhova O.M. 1987. Phytoplankton of Lake Baikal: structural and functional characteristics. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. 25. p. 19.

Lehwark P., Greiner S. 2019. GB2sequin - A file converter preparing custom GenBank files for database submission. Genomics 111(4): 759-761. DOI: [10.1016/j.ygeno.2018.05.003](https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.05.003)

Nagata T., Takai K., Kawanobe K. et al. 1994. Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: abundance, growth and grazing mortality during summer. J. Plankton Research 16(8): 945-959.

Petrushin I.S., Belikov S.I., Belykh O.I. et al. 2020. Draft genome sequence of the green microalga Chlorella sp. strain BAC9706, isolated from Lake Baikal, Russia. Microbiology Resource Announcements 9(43). DOI: [10.1128/mra.00966-20](https://doi.org/10.1128/mra.00966-20)

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38(7): 3022-3027. DOI: [10.1093/molbev/msab120](https://doi.org/10.1093/molbev/msab120)

Tillich M., Lehwark P., Pellizzer T. et al. 2017. GeSeq - versatile and accurate annotation of organelle genomes. Nucleic Acids Research 45(W1): W6-W11. DOI: [10.1093/nar/gkx391](https://doi.org/10.1093/nar/gkx391)

Votintsev K.K., Meshcheryakova A.I., Popovskaya G.I. 1975. Organic matter cycle in Lake Baikal. USSR Academy of Sciences. SO Limnol.in-t. Novosibirsk: Nauka. 189 p.