

Genetic diversity of freshwater diatom algae populations *Ulnaria danica* (Kützing) Compère & Bukhtiyarova and *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Compère

Marchenkov A.M.^{1*}, Nalimova M.A.¹, Zakharova Yu.R.¹, Davidovich N.A.², Davidovich O.I.², Podunay Yu.A.², Petrova D.P.¹

¹Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 3 Ulan-Batorskaya Str., Irkutsk, 664033, Russia

²T.I. Vyazemsky Karadag Scientific Station of A.O. Kovalevskii Institute of Biology of the Southern Seas of the Russian Academy of Sciences, 24 Nauki Str., Kurortnoe, Feodosia, 298188, Russia

ABSTRACT. Araphid diatoms of the genus *Ulnaria* are the dominant species in many freshwater ecosystems of Eurasia. Diatom populations are genetically heterogeneous and represent a combination of different genotypes. Genetic diversity is a necessary factor for adaptation to different environmental conditions and successful dispersal of species. We were analyzed the genetic diversity of the species *Ulnaria danica* and *Ulnaria ulna* using the example of monoclonal strains isolated from geographically distant water bodies of the continental part of Eurasia: Lake Ritsa, Lake Goluboe and Lake Baikal. Phylogenetic analysis of *cox1* gene fragments of the studied strains demonstrated for the first time the heterogeneity of populations and the absence of geographic isolation for individual genotypes of the studied species. By analyzing the 18S rRNA marker genes, *rbcl* and *cox1*, the possibility of horizontal gene transfer between closely related species *Fragilaria radians*, *Ulnaria acus*, *U. danica* and *U. ulna* was established.

Keywords: diatoms, genetic diversity, horizontal gene transfer, *cox1*, 18S rRNA, *rbcl*, *Ulnaria*

For citation: Marchenkov A.M., Nalimova M.A., Zakharova Yu.R., Davidovich N.A., Davidovich O.I., Podunay Yu.A., Petrova D.P. Genetic diversity of freshwater diatom algae populations *Ulnaria danica* (Kützing) Compère & Bukhtiyarova and *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Compère // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 6. - P. 1471-1490. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-6-1471

1. Introduction

Single-celled diatoms are important players in both freshwater and marine ecosystems. The role of the diatoms is that they produce approximately 40% of the primary food source in the primary production in the world ocean (Field, 1998; Smetacek, 1999; Tréguer and Pondaven, 2000) and are involved in the biogeochemical cycles of carbon (C), nitrogen (N), phosphorus (P), silicon (Si), and iron (Fe) (Nelson et al., 1995; Tréguer et al., 1995; Buesseler, 1998; Tréguer and Pondaven, 2000; Sarthou et al., 2005; Benoiston et al., 2017). They are also the primary link in food chains in the aquatic ecosystems. Understanding their importance in the ecosystem leads to conclusions about the need for their comprehensive research.

Traditionally, diatoms are classified based on the morphology of their siliceous frustule, which is richly ornamented with various types of openings (areoles, pores), processes and spines. The structure, location and number of which are species-specific. According to recent studies, there are about 17,000 validly

described species of diatoms (Guiry and Guiry, 2024), but their number may increase to 100,000 (Mann and Vanormelingen, 2013). Many species have a wide geographic distribution (Finlay et al., 2002). These protists have successfully evolved, adapting to various environmental conditions and using a wide range of ecological niches (Malviya et al., 2016).

The wide distribution of species certainly contributes to the morphological, physiological and genetic differentiation of populations. Genetic diversity plays an important role in facilitating rapid adaptation to new environmental conditions (Szűcs et al., 2017). Identifying and tracking the genetic diversity of these populations allows to uncover the evolutionary mechanisms that influence the ability to adapt (Godhe and Rynearson, 2017; Rengefors et al., 2017). The driving force affecting the genetic structure of a population and modern evolution is the constant genetic variability, which determines the amount of variation present within a species. Diatom populations are known to be genetically heterogeneous and represent a mixture of different genotypes, which reflects their ability to adapt

*Corresponding author.

E-mail address: marchenkov.am@bk.ru (A.M. Marchenkov)

Received: November 11, 2024; **Accepted:** November 18, 2024;

Available online: December 25, 2024

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



to a changing environment (Guo et al., 2015; Wolf et al., 2019; Rynearson et al., 2022). The life cycle of diatoms includes a long period of vegetative division followed by a short reproductive phase. During sexual reproduction, recombinant genetic material is distributed among offspring of the next generation, which helps maintain genetic heterogeneity (Rynearson and Armbrust, 2004). The frequency of sexual recombination depends on the duration of the life cycle, which for different diatom species ranges from several months to several years (Jewson, 1992; Montresor et al., 2016).

Under favorable conditions, there is a mass development (“bloom”) of certain species or complexes of species of planktonic diatoms, while the majority of the focus of studying this process was related to studying the influence of environmental conditions. Relatively recently, a transition has been outlined to the study of intraspecific genetic diversity and microevolutionary processes in the phytoplankton population during the bloom period in marine ecosystems (Rynearson and Armbrust, 2005; Rynearson et al., 2006; Chen and Rynearson, 2016). Using the genes encoding Sig1 and β -tubulin as an example, it was shown that the genetic composition of *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G.A.Fryxell & Hasle exhibits relatively high levels of sequence divergence in isolates collected from different geographic locations (Armbrust and Galindo, 2001). At the same time, studies of the genetic structure of *Pseudonitzschia multiseriata* (Hasle) Hasle and *Skeletonema marinoi* Sarno & Zingone populations using ITS (internal transcribed spacer) showed that different populations of these species may inhabit different regions of the North Atlantic and Pacific Oceans (Evans and Hayes, 2004; Godhe et al., 2006). Using the marine centric diatom *Thalassiosira gravida* Cleve as an example, it was shown that high levels of genetic diversity were observed during the bloom from 02 to 13 May 2008 in the Atlantic Ocean near Iceland (Chen and Rynearson, 2016). For freshwater ecosystems, uneven distribution of individual genotypes of a number of species was also shown, which, according to the authors, may be due to differences in their ecological preferences (Pérez-Burillo et al., 2021). In freshwater benthic diatoms, genotypic diversity varies between populations of the same species and sometimes significantly decreases, which may be due to the alternation of sexual and asexual reproduction, since during periods of asexual reproduction, genotypic diversity gradually decreases as a result of natural selection (Vanormelingen et al., 2015). Another reason for genetic differences may be the geographic remoteness and isolation of water bodies, which significantly affects the formation and distribution of genotypes of freshwater species (Marchenkov et al., 2022). Taken together, this makes it possible to assert the intraspecific genetic heterogeneity inherent in both marine and freshwater diatoms and the ability to split into separate populations, which should contribute to an increase in the ability to adapt.

The aim of our study was to determine genetic differences in populations of planktonic freshwater diatoms of the genus *Ulnaria* (Kützing) Compère. We focused on the pennate araphid diatoms *Ulnaria dan-*

ica (Kützing) Compère & Bukhtiyarova and *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Compère, as they are closely related species with similar morphological features, but differ in their distribution ranges, with the western part of the Eurasian continent being inhabited by *U. ulna*, and the eastern part by *U. danica* (Podunay, 2022). In this regard, an analysis of the marker genes 18S rRNA, *rbcl* and *cox1* was carried out in monoclonal strains of these species isolated from Lakes Ritsa and Lakes Goluboe in the West Caucasus region (Republic of Abkhazia) and Lake Baikal, located in the southern part of Eastern Siberia.

2. Materials and methods

2.1. Sampling and culturing

In this work, we used 28 monoclonal strains from the collection of living diatom cultures of the Limnological Institute of the Russian Academy of Sciences, isolated from phytoplankton samples of Lake Baikal (Fig. 1, Table 1), according to the protocol published earlier (Zakharova et al., 2023), as well as 12 strains from the World Ocean Diatom Collection (WODC) of the T.I. Vyazemsky Karadag Scientific Station (Feodosia, Russia) isolated from samples in Lake Ritsa and Lake Goluboe (Fig. 1, Table 1). The cells were grown in 100 ml Erlenmeyer flasks at 8 °C and 16 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ illumination with a 12:12 hour day/night cycle in sterile DM (Diatom Medium) (Thompson, 1988) and subcultured once a month. The species affiliation of the strains was preliminarily determined using light microscopy.

2.2. DNA extraction, PCR and sequencing of marker genes

DNA was isolated from the biomass of monoclonal diatom strains as described previously (Marchenkov et al., 2018). Amplification of fragments of the V3-V4 18S rRNA variable loop, *rbcl* and *cox1* genes was performed using the primers listed in Table 2 and a *Taq* DNA polymerase kit (Eurogen, Russia). The PCR product was loaded onto a 1.5% agarose gel in 1X TAE, and ethidium bromide-stained gels were studied under UV-transillumination. PCR products were purified using the Monarch® DNA Gel Extraction Kit (NEB, USA) following the manufacturer’s instructions. Sanger sequencing was performed using the GenSeq kit (Synthol, Russia) on a Nanofor 05 genetic analyzer (Synthol, Russia) at the Collective Use Instrumentation Center for Physicochemical “Ultramicroanalysis” of the LIN SB RAS (Ultramicroanalysis Collective Use Center, Irkutsk, Russia). Nucleotide sequence analysis was performed using the Chromos software (Technelysium Pty Ltd, Australia). All sequences are deposited in GenBank (Table 1).

2.3. Phylogenetic analysis

The datasets for 18S rRNA, *cox1*, and *rbcl* gene fragments for phylogenetic reconstruction contained

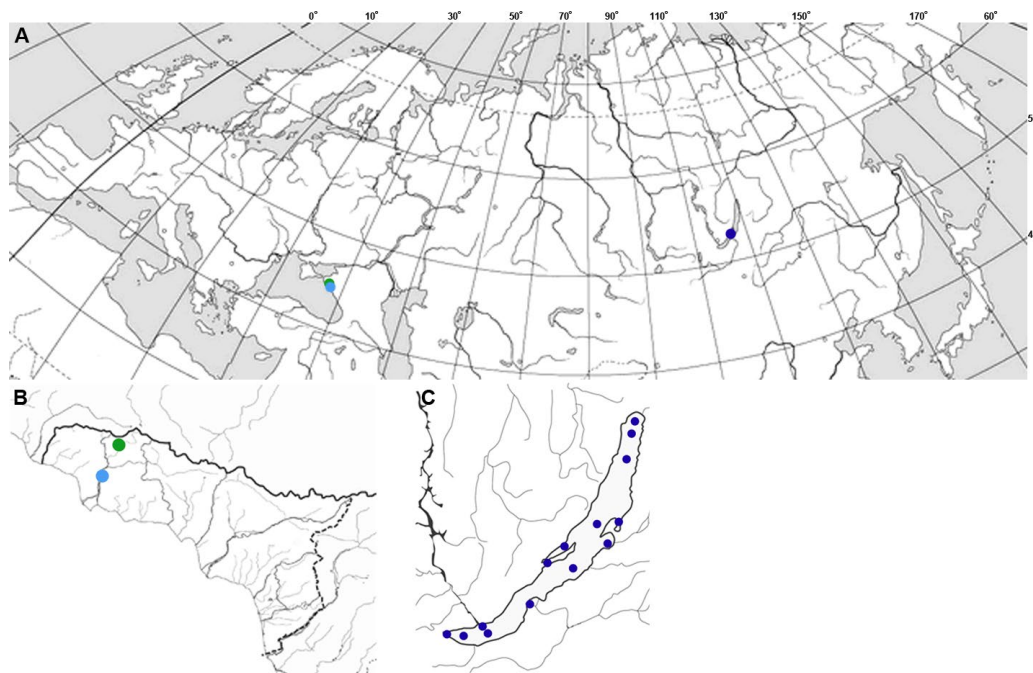


Fig.1. Map showing phytoplankton sampling stations. A) Map of Eurasia; B) Territory of the Republic of Abkhazia; C) Lake Baikal. Blue dots – sampling stations of Lake Baikal (Russia); light blue dot – Lake Goluboe (Republic of Abkhazia); green dot – Lake Ritsa (Republic of Abkhazia).

the sequences obtained in this work and homologs from the NCBI database (Table 1, Supplementary Table S1). Sequence alignment was performed using the MAFFT online resource (<https://mafft.cbrc.jp/>). Molecular evolution models were built based on the Bayesian information criterion (BIC) in IQ-TREE v. 2.3.6 (Minh et al., 2020) using the ModelFinder module (Kalyaanamoorthy et al., 2017). The ultrafast bootstrap values (Hoang et al., 2018) and the approximate likelihood ratio test SH-aLRT (Guindon et al., 2010) were used to assess the support for tree topology. Based on the lowest Bayesian information criterion (BIC) value, the TPM2u + F + I + G4 model was selected for the phylogenetic reconstruction of *cox1* genes, the TN + F + I + R2 model for 18S rRNA genes, and the GTR + F + G4 model for *rbcL*.

3. Results and discussion

For initial identification of the strains, we analyzed the 18S rRNA gene fragment sequences for all strains used in this work (Table 1) to confirm species affiliation. The results of phylogenetic reconstruction (Fig. 2) show that the analyzed sequences are assigned to clades corresponding to the genera *Ulnaria* and *Fragilaria*. Pennate diatoms of the genus *Ulnaria* are very often the dominant species in freshwater microalgae communities. Representatives of the genus, together with the closely related genus *Fragilaria*, are subject to constant revision (Williams and Round, 1987; Aboal et al., 2003; Tuji and Williams, 2013; Lange-Bertalot and Ulrich, 2014; Williams and Blanco, 2019; Williams, 2024). However, in some cases, the morphological differences between species are so subtle that scanning electron microscopy or molecular biology methods are required (Zakharova et al., 2023). It has been previously shown that using a fragment of the 18S rRNA

gene, including the variable regions V3-V4, it is possible to fairly confidently establish the species affiliation of the studied specimens to *U. acus* or *F. radians*, as well as to the species complex of *U. ulna* and *U. danica* (Morozov et al., 2023; Zakharova et al., 2023).

Within the *Fragilaria* clade, a separate group with high reliability includes strains isolated from phytoplankton samples of Lake Baikal (Russia) and identified as the species *F. radians* (Fig. 2). Within the *Ulnaria* clade, two groups are distinguished. The *U. acus* group contains sequences of *U. acus* strains isolated from Lake Baikal (Russia), as well as published *U. acus* sequences from Lake Ritsa (Abkhazia) and Lake Matana (Indonesia) (Table S1). The *U. danica* / *U. ulna* group contains sequences of strains of these species from Lake Ritsa (Abkhazia), Lake Goluboe (Abkhazia), Lake Baikal (Russia), and strains isolated from water bodies in South Korea, France, and Italy (Fig. 2, Table S1). The absence of separation between representatives of these two species based on the analysis of data from different variable regions of 18S rRNA has also been shown previously (Morozov et al., 2023; Zakharova et al., 2023). It should be noted that *U. ulna* and *U. danica* have similar morphology in general features and at the same time a number of subtle distinctive ones (Zakharova et al., 2023), which, together with differences in geographic localization and reproductive isolation (Podunay, 2022), do not allow their unification into a single species.

The level of 18S rRNA divergence in diatoms in comparison with other marker genes (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit – *rbcL*, cytochrome C oxidase subunit 1 – *cox1*, internal transcribable spacer – ITS, universal plastid amplicon – UPA) showed that the rate of mutation accumulation in the *cox1* gene is higher than in other genes (Guo et al., 2015). Phylogenetic analysis of the *cox1* gene

Table 1. Name of the studied strains

Strain	Species	Sampling location	18S rRNA sequence number in GenBank	cox1 GenBank sequence number	GenBank sequence number of rbcL
Russia, Lake Baikal					
BZ 5	<i>U. acus</i>	Bargusinsky Bay	PQ456333	PQ497024	
BZ 251	<i>U. danica</i>		OP159836	PQ497061	OP169177
BZ 261			PQ456352	PQ497043	PQ541091
BZ 263			PQ456353	PQ497044	
ACH 275	<i>F. radians</i>	Akademician Ridge	PQ472489	PQ497025	PQ541090
MM 118	<i>U. acus</i>	Cape Zunduk	PQ456347	PQ497040	
MM 609	<i>U. danica</i>	Strait Olkhon Gate	PQ456366	PQ497050	
M-S278	<i>F. radians</i>	center of the Maritui-Solzan section	PQ456348		
M-S586			PQ456351		
M-S 607	<i>U. acus</i>		PQ456344	PQ497037	
5K557	<i>U. danica</i>	5 km from the Kharauz Bayou, delta of the Selenga River	PQ456355	PQ497046	
5KH561			PQ456356	PQ497027	PQ541092
ChZ519	<i>U. danica</i>	Chivyркуysky Bay	PQ456354	PQ497045	PQ541095
L549	<i>U. acus</i>	near the settlement of Listvyanka	PQ456334	PQ497026	
B-T577	<i>U. acus</i>	center of the Baikal-Turali section	PQ456335	PQ497028	
B-T605			PQ456343	PQ497036	
T-N578	<i>F. radians</i>	center of the Tyya-Nemnyanka section	PQ456349		
T-N 579	<i>U. acus</i>		PQ456336	PQ497029	
Y-T 594	<i>U. acus</i>	center of the Wuhan-Tong section	PQ456340	PQ497033	
Y-T 581			PQ456337	PQ497030	
Y-T 580	<i>F. radians</i>		PQ456350		
K-A 598	<i>U. danica</i>	center of the Kotelnikovskiy-Amundakan section	PQ456364	PQ497047	
15K 588	<i>U. acus</i>	15 km from the Kultuk	PQ456338	PQ497031	
15K 589			PQ456339	PQ497032	
L-T 600	<i>U. acus</i>	center of the Listvyanka-Tankhoy section	PQ456341	PQ497034	
L-T 604			PQ456342	PQ497035	
L-T 602	<i>U. danica</i>		PQ456365	PQ497049	
Republic of Abkhazia					
G.21.0309-OE-1	<i>U. ulna</i>	Lake Goluboye	PQ456367	PQ497051	
G.21.0309-OE-3			PQ456361	PQ497038	PQ541088
G.21.0309-OE-4			PQ456357	PQ497053	
G.21.0309-OF-5			PQ456369	PQ497054	
G.21.0309-OG-7			PQ456371	PQ497056	
G.21.0309-OE-8			PQ456360	PQ497057	PQ541094
R.21.0309-OE-2		Lake Ritsa	PQ456368	PQ497052	
R.21.0309-OQ-6			PQ456370	PQ497055	PQ541093
R.21.0309-OI-9			PQ456372	PQ497058	PQ541089
R.21.0309-OE1-10			PQ456362	PQ497059	
R.21.0309-001-11			PQ456359	PQ497060	
R.21.0309-001-12	<i>U. acus</i>	PQ456345	PQ497039		

fragment makes it possible to distinguish between genotypes of the same diatom species isolated from geographically distant points (Ehara et al., 2000; Evans et al., 2007; Hamsher et al., 2011), including representatives of the genus *Ulnaria* (Marchenkov et al., 2022). Thus, the use of this gene is appropriate for establishing genetic differentiation in natural populations of the species *U. ulna* and *U. danica*.

The choice of “universal” primers for *cox1* of diatoms is a rather complex task due to the high degree of divergence and the presence of extended introns within the genes. The use of primers designed for the *cox1* gene fragment of *U. acus* did not give a positive response with the species *U. ulna* and *U. danica* (Table 2). This result led to the need to design primers specific only for these species. For the first time, we obtained *cox1* sequences for all strains that, based on the analysis of the 18S rRNA gene fragment, were assigned to the *U. ulna* and *U. danica* group (Table 1).

The analysis showed the formation of a common group corresponding to the genus *Ulnaria*. The *cox1* sequences of *U. ulna* and *U. danica* strains are not divided into separate clades of species order (Fig. 3). The analysis formed three clades representing different genotypes. Clades 1 and 2 contain sequences of *U. ulna* and *U. danica* from Lake Baikal and lakes of Abkhazia, as well as from water bodies of continental Europe (Table S1). Thus, these genotypes can be found in geographically distant water bodies. The geographical limits of the distribution of these species in Eurasia were previously shown (Podunay, 2022). The author notes that *U. ulna* is widespread in the western part of the Eurasian continent, while *U. danica* inhabits water bodies of the eastern part. Populations of *U. ulna* are capable of interspecific hybridization with populations of *U. danica* located in the West Siberian Lowland and to the east of it up to Lake Baikal (Podunay, 2022). According to the latest data, only *U. danica* is present in the phytoplankton of Lake Baikal (Zakharova et al., 2023). Clade 3 contains only sequences of strains from Lake Baikal (Fig. 3). Due to the small amount of data, we cannot reliably state that this genotype has geographical limitations in distribution. Thus, it was shown that, according to the *cox1* gene fragment, the populations of *U. ulna* and *U. danica* of Lake Ritsa and Goluboe, as well as Lake Baikal, are heterogeneous. It should be noted that data on *cox1* in representatives of the genus *Ulnaria* are

Table 2. Sequences of primers used in this study

Primer	Subsequence (5' – 3')
18S_1F (Katana et al., 2001)	AACCTGGTTGATCCTGCCAGT
18S_1050R (Guo et al., 2015)	GTTTCAGHCTTGCGACCATACTCC
Ua_cox1_1F (Marchenkov et al., 2022)	ATGAAGTTTGCTAATCGATGGT
Ua_cox1_714R (Marchenkov et al., 2022)	AAAAAGGTGTTGGAACAGTACAG
Uu_cox1_72F	AGCTATTTCCGGTGTAGCGGGTAC
Uu_cox1_624R	AGTCCTGCCAACACAGGTAAG
rbcL-F (Zakharova et al., 2020)	ATGTCTCAATCTGTATCAGAACGG
rbcL-R (Zakharova et al., 2020)	CAACCTTGTAAGTCTCACTATTC

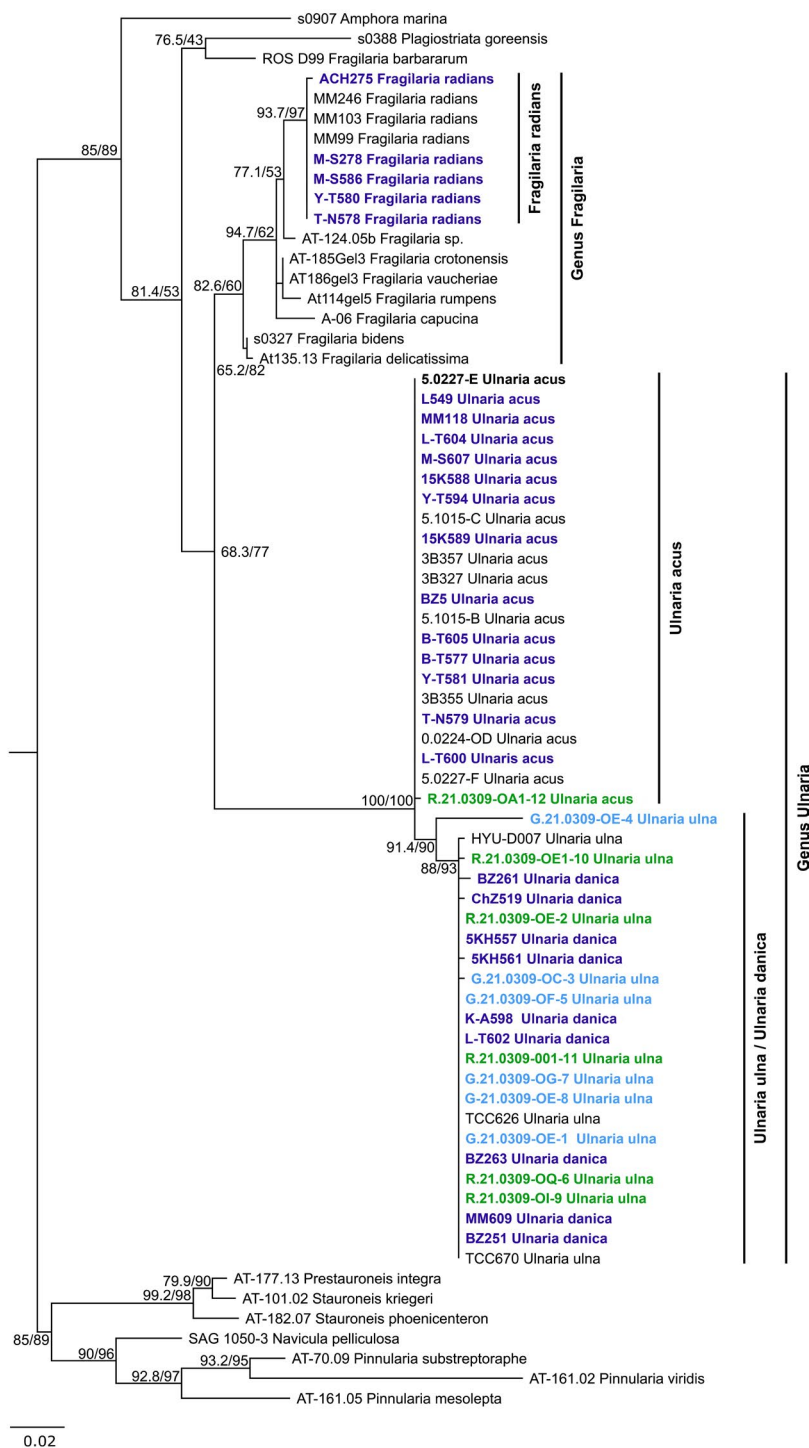


Fig.2. Phylogenetic reconstruction based on the 18S gene fragment. Nodes for key clusters determine the support for the superfast bootstrap topology and the approximate likelihood ratio of SH-aLRT. The sequences obtained in this work are highlighted in color: blue – Russia, Lake Baikal; green – Abkhazia, Lake Ritsa, light blue – Abkhazia, Lake Goluboe.

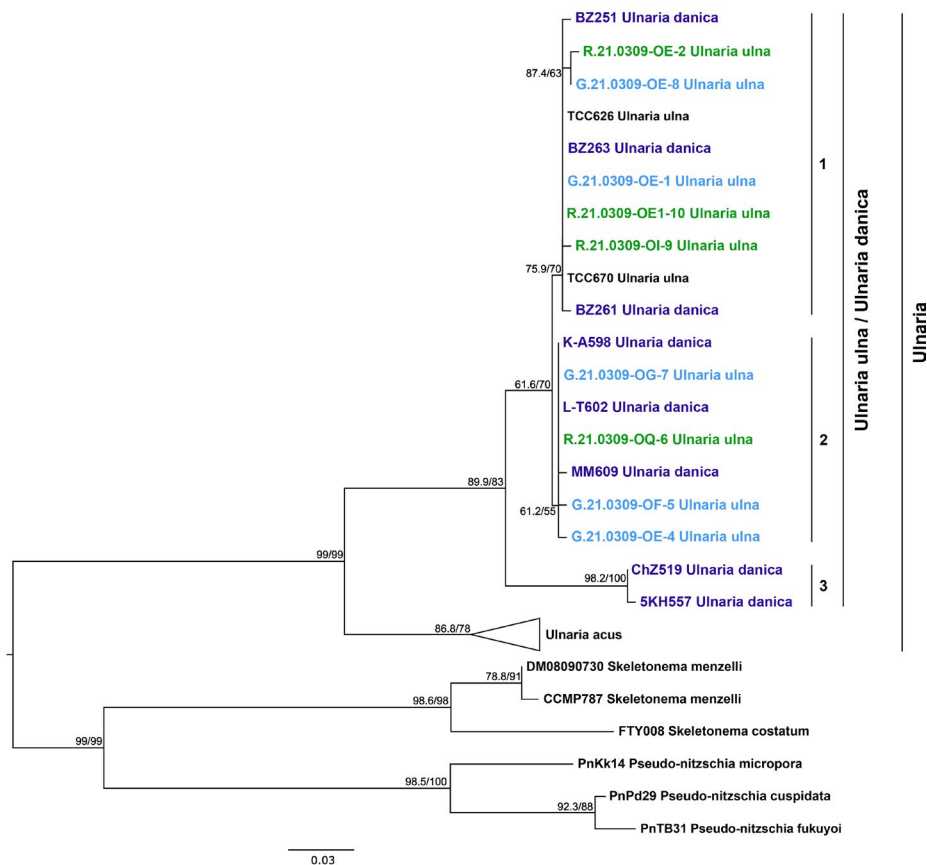


Fig.3. Phylogenetic reconstruction based on a fragment of the *cox1* gene. Nodes for key clusters determine the support for the superfast bootstrap topology and the approximate likelihood ratio of SH-aLRT. The sequences obtained in this work are highlighted in color: blue – Russia, Lake Baikal; green – Abkhazia, Lake Ritsa, light blue – Abkhazia, Lake Goluboe.

scarce. Previously obtained data on the heterogeneity of the *U. acus* population refer to the northern basin of Lake Baikal. Baikal (Marchenkov et al., 2022).

When comparing the results of phylogenetic analysis for two marker genes 18S rRNA and *cox1*, it was noted that three strains are grouped into different clades of the species order (Fig. 4). According to the 18S rRNA analysis, strain ACH275 was located in the clade of the species *F. radians* (Fig. 4 18S rRNA), and strains 5KH561 and G.21.0309-OC-3 were assigned to *U. danica* and *U. ulna* (Fig. 4 18S rRNA). According to the results of phylogenetic analysis of the *cox1* gene fragment, these strains belong to the *U. acus* clade (Fig. 4 *cox1*).

Based on the genetic data we obtained, it could be assumed that hybridization is possible under natural conditions between pairs of species *F. radians* and *U. acus*, *U. danica* and *U. acus*, *U. ulna* and *U. acus*, and the studied strains are first-generation hybrids. However, we have never observed interspecific hybridization between the species *U. danica* and *U. acus* under laboratory conditions (Podunay et al., 2021). Also, the identified fact may indicate the possibility of horizontal gene transfer (HGT) between the studied species, namely the transfer of genetic information between reproductively isolated species. HGT is a process that occurs quite frequently between organisms belonging to taxa of different systematic ranks (Keeling and Palmer, 2008; Garcia

et al., 2021), and can also occur in organisms belonging to the same genus (Kavanaugh et al., 2006; Alvarez et al., 2006). *Cox1* transfer is considered to be a fairly common phenomenon in angiosperms (Zhang et al., 2020). It is suggested that this process occurs through introns that encode a site-specific DNA endonuclease and that part of the exon is replaced by gene conversion (Delahodde et al., 1989; Sanchez-Puerta et al., 2011). HGT is one of the mechanisms for improving the adaptive capabilities of organisms. The contribution of HGT to the development and ecological adaptation of diatoms remains largely unexplored. Diatoms contain plastids formed as a result of multiple endosymbiotic events (Beniston et al., 2017), and therefore their mosaic genetic structure is the result of endosymbiotic gene transfer (EGT) (Morozov and Galachyants, 2019).

To confirm the species affiliation of the strains with possible horizontal transfer (ACH275, 5KH561, G.21.0309-OC-3), a phylogenetic analysis of the *rbcL* gene fragments was additionally performed (Table 2). According to the results obtained, none of the three strains was classified as *U. acus*. Strain ACH275 was classified as *F. radians*. Strain 5KH561 was grouped with other representatives of the *U. danica* species from Lake Baikal, and G.21.0309-OC-3 was combined with other *U. ulna* strains from lakes in Abkhazia, Lake Labyntyr (Yakutia), and water bodies in continental Europe (Fig. 5). Sequences of *U. ulna* strains obtained from

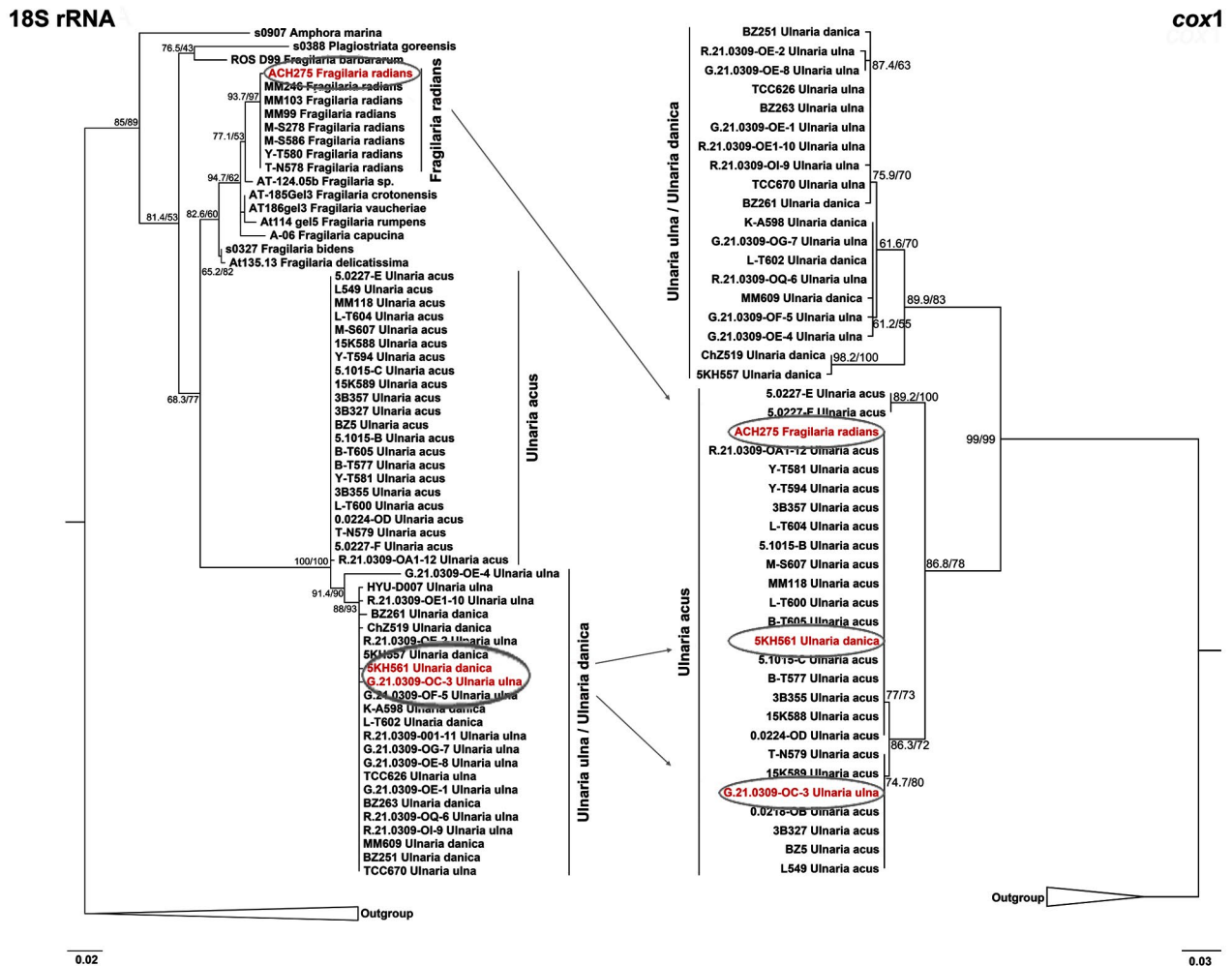


Fig.4. Comparison of phylogenetic reconstruction of 18S rRNA and *cox1* gene fragments. Strains ACH275, 5KH561, G.21.0309-OC-3 are marked in red.

phytoplankton samples from water bodies on Great Britain Island form a separate subgroup in the clade with sequences of *U. danica* from Lake Baikal. Thus, the distribution of *rbcL* sequences for strains ACH275, 5KH561 and G.21.0309-OC-3 corresponds to the result obtained from the analysis of 18S rRNA gene fragments. The topology of the phylogenetic tree obtained by us in this work corresponds to the results of the phylogenetic analysis of representatives of the genus *Ulnaria* using the variable fragment *rbcL* (Kochoska et al., 2023).

4. Conclusions

Diatoms are one of the most diverse groups of microalgae, with a high level of latent speciation. Intraspecific variability of diatoms is necessary to be studied for understanding the processes of adaptation to various environmental conditions. Genetic diversity of marine diatoms has been studied relatively widely, including intraspecific variability, while studies of freshwater species remain limited. Our analysis of the *cox1* gene fragment showed heterogeneity of *U. danica* and *U. ulna* populations from Lake Baikal and lakes of Abkhazia. Data were obtained indicating possible horizontal gene transfer between the studied species. To reveal the processes underlying this phenomenon, it is

necessary to conduct a comparative analysis of the plastid genomes of the species *F. radians*, *U. danica*, *U. ulna* and *U. acus*, which may help to explain some aspects of speciation in diatoms.

Supplementary Materials

Table S1. Characteristics of nucleotide sequences of *cox1*, *rbcL* and 18S rRNA genes

Acknowledgements

The research was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, project number 121032300191-3. Sampling and isolation of strains from Lake Ritsa and Lake Goluboye were carried out within the framework of the project number 124030100100-0.

The authors express their gratitude to PhD Teterena V.I. for assistance in determining nucleotide sequences.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

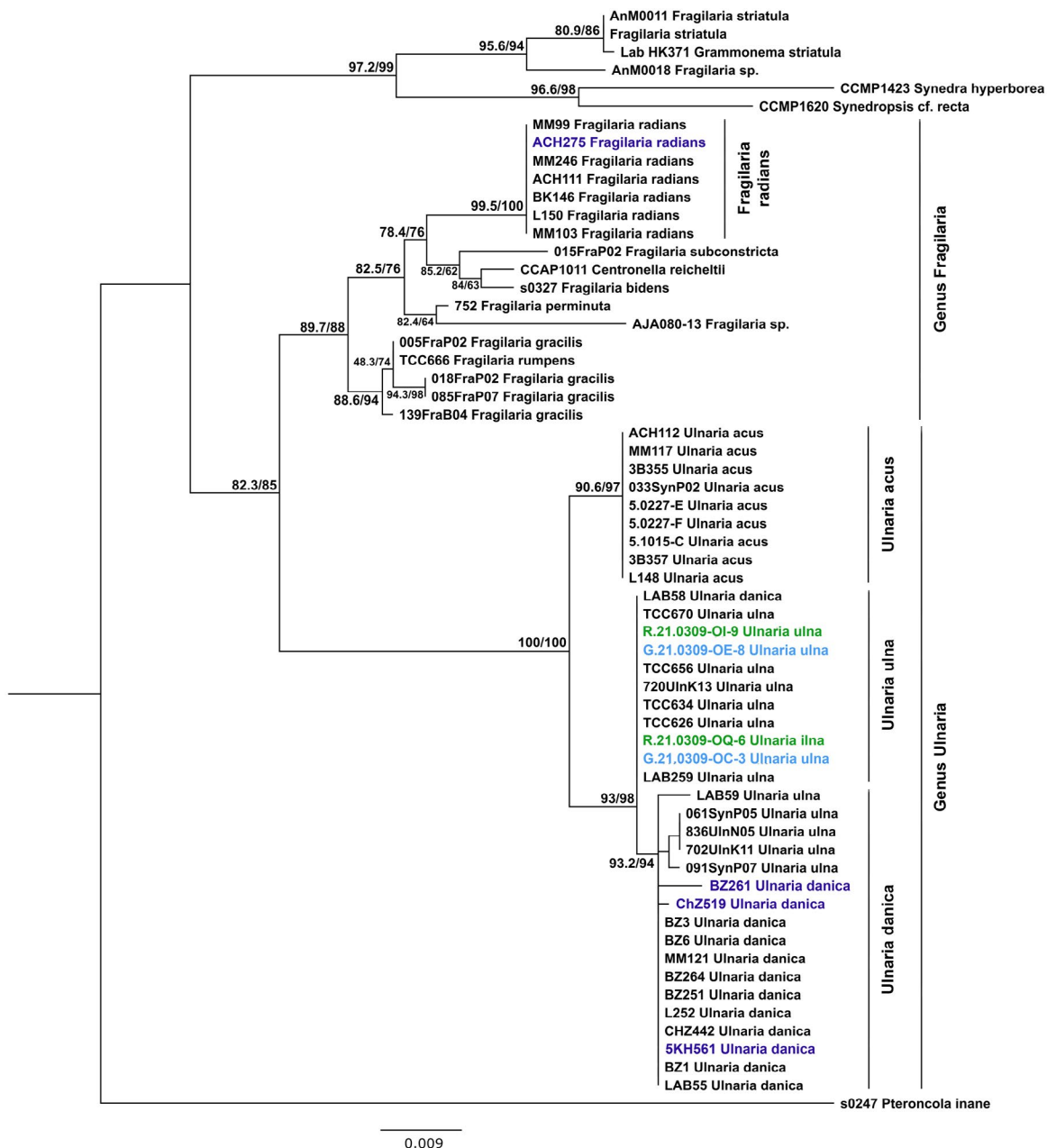


Fig.5. Phylogenetic reconstruction based on the *rbcL* gene fragment. Nodes for key clusters determine the support for the superfast bootstrap topology and the approximate likelihood ratio of SH-aLRT. The sequences obtained in this work are highlighted in color: blue – Russia, Lake Baikal; green – Abkhazia, Lake Ritsa, light blue – Abkhazia, Lake Goluboe.

References

Aboal M., Alvarez-Cobelas M., Cambra J. et al. 2003. Floristic list of non-marine diatoms (Bacillariophyceae) of Iberian Peninsula, Balearic Islands, and Canary Islands. Updated taxonomy and bibliography. *Diatom Monographs* 4: 39.

Alvarez N., Benrey B., Hossaert-McKey M. et al. 2006. Phylogeographic support for horizontal gene transfer involving sympatric bruchid species. *Biology Direct* 1: 1-11. DOI: [10.1186/1745-6150-1-21](https://doi.org/10.1186/1745-6150-1-21)

Armbrust E.V., Galindo H.M. 2001. Rapid evolution of a sexual reproduction gene in centric diatoms of the genus *Thalassiosira*. *Applied and Environmental Microbiology* 0: 3501–13. DOI: [10.1128/AEM.67.8.3501-3513.2001](https://doi.org/10.1128/AEM.67.8.3501-3513.2001)

Benoiston A.S., Ibarbalz F.M., Bittner L. et al. 2017. The evolution of diatoms and their biogeochemical functions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372(1728): 20160397. DOI: [10.1098/rstb.2016.0397](https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0397)

Buesseler K.O. 1998. The decoupling of production and particulate export in the surface ocean. *Global Biogeochemical Cycles* 12(2): 297–310. DOI: [10.1029/97GB03366](https://doi.org/10.1029/97GB03366)

Chen G., Rynearson T.A. 2016. Genetically distinct populations of a diatom co-exist during the North Atlantic Spring bloom. *Limnology and Oceanography* 61(6): 2165-2179. DOI: [10.1002/lno.10361](https://doi.org/10.1002/lno.10361)

Delahodde A., Goguel V., Becam A.M. et al. 1989. Site-specific DNA endonuclease and RNA maturase activities of two homologous intron-encoded proteins from yeast mitochondria. *Cell* 56: 431-441.

Ehara M., Watanabe K.I., Ohama T. 2000. Distribution of cognates of group II introns detected in mitochondrial *cox1* genes of a diatom and a haptophyte. *Gene* 256(1-2): 157-167. DOI: [10.1016/S0378-1119\(00\)00359-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00359-0)

Evans K.M., Hayes P.K. 2004. Microsatellite markers for the cosmopolitan marine diatom *Pseudo-nitzschia pungens*. *Molecular Ecology Notes* 4(1): 125–126. DOI: [10.1111/j.1471-8286.2004.00591.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00591.x)

- Evans K.M., Wortley A.H., Mann D.G. 2007. An assessment of potential diatom «barcode» genes (*cox1*, *rbcl*, 18S and ITS rDNA) and their effectiveness in determining relationships in Sellaphora (Bacillariophyta). *Protist* 158(3): 349–364. DOI: [10.1016/j.protis.2007.04.001](https://doi.org/10.1016/j.protis.2007.04.001)
- Field C.B. 1998. Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281: 237–240. DOI: [10.1126/science.281.5374.237](https://doi.org/10.1126/science.281.5374.237)
- Finlay B.J., Monaghan E.B., Maberly S.C. 2002. Hypothesis: The Rate and Scale of Dispersal of Freshwater Diatom Species is a Function of their Global Abundance. *Protist* 153: 261–273. DOI: [10.1078/1434-4610-00103](https://doi.org/10.1078/1434-4610-00103)
- Garcia L.E., Edera A.A., Palmer J.D. et al. 2021. Horizontal gene transfers dominate the functional mitochondrial gene space of a holoparasitic plant. *New Phytologist* 229(3): 1701–1714. DOI: [10.1111/nph.16926](https://doi.org/10.1111/nph.16926)
- Godhe A., McQuoid M.R., Karunasagar I. et al. 2006. Comparison of three common molecular tools for distinguishing among geographically separated clones of the diatom *Skeletonema marinoi* Sarno et Zingone (Bacillariophyceae). *Journal of phycology* 42(2): 280–291. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2006.00197.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00197.x)
- Godhe A., Rynearson T. 2017. The role of intraspecific variation in the ecological and evolutionary success of diatoms in changing environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372(1728): 20160399. DOI: [10.1098/rstb.2016.0399](https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0399)
- Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V. et al. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology* 59(3): 307–321. DOI: [10.1093/sysbio/syq010](https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010)
- Guiry M.D. Guiry G.M. 2024. AlgaeBase. World-wide electronic publication, University of Galway. URL: <https://www.algaebase.org> (searched on 31.10. 2024).
- Guo L., Sui Z., Zhang S. et al. 2015. Comparison of potential diatom «barcode» genes (the 18S rRNA gene and ITS, COI, *rbcl*) and their effectiveness in discriminating and determining species taxonomy in the Bacillariophyta. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 65: 1369–1380. DOI: [10.1099/ijs.0.000076](https://doi.org/10.1099/ijs.0.000076)
- Hamsher S.E., Evans K.M., Mann D.G. et al. 2011. Barcoding diatoms: exploring alternatives to COI-5P. *Protist* 162(3): 405–422. DOI: [10.1016/j.protis.2010.09.005](https://doi.org/10.1016/j.protis.2010.09.005)
- Hoang D.T., Chernomor O., Von Haeseler A. et al. 2018. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular biology and evolution* 35(2): 518–522. DOI: [10.1093/molbev/msx281](https://doi.org/10.1093/molbev/msx281)
- Jewson D.H. 1992. Size reduction, reproductive strategy and the life cycle of a centric diatom. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 335:191–213. DOI: [10.1098/rstb.1992.0056](https://doi.org/10.1098/rstb.1992.0056)
- Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F. et al. 2017. ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods* 14: 587–589. DOI: [10.1038/nmeth.4285](https://doi.org/10.1038/nmeth.4285)
- Katana A., Kwiatowski J., Spalik K. et al. 2001. Phylogenetic position of *Koliella* (Chlorophyta) as inferred from nuclear and chloroplast small subunit rDNA. *Journal of phycology* 37(3): 443–451. DOI: [10.1046/j.1529-8817.2001.037003443.x](https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.037003443.x)
- Kavanaugh L.A., Fraser J.A., Dietrich F.S. 2006. Recent evolution of the human pathogen *Cryptococcus neoformans* by intervarietal transfer of a 14-gene fragment. *Molecular Biology and Evolution* 23: 1879–1890. DOI: [10.1093/molbev/msl070](https://doi.org/10.1093/molbev/msl070)
- Keeling P., Palmer J. 2008. Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution. *Nature Reviews Genetics* 9: 605–618. DOI: [10.1038/nrg2386](https://doi.org/10.1038/nrg2386)
- Kochoska H., Chardon C., Chonova T. et al. 2023. Filling reference libraries with diatom environmental sequences: strengths and weaknesses. *Diatom Research* 38(2): 103–127. DOI: [10.1080/0269249X.2023.2237977](https://doi.org/10.1080/0269249X.2023.2237977)
- Lange-Bertalot H., Ulrich S. 2014. Contributions to the taxonomy of needle-shaped *Fragilaria* and *Ulnaria* species. *Lauterbornia* 78: 1–73.
- Malviya S., Scalco E., Audic S. et al. 2016. Insights into global diatom distribution and diversity in the world's ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113: E1516–E1525. DOI: [10.1073/pnas.1509523113](https://doi.org/10.1073/pnas.1509523113)
- Mann D.G., Vanormelingen P. 2013. An inordinate fondness? The number, distributions, and origins of diatom species. *Journal of eukaryotic microbiology* 60(4): 414–420. DOI: [10.1111/jeu.12047](https://doi.org/10.1111/jeu.12047)
- Marchenkov A.M., Petrova D.P., Morozov A.A. et al. 2018. A family of silicon transporter structural genes in a pennate diatom *Synedra ulna* subsp. danica (Kütz.) Skabitsch. *PLoS One* 13(8): e0203161. DOI: [10.1371/journal.pone.0203161](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203161)
- Marchenkov A.M., Zakharova Y.R., Volokitina N.A. et al. 2022. Genotypic diversity of *Ulnaria acus* (Kütz.) Aboal from Eurasia. *Limnology and Freshwater Biology* 6: 1705–1711. DOI: [10.31951/2658-3518-2022-A-6-1705](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2022-A-6-1705)
- Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O. et al. 2020. IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution* 37: 1530–1534. DOI: [10.1093/molbev/msaa015/](https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015/)
- Montesor M., Vitale L., D'Alelio D. et al. 2016. Sex in marine planktonic diatoms: insights and challenges. *Perspectives in Phycology* 3: 61–75. DOI: [10.1127/pip/2016/0045](https://doi.org/10.1127/pip/2016/0045)
- Morozov A., Galachyants Y., Marchenkov A. et al. 2023. Revealing the Differences in *Ulnaria acus* and *Fragilaria radians* Distribution in Lake Baikal via Analysis of Existing Metabarcoding Data. *Diversity* 15(280): 1–10. DOI: [10.3390/d15020280](https://doi.org/10.3390/d15020280)
- Morozov A.A., Galachyants Y.P. 2019. Diatom genes originating from red and green algae: Implications for the secondary endosymbiosis models. *Marine Genomics* 45: 72–78. DOI: [10.1016/j.margen.2019.02.003](https://doi.org/10.1016/j.margen.2019.02.003)
- Nelson D.M., Tréguer P., Brzezinski M.A. et al. 1995. Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global Biogeochemical Cycles* 9: 359–372. DOI: [10.1029/95GB01070](https://doi.org/10.1029/95GB01070)
- Podunay Y.A., Davidovich O.I., Davidovich N.A. 2021. Reproductive compatibility of European populations of two species of *Ulnaria* (Bacillariophyta). *Moscow University Biological Sciences Bulletin* 76(2): 59–64. DOI: [10.3103/S009639252102005X](https://doi.org/10.3103/S009639252102005X)
- Podunay Y.A. 2022. Sexual reproduction, crossing system and biogeography of representatives of the genus *Ulnaria* (Bacillariophyta). Cand. Sc. Dissertation, Institute of biology of the south sea named A.O. Kovalevsky RAS, Sevastopol, Russia. (in Russian)
- Pérez-Burillo J., Trobajo R., Leira M. et al. 2021. DNA metabarcoding reveals differences in distribution patterns and ecological preferences among genetic variants within some key freshwater diatom species. *Science of The Total Environment* 798(149029): 0048–9697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2021.149029](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149029)
- Rengfors K., Kremp A., Reusch T.B.H. et al. 2017. Genetic diversity and evolution in eukaryotic phytoplankton: Revelations from population genetic studies. *Journal of Plankton Research* 39: 165–179. DOI: [10.1093/plankt/fbw098](https://doi.org/10.1093/plankt/fbw098)
- Rynearson T.A., Armbrust E.V. 2005. Maintenance of clonal diversity during a spring bloom of the centric diatom *Ditylum brightwellii*. *Molecular Ecology* 14(6): 1631–1640. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2005.02526.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02526.x)

Rynearson T.A., Bishop I.W., Collins S. 2022. The population genetics and evolutionary potential of diatoms. The molecular life of diatoms. Cham: Springer International Publishing: 29-57. DOI: [10.1007/978-3-030-92499-7_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-92499-7_2)

Rynearson T.A., Newton J.A., Armbrust E.V. 2006. Spring bloom development, genetic variation and population succession in the planktonic diatom *Ditylum brightwellii*. *Limnology and Oceanography* 51: 1249-1261. DOI: [10.4319/lo.2006.51.3.1249](https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.3.1249)

Rynearson T.A., Virginia Armbrust E. 2004. Genetic differentiation among populations of the planktonic marine diatom *Ditylum brightwellii* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology* 40(1): 34-43. DOI: [10.1046/j.1529-8817.2004.03089.x](https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2004.03089.x)

Sanchez-Puerta M.V., Abbona C.C., Zhuo S. et al. 2011. Multiple recent horizontal transfers of the *cox1* intron in Solanaceae and extended co-conversion of flanking exons. *BMC evolutionary biology* 11: 1-15. DOI: [10.1186/1471-2148-11-277](https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-277)

Sarthou G., Timmermans K.R., Blain S. et al. 2005. Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research* 53(1-2): 25-42. DOI: [10.1016/j.seares.2004.01.007](https://doi.org/10.1016/j.seares.2004.01.007)

Smetacek V. 1999. Diatoms and the ocean carbon cycle. *Protist* 150: 25-32. DOI: [10.1016/S1434-4610\(99\)70006-4](https://doi.org/10.1016/S1434-4610(99)70006-4)

Szűcs M., Vahsen M.L., Melbourne B.A. et al. 2017. Rapid adaptive evolution in novel environments acts as an architect of population range expansion. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114(51): 13501-13506. DOI: [10.1073/pnas.1712934114](https://doi.org/10.1073/pnas.1712934114)

Thompson A.S. 1988. Culture collection of algae and protozoa catalogue of strains. Ambleside, United Kingdom: Natural Environment Research Council, Freshwater Biological Association 164.

Tréguer P., Nelson D.M., Van Bennekom A.J. et al. 1995. The silica balance in the world ocean: a reestimate. *Science* 268(5209): 375-379. DOI: [10.1126/science.268.5209.37](https://doi.org/10.1126/science.268.5209.37)

Tréguer P., Pondaven P. 2000. Silica control of carbon dioxide. *Nature* 406: 358-359. DOI: [10.1038/35019236](https://doi.org/10.1038/35019236)

Tuji A., Williams D.M. 2013. Examination of types in the *Fragilaria vaucheriae-intermedia* species complex. *Bulletin of the National Museum of Natural Science, series B, Botany* 39(1): 1-9.

Vanormelingen P., Evans K.M., Mann D.G. et al. 2015. Genotypic diversity and differentiation among populations of two benthic freshwater diatoms as revealed by microsatellites. *Molecular Ecology* 24(17): 4433-4448. DOI: [10.1111/mec.13336](https://doi.org/10.1111/mec.13336)

Williams D.M., Blanco S. 2019. Studies on type material from Kützing's diatom collection II: *Synedra acus* Kützing, *Synedra arcus* Kützing, their morphology, types and nomenclature. *Diatom Research* 34: 237-250. DOI: [10.1080/0269249X.2020.1711534](https://doi.org/10.1080/0269249X.2020.1711534)

Williams D.M., Round F.E. 1987. Revision of the genus *Fragilaria*. *Diatom Research* 2: 267-288. DOI: [10.1080/0269249X.1987.9705004](https://doi.org/10.1080/0269249X.1987.9705004)

Williams D.M. 2024. Ubiquitous names and ubiquitous species: examples from *Synedra acus* (*Ulnaria acus*), *S. ulna* (*Ulnaria ulna*) and *S. goulardii* (*Ulnaria goulardii*) *Diatom Research*: 1-12. DOI: [10.1080/0269249X.2024.2412849](https://doi.org/10.1080/0269249X.2024.2412849)

Wolf K.K., Romanelli E., Rost B. et al. 2019. Company matters: The presence of other genotypes alters traits and intraspecific selection in an Arctic diatom under climate change. *Global change biology* 25(9): 2869-2884. DOI: [10.1111/gcb.14675](https://doi.org/10.1111/gcb.14675)

Zakharova Y., Marchenkov A., Petrova D. et al. 2023. Delimitation of Some Taxa of *Ulnaria* and *Fragilaria* (Bacillariophyceae) Based on Genetic, Morphological Data and Mating Compatibility. *Diversity* 15(271): 1-26. DOI: [10.3390/d15020271](https://doi.org/10.3390/d15020271)

Zakharova Y.R., Bedoshvili Y.D., Petrova D.P. et al. 2020. Morphological description and molecular phylogeny of two diatom strains from the genus *Ulnaria* (Kützing) Compere isolated from an ultraoligotrophic lake at the Pole of Cold in the Northern Hemisphere, Republic of Sakha (Yakutia), Russia. *Cryptogamie, Algologie* 41: 37-45. DOI: [10.5252/cryptogamie-algologie2020v41a6](https://doi.org/10.5252/cryptogamie-algologie2020v41a6)

Zhang C., Ma H., Sanchez-Puerta M.V. et al. 2020. Horizontal gene transfer has impacted *cox1* gene evolution in *Cassiothya filiformis*. *Journal of Molecular Evolution* 88: 361-371. DOI: [10.1007/s00239-020-09937-1](https://doi.org/10.1007/s00239-020-09937-1)

Генетическое разнообразие популяций пресноводных диатомовых водорослей *Ulnaria danica* (Kützing) Compère & Bukhtiyarova и *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Compère

Марченков А.М.^{1*}, Налимова М.А.¹, Захарова Ю.Р.¹, Давидович Н.А.², Давидович О.И.², Подунай Ю.А.², Петрова Д.П.¹

¹ Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Улан-Баторская, 3, г. Иркутск, 664033, Россия

² Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН, ул. Науки, 24, пос. Курортное, 298188, Феодосия, Россия

АННОТАЦИЯ. Бесшовные диатомовые водоросли из рода *Ulnaria* являются доминирующими видами во многих пресноводных экосистемах Евразии. Популяции диатомовых водорослей являются генетически неоднородными и представляют собой сочетание разных генотипов. Генетическое разнообразие является необходимым фактором для адаптации к различным условиям окружающей среды и успешного расселения видов. Мы проанализировали генетическое разнообразие видов *Ulnaria danica* и *Ulnaria ulna* на примере моноклональных штаммов, выделенные из географически удаленных друг от друга водоемов континентальной части Евразии озера Рица, озера Голубое и озера Байкал. При филогенетическом анализе фрагментов гена *cox1* исследуемых штаммов впервые была показана гетерогенность популяций и отсутствие географической изоляции для отдельных генотипов исследуемых видов. Путем анализа маркерных генов 18S рРНК, *rbcL* и *cox1*, установлена возможность горизонтального переноса генов между близкородственными видами *Fragilaria radians*, *Ulnaria acus*, *U. danica* и *U. ulna*.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, генетическое разнообразие, горизонтальный перенос генов, *cox1*, 18S рРНК, *rbcL*, *Ulnaria*

Для цитирования: Марченков А.М., Налимова М.А., Захарова Ю.Р., Давидович Н.А., Давидович О.И., Подунай Ю.А., Петрова Д.П. Генетическое разнообразие популяций пресноводных диатомовых водорослей *Ulnaria danica* (Kützing) Compère & Bukhtiyarova и *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Compère // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 6. - С. 1471-1490. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-6-1471

1. Введение

Одноклеточные диатомовые водоросли являются важным игроком как в пресноводных, так и морских экосистемах. Роль диатомей обуславливается в том числе и тем, что они производят примерно 40% первичной продукции в мировом океане (Field, 1998; Smetacek, 1999; Tréguer and Pondaven, 2000), а также участвуют в биогеохимических циклах углерода (C), азота (N), фосфора (P), кремния (Si) и железа (Fe) (Nelson et al., 1995; Tréguer et al., 1995; Buesseler, 1998; Tréguer and Pondaven, 2000; Sarthou et al., 2005; Benoiston et al., 2017). Они также являются начальным звеном пищевых цепей в водных экосистемах. Понимание их значения в экосистеме приводит к выводам о необходимости их всесторонних исследований.

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: marchenkov.am@bk.ru (А.М. Марченков)

Поступила: 11 ноября 2024; Принята: 18 ноября 2024;

Опубликована online: 25 декабря 2024

Традиционно классификация диатомей построена на морфологии их кремнистого панциря, который обильно орнаментирован различного типа отверстиями (ареолами, порами), выростами и шипами. Строение, расположение и количество которых является видоспецифическим признаком. Согласно недавним работам, существует около 17 000 валидно описанных видов диатомовых водорослей (Guiry and Guiry, 2024), однако их число может вырасти до 100 000 (Mann and Vanormelingen, 2013). При этом многие виды имеют широкое географическое распространение (Finlay et al., 2002). Эти протисты успешно эволюционировали, адаптировавшись к различным условиям окружающей среды и используют широкий спектр экологических ниш (Malviya et al., 2016).

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



Широкое распространение видов безусловно способствует морфологической, физиологической и генетической дифференциации популяций. Генетическое разнообразие играет важную роль в содействии быстрой адаптации к новым условиям окружающей среды (Szűcs et al., 2017). Выявление и отслеживание генетического разнообразия популяций позволяет раскрыть эволюционные механизмы, влияющие на способность к адаптации (Godhe and Ryneerson, 2017; Rengefors et al., 2017). Движущей силой, воздействующей на генетическую структуру популяции и современную эволюцию, является постоянная генетическая изменчивость, определяющая количество вариаций, присутствующих внутри вида. Известно, что популяции диатомовых водорослей являются генетически неоднородными и представляют собой сочетание разных генотипов, что отражает их способность адаптироваться к изменяющейся окружающей среде (Guo et al., 2015; Wolf et al., 2019; Ryneerson et al., 2022). Жизненный цикл диатомовых водорослей включает длительный период вегетативного деления, сменяющийся на короткую репродуктивную фазу. В процессе полового воспроизведения происходит обмен генетическим материалом, который передается потомкам следующего поколения, что помогает поддерживать генетическую гетерогенность (Ryneerson and Armbrust, 2004). Частота половой рекомбинации зависит от продолжительности жизненного цикла, которая для разных видов диатомей составляет от нескольких месяцев до нескольких лет (Jewson, 1992; Montresor et al., 2016).

При благоприятных условиях происходит массовое развитие («цветение») отдельных видов или комплексов видов планктонных диатомей, при этом акцент изучения данного процесса ранее был смещен на изучение влияния условий окружающей среды. Относительно недавно наметился переход к изучению внутривидового генетического разнообразия и микроэволюционных процессов в популяции фитопланктона в период цветения в морских экосистемах (Ryneerson and Armbrust, 2005; Ryneerson et al., 2006; Chen and Ryneerson, 2016). На примере генов, кодирующих Sig1 и β -тубулин, показано, что генетический состав *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G.A.Fryxell & Hasle демонстрирует относительно высокие уровни расхождения последовательностей у изолятов, собранных из разных географических локаций (Armbrust and Galindo, 2001). В то же время исследования генетической структуры популяций *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle и *Skeletonema marinoi* Sarno & Zingone с помощью ITS (internal transcribed spacer) показали, что различные популяции этих видов могут обитать в разных регионах Северной Атлантики и Тихого океана (Evans and Hayes, 2004; Godhe et al., 2006). На примере морской центрической диатомеи *Thalassiosira gravida* Cleve показано, что высокий уровень генетического разнообразия наблюдался во время «цветения» с 02 по 13 мая 2008 г. в Атлантическом океане рядом с Исландией (Chen and Ryneerson, 2016). Для пресноводных экосистем также показано неравно-

мерное распределение отдельных генотипов ряда видов, что, по утверждению авторов, может быть связано с различиями в их экологических предпочтениях (Pérez-Burillo et al., 2021). У пресноводных бентосных диатомей генотипическое разнообразие отличается между популяциями одного и того же вида и иногда заметно сокращается, что может быть связано с чередованием полового и бесполого размножения, поскольку в периоды бесполого размножения генотипическое разнообразие постепенно сокращается в результате естественного отбора (Vanormelingen et al., 2015). Еще одной причиной генетических различий может быть географическая удаленность и изоляция водоемов, которая значительно влияет на формирование и распространение генотипов пресноводных видов (Marchenkov et al., 2022). В совокупности это дает возможность утверждать о внутривидовой генетической гетерогенности присущей как морским, так и пресноводным диатомеям и способности разделения на отдельные популяции, что должно способствовать повышению способности к адаптации.

Цель нашего исследования состояла в том, чтобы определить генетическую дифференциацию в популяциях планктонных пресноводных диатомовых водорослей рода *Ulnaria* (Kützing) Compère. Мы сосредоточили своё внимание на пеннатных бесшовных диатомовых водорослях *Ulnaria danica* (Kützing) Compère & Bukhtiyarova и *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Compère, поскольку они являются близкородственными видами со схожими морфологическими признаками, однако различаются пределами распространения, западная часть Евразийского континента заселена *U. ulna*, а восточная – *U. danica* (Podunay, 2022). В связи с этим был проведен анализ маркерных генов 18S рРНК, *rbcL* и *cox1* у моноклональных штаммов этих видов, выделенных из озер Рица и Голубое Западно-Кавказского региона (республика Абхазия) и озеро Байкал, находящегося в южной части восточной Сибири.

2. Материалы и методы

2.1. Отбор проб и культивирование

В работе были использованы 28 моноклональных штаммов из коллекции живых культур диатомовых водорослей Лимнологического института РАН, выделенные из проб фитопланктона оз. Байкал (Рис. 1, Таблица 1), согласно протоколу, опубликованному ранее (Zakharova et al., 2023), а также 12 штаммов из коллекции диатомовых водорослей Мирового океана (WODC) Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского (Феодосия, Россия) выделенные из проб в оз. Рица и оз. Голубое (Рис. 1, Таблица 1). Клетки выращивали в 100 мл колбах Эрленмейера при 8 °C и освещении 16 мкмоль/м²/с с чередованием дня и ночи 12:12 часов в стерильной среде DM (Diatom Medium) (Thompson, 1988) и пересевали один раз в месяц. Видовая принадлежность исследуемых штаммов была предварительно определена при помощи световой микроскопии.

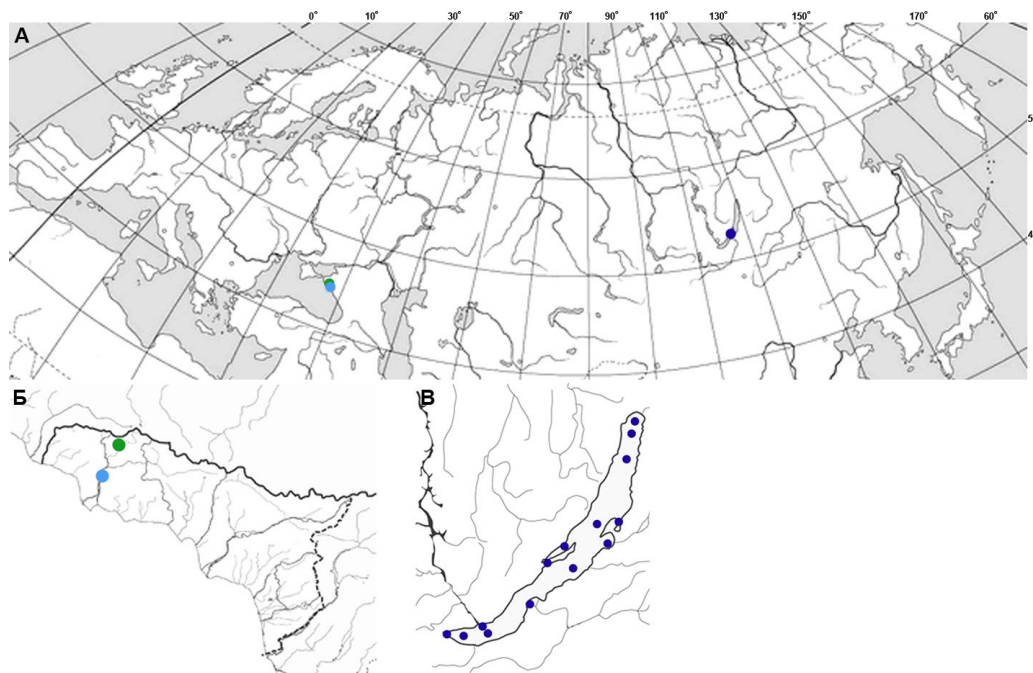


Рис.1. Карта с указанием станции отбора проб фитопланктона. А) Карта Евразий; Б) территория республики Абхазии; В) оз. Байкал. Синий точки – станции отбора проб оз. Байкал (Россия); голубая точка – оз. Голубое (Республика Абхазия); зеленая точка – оз. Рица (Республика Абхазия).

2.2. Экстракция ДНК, ПЦР и секвенирование маркерных генов

ДНК была выделена из биомассы монокультурных штаммов диатомовых водорослей как описано ранее (Marchenkov et al., 2018). Амплификацию фрагментов генов V3-V4 петли 18S рРНК, *rbcl* и *cox1* проводили, используя праймеры, указанные в Таблице 2, и набор *Taq* ДНК-полимераза (Евроген, Россия). Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1,5% агарозном геле и очищали от реакционной смеси с помощью Monarch® DNA Gel Extraction Kit (NEB, США). Секвенирование методом Сэнгера проводили с использованием набора ГенСек (Синтол, Россия) на генетическом анализаторе Нанофор 05 (Синтол, Россия) в Приборном центре коллективного пользования физико-химического ультрамикрoанализа ЛИН СО РАН (ЦКП «Ультрамикрoанализ», Иркутск, Россия). Анализ нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программного обеспечения Chromos (Technelysium Pty Ltd, Австралия). Все секвенированные последовательности депонированы в GenBank (Таблица 1).

2.3. Филогенетический анализ

Наборы данных для фрагментов генов 18S рРНК, *cox1* и *rbcl* для филогенетической реконструкции содержали последовательности, полученные в данной работе, и гомологи из базы данных NCBI (Таблица 1, Приложение Таблица S1). Выравнивание последовательностей проводили при помощи онлайн-ресурса MAFFT (<https://mafft.cbrc.jp/>). Модели молекулярной эволюции были построены на основе байесовского информационного критерия (BIC) в программе IQ-TREE v. 2.3.6 (Minh et

al., 2020) с использованием модуля ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017). Для оценки поддержки топологии деревьев использовали значения сверхбыстрого бутстрепа (Hoang et al., 2018) и тест приблизительного отношения правдоподобия SH-aLRT (Guindon et al., 2010). По наименьшему значению байесовского информационного критерия (BIC) для филогенетической реконструкции генов *cox1* была выбрана модель TPM2u + F + I + G4, для генов 18S рРНК модель TN + F + I + R2, и для *rbcl* модель GTR + F + G4.

3. Результаты и обсуждение

Для первоначальной идентификации штаммов нами были проанализированы последовательности фрагмента гена 18S рРНК для всех штаммов, используемых в данной работе (Таблица 1) для подтверждения видовой принадлежности. Из результатов филогенетической реконструкции (Рис. 2) видно, что анализируемые последовательности соотнесены к кладам, соответствующими родам *Ulnaria* и *Fragilaria*. Пеннатные диатомеи из рода *Ulnaria* очень часто являются доминирующими видами в составе пресноводных сообществ микроводорослей. Представители рода, совместно с близкородственным ему родом *Fragilaria*, подвергаются постоянной ревизии (Williams and Round, 1987; Aboal et al., 2003; Tuji and Williams, 2013; Lange-Bertalot and Ulrich, 2014; Williams and Blanco, 2019; Williams, 2024). Однако, в некоторых случаях морфологические различия между видами настолько тонкие, что требуется применение сканирующей электронной микроскопии или методов молекулярной биологии (Zakharova et al., 2023). Ранее было показано, что, используя фрагмент гена 18S рРНК, включающего в себя переменные регионы V3-V4,

Таблица 1. Наименование исследуемых штаммов

Штамм	Вид	Место отбора проб	Номер последовательности 18S рРНК в GenBank	Номер последовательности <i>cox1</i> в GenBank	Номер последовательности <i>rbcL</i> в GenBank
Озеро Байкал (Россия)					
BZ 5	<i>U. acus</i>	Баргузинский залив	PQ456333	PQ497024	
BZ 251	<i>U. danica</i>		OP159836	PQ497061	OP169177
BZ 261			PQ456352	PQ497043	PQ541091
BZ 263			PQ456353	PQ497044	
ACH 275	<i>F. radians</i>	Академический хребет	PQ472489	PQ497025	PQ541090
MM 118	<i>U. acus</i>	пролив Малое Море, мыс Зундук	PQ456347	PQ497040	
MM 609	<i>U. danica</i>	пролив Малое Море, центр	PQ456366	PQ497050	
M-S278	<i>F. radians</i>	центр разреза Маритуй-Солзан	PQ456348		
M-S586			PQ456351		
M-S 607	<i>U. acus</i>		PQ456344	PQ497037	
5K557	<i>U. danica</i>	5 км от протока Харауз, дельта р. Селенга	PQ456355	PQ497046	
5KH561			PQ456356	PQ497027	PQ541092
ChZ519	<i>U. danica</i>	Чивыркуйский залив	PQ456354	PQ497045	PQ541095
L549	<i>U. acus</i>	недалеко от п. Листвянка	PQ456334	PQ497026	
B-T577	<i>U. acus</i>	центр разреза Байкальское-Турали	PQ456335	PQ497028	
B-T605			PQ456343	PQ497036	
T-N578	<i>F. radians</i>	центр разреза Тья-Немнянка	PQ456349		
T-N 579	<i>U. acus</i>		PQ456336	PQ497029	
Y-T 594	<i>U. acus</i>	центр разреза Ухан-Тонкий	PQ456340	PQ497033	
Y-T 581			PQ456337	PQ497030	
Y-T 580	<i>F. radians</i>		PQ456350		
K-A 598	<i>U. danica</i>	центр разреза Котельниковский - Амундакан	PQ456364	PQ497047	
15K 588	<i>U. acus</i>	15 км от р. п. Култук	PQ456338	PQ497031	
15K 589			PQ456339	PQ497032	
L-T 600	<i>U. acus</i>	центр разреза Листвянка-Танхой	PQ456341	PQ497034	
L-T 604			PQ456342	PQ497035	
L-T 602	<i>U. danica</i>		PQ456365	PQ497049	
Республика Абхазия					
G.21.0309-OE-1	<i>U. ulna</i>	оз. Голубое	PQ456367	PQ497051	
G.21.0309-OE-3			PQ456361	PQ497038	PQ541088
G.21.0309-OE-4			PQ456357	PQ497053	
G.21.0309-OF-5			PQ456369	PQ497054	
G.21.0309-OG-7			PQ456371	PQ497056	
G.21.0309-OE-8			PQ456360	PQ497057	PQ541094
R.21.0309-OE-2		оз. Рица	PQ456368	PQ497052	
R.21.0309-OQ-6			PQ456370	PQ497055	PQ541093
R.21.0309-OI-9			PQ456372	PQ497058	PQ541089
R.21.0309-OE1-10			PQ456362	PQ497059	
R.21.0309-001-11			PQ456359	PQ497060	
R.21.0309-001-12	<i>U. acus</i>		PQ456345	PQ497039	

можно достаточно уверенно установить видовую принадлежность *U. acus* и *F. radians*, а также к комплексу видов *U. ulna* и *U. danica* (Morozov et al., 2023; Zakharova et al., 2023).

В кладе *Fragilaria* с высокой достоверностью отдельно расположена группа, включающая в себя штаммы, выделенные из проб фитопланктона оз. Байкала (Россия) и идентифицированные как вид *F. radians* (Рис. 2). В кладе *Ulnaria* выделяются две группы. Группа *U. acus* содержит последовательности штаммов *U. acus*, выделенных из оз. Байкала (Россия), а также опубликованные последовательности *U. acus* из оз. Рица (Абхазия) и оз. Матана (Индонезия) (Таблица S1). Группа *U. danica* / *U. ulna* содержит последовательности штаммов данных видов из оз. Рица (Абхазия), оз. Голубое (Абхазия), оз. Байкал (Россия) и штаммов, выделенных из водоемов в Южной Корее, Франции и Италии (Рис. 2, Таблица S1). Отсутствие разделения между представителями этих двух видов на основе анализа данных разных варибельных участков 18S рНК было также показано ранее (Morozov et al., 2023; Zakharova et al., 2023). Следует отметить, что *U. ulna* и *U. danica* имеют схожую морфологию в общих чертах и при этом ряд тонких отличительных признаков (Zakharova et al., 2023), что совместно с различиями в географической локализации и репродуктивной изоляцией (Podunay, 2022) не позволяют провести их объединение в один вид.

Уровень дивергенции 18S рНК у диатомей в сравнении с другими маркерными генами (большая субъединица рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы – *rbcL*, субъединица 1 цитохром-С-оксидазы – *cox1*, внутренний транскрибируемый спейсер – ITS, универсальный пластидный ампликон – UPA) показал, что скорость накопления мутаций в гене *cox1* выше, чем у других генов (Guo et al., 2015). Филогенетический анализ фрагмента гена *cox1* позволяет различать генотипы одного и того же вида диатомовых водорослей, выделенные из географически удаленных точек (Ehara et al., 2000; Evans et al., 2007; Hamsher et al., 2011), в том числе и у представителей из рода *Ulnaria* (Marchenkov et al., 2022). Таким образом, использование данного гена целесообразно для установления генетической дифференциации в природных популяциях видов *U. ulna* и *U. danica*.

Таблица 2. Последовательности праймеров, использованных в настоящем исследовании

Праймер	Последовательность (5' – 3')
18S_1F (Katana et al., 2001)	AACCTGGTTGATCCTGCCAGT
18S_1050R (Guo et al., 2015)	GT TTCAGHCTTGCGACCATACTCC
cox1_1F (Marchenkov et al., 2022)	ATGAAGTTTGTAATCGATGGT
cox1_714R (Marchenkov et al., 2022)	AAAAAGTGTTGGAACAGTACAG
Uu_cox1_72F	AGCTATTTCCGGTGTAGCGGGTAC
Uu_cox1_624R	AGCTCCTGCCAACACAGGTAAG
rbcL-F (Zakharova et al., 2020)	ATGTCTCAATCTGTATCAGAACGG
rbcL-R (Zakharova et al., 2020)	CAACCTTGTAAGTCTCACTATTC

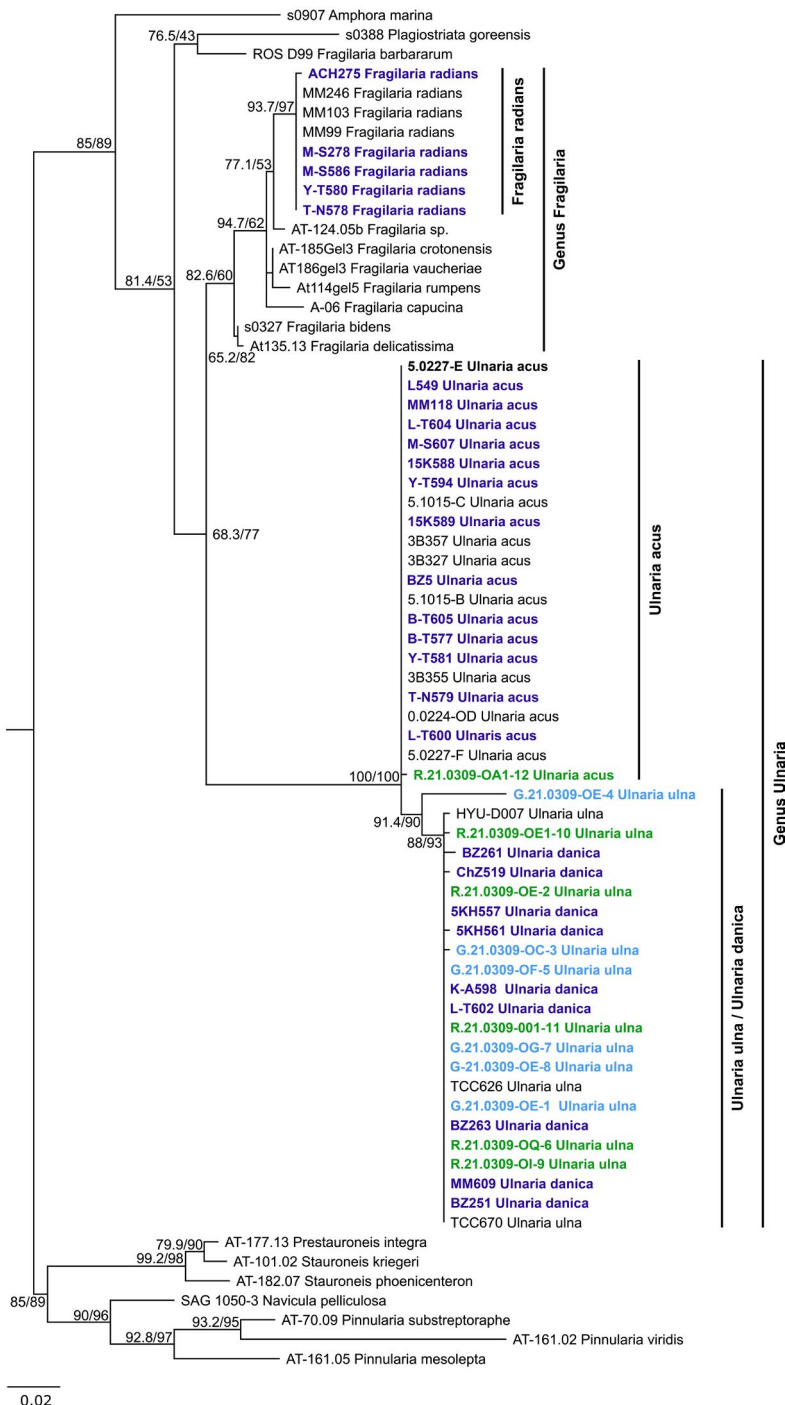


Рис.2. Филогенетическая реконструкция по фрагменту гена 18S. Узлы для ключевых кластеров определяют поддержку топологии сверхбыстрой загрузки и приблизительное отношение правдоподобия SH-aLRT. Последовательности, полученные в данной работе выделены цветом: синие – Россия, оз. Байкал; зеленые – Абхазия, оз. Рица, голубые – Абхазия, оз. Голубое.

Выбор «универсальных» праймеров на *cox1* диатомовых водорослей является достаточно сложной задачей из-за высокой степени дивергенции и наличия протяженных интронов внутри генов. Использование праймеров, сконструированных на фрагмент гена *cox1 U. acus*, не давали положительного ответа с видами *U. ulna* и *U. danica* (Таблица 2). Этот результат привел к необходимости конструирования праймеров специфичных только для данных видов. Нами были впервые получены последовательности *cox1* для всех штаммов, которые по результатам анализа фрагмента гена 18S рРНК были отнесены к группе *U. ulna* и *U. danica* (Таблица 1).

В результате анализа было показано формирование общей группы, соответствующей роду *Ulnaria*. Последовательности *cox1* штаммов *U. ulna* и *U. danica* не разделяются на отдельные клады видового порядка (Рис. 3). При анализе формируются три клады, представляющие собой разные генотипы. Клады 1 и 2 содержат последовательности *U. ulna* и *U. danica* из оз. Байкал и озер Абхазии, а также из водоемов континентальной части Европы (Таблица S1). Таким образом, эти генотипы могут встречаться в географически удаленных водоемах. Ранее были показаны географические пределы распространения данных видов на территории Евразии (Podunay, 2022). Автор отмечает, что *U. ulna* имеет широкое распространение в западной части Евразийского континента, тогда как *U. danica* населяет водоемы восточной части. Популяции *U. ulna*

способны к межвидовой гибридизации с популяциями *U. danica*, находящимися в районе Западно-Сибирской низменности и к востоку от нее вплоть до оз. Байкал (Podunay, 2022). Согласно последним данным в фитопланктоне оз. Байкал присутствует только *U. danica* (Zakharova et al., 2023). Клада 3 содержит только последовательности штаммов из оз. Байкал (Рис. 3). Из-за малого объема данных мы не можем достоверно утверждать, что данный генотип имеет географические ограничения в распространении. Таким образом, было показано, что по фрагменту гена *cox1* популяции *U. ulna* и *U. danica* озера Ризца и. Голубое, а также оз. Байкал являются гетерогенными. Следует отметить, что данные о *cox1* у представителей рода *Ulnaria* немногочисленны. Ранее полученные данные о гетерогенности популяции *U. acus* для северной котловины оз. Байкал (Marchenkov et al., 2022).

При сравнении результатов филогенетического анализа по двум маркерным генам 18S рРНК и *cox1* было отмечено, что три штамма группируются в разные клады видового порядка (Рис. 4). Согласно данным анализа 18S рРНК штамм АСН275 располагался в кладе вида *F. radians* (Рис. 4 18S rRNA), а штаммы 5KH561 и G.21.0309-OC-3 отнесены к *U. danica* и *U. ulna* (Рис. 4 18S rRNA). По результатам филогенетического анализа фрагмента гена *cox1* эти штаммы относятся к кладе *U. acus* (Рис. 4 *cox1*).

На основании полученных нами генетических данных можно предположить, что в естественных

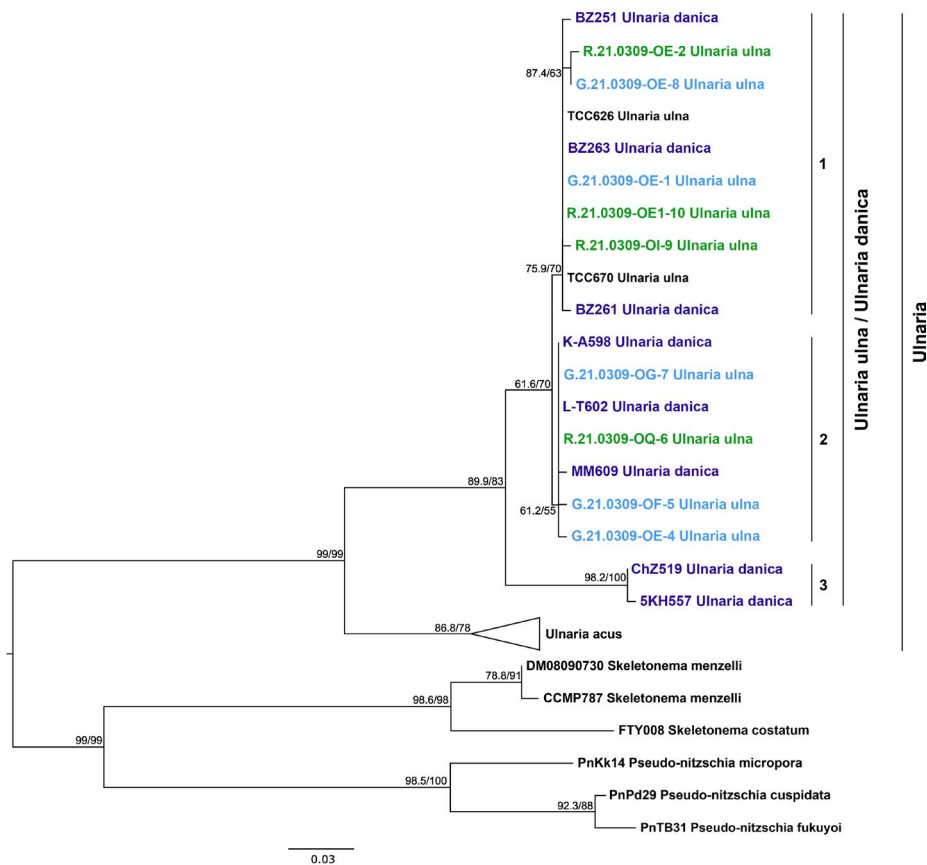


Рис.3. Филогенетическая реконструкция по фрагменту гена *cox1*. Узлы для ключевых кластеров определяют поддержку топологии сверхбыстрой загрузки и приблизительное отношение правдоподобия SH-aLRT. Последовательности, полученные в данной работе выделены цветом: синие – Россия, оз. Байкал; зеленые – Абхазия, оз. Ризца, голубые – Абхазия, оз. Голубое.

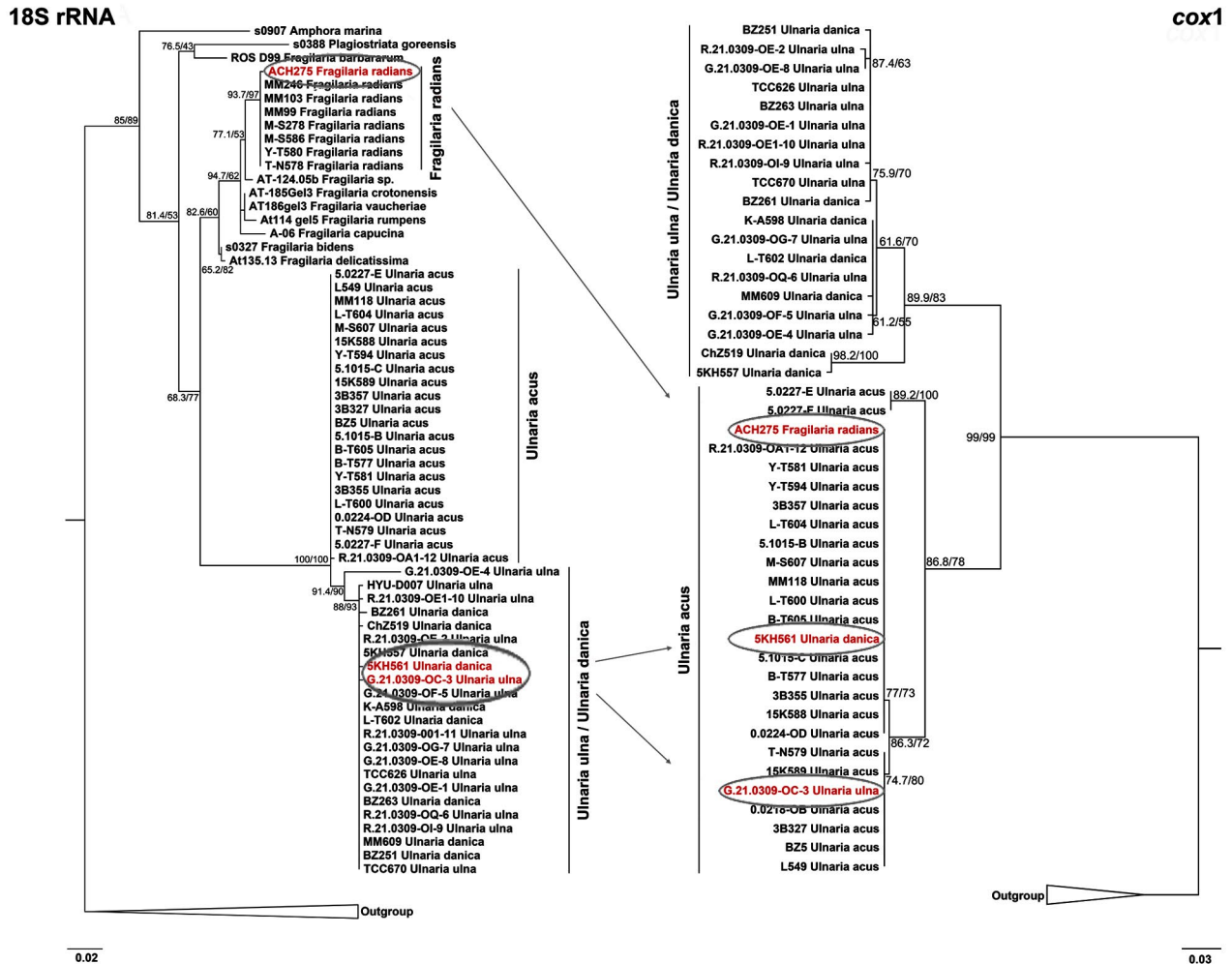


Рис.4. Сопоставление филогенетической реконструкция фрагментов гена 18S рРНК и *cox1*. Штаммы ACH275, 5KH561, G.21.0309-OC-3 отмечены красным цветом.

условиях между парами видов *F. radians* и *U. acus*, *U. danica* и *U. acus*, *U. ulna* и *U. acus* возможна гибридизация, а исследуемые штаммы являются гибридами первого поколения. Однако мы никогда не наблюдали межвидовую гибридизацию между видами *U. ulna* и *U. acus* в лабораторных условиях (Podupa et al., 2021). Также выявленный факт может свидетельствовать о возможности горизонтального переноса генов (ГПГ/НГТ) между исследуемыми видами, а именно передачи генетической информации между репродуктивно изолированными видами. ГПГ процесс, который достаточно часто встречается между организмами относящихся к таксонам разного систематического ранга (Keeling and Palmer, 2008; Garcia et al., 2021), а также может происходить у организмов, относящихся к одному роду (Kavanaugh et al., 2006; Alvarez et al., 2006). Считается, что перенос *cox1* у покрытосеменных является достаточно обычным явлением (Zhang et al., 2020). Есть предположение, что данный процесс происходит посредством интронов, которые кодируют сайт специфическую ДНК эндонуклеазу и с помощью генной конверсии происходит замена части экзона (Delahodde et al., 1989; Sanchez-Puerta et al., 2011). ГПГ является одним из механизмов улучшения адаптивных возможностей организмов. Вклад ГПГ в развитие и экологическую адап-

тацию диатомей остается почти не изученным. Диатомовые водоросли содержат пластиды образованные в результате нескольких событий эндосимбиоза (Benoiston et al., 2017), и, следовательно, их мозаичная генетическая структура является результатом эндосимбиотического переноса генов (ЭПГ EGT) (Morozov and Galachyants, 2019).

Для подтверждения видовой принадлежности штаммов с возможным горизонтальным переносом (ACH275, 5KH561, G.21.0309-OC-3) дополнительно был проведен филогенетический анализ фрагментов гена *rbcL* (Таблица 2). Согласно полученным результатам, ни один из трех штаммов не отнесен к *U. acus*. Штамм ACH275 отнесен к *F. radians*. Штамм 5KH561 группируется вместе с другими представителями вида *U. danica* из оз. Байкал, а G.21.0309-OC-3 объединяется вместе с другими штаммами *U. ulna* из озер Абхазии, оз. Лабынкыр (Якутия) и водоемов континентальной части Европы (Рис. 5). Последовательности штаммов *U. ulna*, полученные из проб фитопланктона водоемов о. Великобритания, образуют отдельную подгруппу в кладе с последовательностями *U. danica* из оз. Байкал. Таким образом, распределение последовательностей *rbcL* для штаммов ACH275, 5KH561 и G.21.0309-OC-3 соответствует результату, полученному при анализе фрагментов гена 18S рРНК.

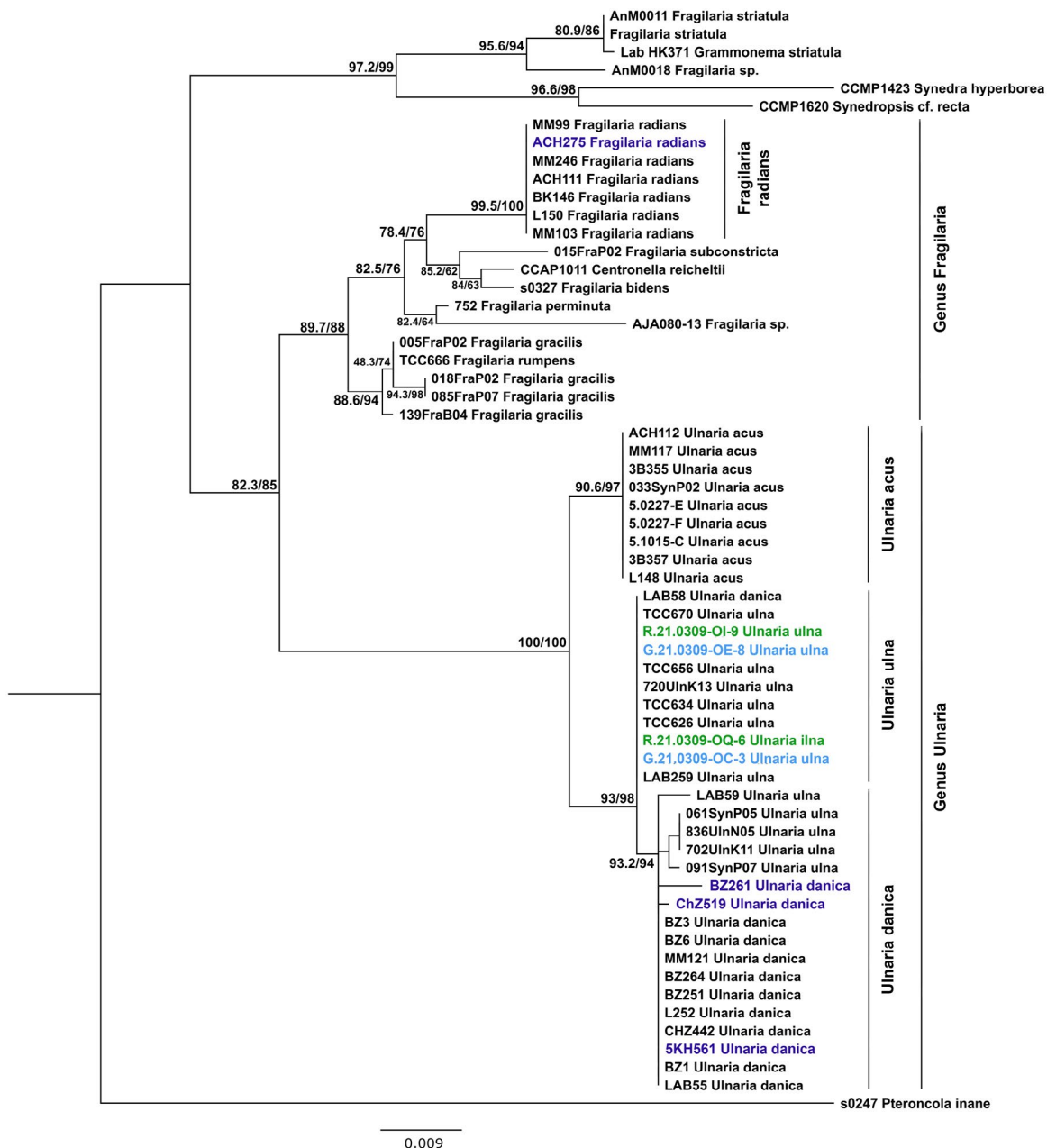


Рис.5. Филогенетическая реконструкция по фрагменту гена *rbcL*. Узлы для ключевых кластеров определяют поддержку топологии сверхбыстрой загрузки и приблизительное отношение правдоподобия SH-aLRT. Последовательности, полученные в данной работе выделены цветом: синие – Россия, оз. Байкал; зеленые – Абхазия, оз. Рица, голубые – Абхазия, оз. Голубое.

Топология филогенетического дерева, полученная нами в данной работе, соответствует результатам филогенетического анализа представителей рода *Ulnaria* с использованием вариабельного фрагмента *rbcL* (Kochoska et al., 2023).

4. Заключение

Диатомовые водоросли являются одной из самых разнообразных групп микроводорослей, с высоким уровнем скрытого видообразования. Исследование внутривидовой изменчивости диатомовых водорослей необходимо для понимания процессов адаптации к различным условиям окружающей среды. Генетическое разнообразие морских диатомей изучено относительно широко, в том числе с точки зрения внутривидовой изменчи-

вости, тогда как исследование пресноводных видов остаются ограниченными. Проведенный нами анализ фрагмента гена *cox1* показал гетерогенность популяций *U. danica* и *U. ulna* из оз. Байкал и озер Абхазии. Получены данные, свидетельствующие о возможном горизонтальном переносе генов между исследуемыми видами. Для выявления процессов, лежащих в основе этого феномена, необходимо провести сравнительный анализ пластидных геномов видов *F. radians*, *U. danica*, *U. ulna* и *U. acus*, что может помочь объяснить некоторые аспекты видообразования у диатомовых водорослей.

Дополнительные материалы

Таблица S1. Characteristics of nucleotide sequences of *cox1*, *rbcL* and 18S rRNA genes.

Благодарности

Исследование финансировалось Министерством науки и высшего образования Российской Федерации проект номер 121032300191-3. Отбор и выделения штаммов из оз. Рица и оз. Голубого проводилось в рамках проекта 124030100100-0.

Авторы выражают благодарность к.б.н. Тетереной В.И. за помощь в определении нуклеотидных последовательностей.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Aboal M., Alvarez-Cobelas M., Cambra J. et al. 2003. Floristic list of non-marine diatoms (Bacillariophyceae) of Iberian Peninsula, Balearic Islands, and Canary Islands. Updated taxonomy and bibliography. *Diatom Monographs* 4: 39.
- Alvarez N., Benrey B., Hossaert-McKey M. et al. 2006. Phylogeographic support for horizontal gene transfer involving sympatric bruchid species. *Biology Direct* 1: 1-11. DOI: [10.1186/1745-6150-1-21](https://doi.org/10.1186/1745-6150-1-21)
- Armbrust E.V., Galindo H.M. 2001. Rapid evolution of a sexual reproduction gene in centric diatoms of the genus *Thalassiosira*. *Applied and Environmental Microbiology* 0: 3501-13. DOI: [10.1128/AEM.67.8.3501-3513.2001](https://doi.org/10.1128/AEM.67.8.3501-3513.2001)
- Benoiston A.S., Ibarbalz F.M., Bittner L. et al. 2017. The evolution of diatoms and their biogeochemical functions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372(1728): 20160397. DOI: [10.1098/rstb.2016.0397](https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0397)
- Buesseler K.O. 1998. The decoupling of production and particulate export in the surface ocean. *Global Biogeochemical Cycles* 12(2): 297-310. DOI: [10.1029/97GB03366](https://doi.org/10.1029/97GB03366)
- Chen G., Rynearson T.A. 2016. Genetically distinct populations of a diatom co-exist during the North Atlantic Spring bloom. *Limnology and Oceanography* 61(6): 2165-2179. DOI: [10.1002/lno.10361](https://doi.org/10.1002/lno.10361)
- Delahodde A., Goguel V., Becam A.M. et al. 1989. Site-specific DNA endonuclease and RNA maturase activities of two homologous intron-encoded proteins from yeast mitochondria. *Cell* 56: 431-441.
- Ehara M., Watanabe K.I., Ohama T. 2000. Distribution of cognates of group II introns detected in mitochondrial *cox1* genes of a diatom and a haptophyte. *Gene* 256(1-2): 157-167. DOI: [10.1016/S0378-1119\(00\)00359-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00359-0)
- Evans K.M., Hayes P.K. 2004. Microsatellite markers for the cosmopolitan marine diatom *Pseudo-nitzschia pungens*. *Molecular Ecology Notes* 4(1): 125-126. DOI: [10.1111/j.1471-8286.2004.00591.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00591.x)
- Evans K.M., Wortley A.H., Mann D.G. 2007. An assessment of potential diatom «barcode» genes (*cox1*, *rbcL*, 18S and ITS rDNA) and their effectiveness in determining relationships in Sellaphora (Bacillariophyta). *Protist* 158(3): 349-364. DOI: [10.1016/j.protis.2007.04.001](https://doi.org/10.1016/j.protis.2007.04.001)
- Field C.B. 1998. Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281: 237-240. DOI: [10.1126/science.281.5374.237](https://doi.org/10.1126/science.281.5374.237)
- Finlay B.J., Monaghan E.B., Maberly S.C. 2002. Hypothesis: The Rate and Scale of Dispersal of Freshwater Diatom Species is a Function of their Global Abundance. *Protist* 153: 261-273. DOI: [10.1078/1434-4610-00103](https://doi.org/10.1078/1434-4610-00103)
- Garcia L.E., Edera A.A., Palmer J.D. et al. 2021. Horizontal gene transfers dominate the functional mitochondrial gene space of a holoparasitic plant. *New Phytologist* 229(3): 1701-1714. DOI: [10.1111/nph.16926](https://doi.org/10.1111/nph.16926)
- Godhe A., McQuoid M.R., Karunasagar I. et al. 2006. Comparison of three common molecular tools for distinguishing among geographically separated clones of the diatom *Skeletonema marinoi* Sarno et Zingone (Bacillariophyceae). *Journal of phycology* 42(2): 280-291. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2006.00197.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00197.x)
- Godhe A., Rynearson T. 2017. The role of intraspecific variation in the ecological and evolutionary success of diatoms in changing environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372(1728): 20160399. DOI: [10.1098/rstb.2016.0399](https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0399)
- Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V. et al. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology* 59(3): 307-321. DOI: [10.1093/sysbio/syq010](https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010)
- Guiry M.D. Guiry G.M. 2024. AlgaeBase. World-wide electronic publication, University of Galway. URL: <https://www.algaebase.org> (searched on 31.10. 2024).
- Guo L., Sui Z., Zhang S. et al. 2015. Comparison of potential diatom «barcode» genes (the 18S rRNA gene and ITS, COI, *rbcL*) and their effectiveness in discriminating and determining species taxonomy in the Bacillariophyta. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 65: 1369-1380. DOI: [10.1099/ijs.0.000076](https://doi.org/10.1099/ijs.0.000076)
- Hamsher S.E., Evans K.M., Mann D.G. et al. 2011. Barcoding diatoms: exploring alternatives to COI-5P. *Protist* 162(3): 405-422. DOI: [10.1016/j.protis.2010.09.005](https://doi.org/10.1016/j.protis.2010.09.005)
- Hoang D.T., Chernomor O., Von Haeseler A. et al. 2018. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular biology and evolution* 35(2): 518-522. DOI: [10.1093/molbev/msx281](https://doi.org/10.1093/molbev/msx281)
- Jewson D.H. 1992. Size reduction, reproductive strategy and the life cycle of a centric diatom. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 335:191-213. DOI: [10.1098/rstb.1992.0056](https://doi.org/10.1098/rstb.1992.0056)
- Kalyanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F. et al. 2017. ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods* 14: 587-589. DOI: [10.1038/nmeth.4285](https://doi.org/10.1038/nmeth.4285)
- Katana A., Kwiatowski J., Spalik K. et al. 2001. Phylogenetic position of *Koliella* (Chlorophyta) as inferred from nuclear and chloroplast small subunit rDNA. *Journal of phycology* 37(3): 443-451. DOI: [10.1046/j.1529-8817.2001.037003443.x](https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.037003443.x)
- Kavanaugh L.A., Fraser J.A., Dietrich F.S. 2006. Recent evolution of the human pathogen *Cryptococcus neoformans* by intervarietal transfer of a 14-gene fragment. *Molecular Biology and Evolution* 23: 1879-1890. DOI: [10.1093/molbev/msl070](https://doi.org/10.1093/molbev/msl070)
- Keeling P., Palmer J. 2008. Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution. *Nature Reviews Genetics* 9: 605-618. DOI: [10.1038/nrg2386](https://doi.org/10.1038/nrg2386)
- Kochoska H., Chardon C., Chonova T. et al. 2023. Filling reference libraries with diatom environmental sequences: strengths and weaknesses. *Diatom Research* 38(2): 103-127. DOI: [10.1080/0269249X.2023.2237977](https://doi.org/10.1080/0269249X.2023.2237977)
- Lange-Bertalot H., Ulrich S. 2014. Contributions to the taxonomy of needle-shaped *Fragilaria* and *Ulnaria* species. *Lauterbornia* 78: 1-73.
- Malviya S., Scalco E., Audic S. et al. 2016. Insights into global diatom distribution and diversity in the world's ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113: E1516-E1525. DOI: [10.1073/pnas.1509523113](https://doi.org/10.1073/pnas.1509523113)
- Mann D.G., Vanormelingen P. 2013. An inordinate fondness? The number, distributions, and origins of diatom species. *Journal of eukaryotic microbiology* 60(4): 414-420. DOI: [10.1111/jeu.12047](https://doi.org/10.1111/jeu.12047)

- Marchenkov A.M., Petrova D.P., Morozov A.A. et al. 2018. A family of silicon transporter structural genes in a pennate diatom *Synedra ulna* subsp. *danica* (Kütz.) Skabitsch. *PLoS One* 13(8): e0203161. DOI: [10.1371/journal.pone.0203161](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203161)
- Marchenkov A.M., Zakharova Y.R., Volokitina N.A. et al. 2022. Genotypic diversity of *Ulnaria acus* (Kützing) Aboal from Eurasia. *Limnology and Freshwater Biology* 6: 1705-1711. DOI: [10.31951/2658-3518-2022-A-6-1705](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2022-A-6-1705)
- Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O. et al. 2020. IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution* 37: 1530-1534. DOI: [10.1093/molbev/msaa015/](https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015/)
- Montresor M., Vitale L., D'Alelio D. et al. 2016. Sex in marine planktonic diatoms: insights and challenges. *Perspectives in Phycology* 3: 61-75. DOI: [10.1127/pip/2016/0045](https://doi.org/10.1127/pip/2016/0045)
- Morozov A., Galachyants Y., Marchenkov A. et al. 2023. Revealing the Differences in *Ulnaria acus* and *Fragilaria radians* Distribution in Lake Baikal via Analysis of Existing Metabarcoding Data. *Diversity* 15(280): 1-10. DOI: [10.3390/d15020280](https://doi.org/10.3390/d15020280)
- Morozov A.A., Galachyants Y.P. 2019. Diatom genes originating from red and green algae: Implications for the secondary endosymbiosis models. *Marine Genomics* 45: 72-78. DOI: [10.1016/j.margen.2019.02.003](https://doi.org/10.1016/j.margen.2019.02.003)
- Nelson D.M., Tréguer P., Brzezinski M.A. et al. 1995. Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global Biogeochemical Cycles* 9: 359-372. DOI: [10.1029/95GB01070](https://doi.org/10.1029/95GB01070)
- Podunay Y.A., Davidovich O.I., Davidovich N.A. 2021. Reproductive compatibility of European populations of two species of *Ulnaria* (Bacillariophyta). *Moscow University Biological Sciences Bulletin* 76(2): 59-64. DOI: [10.3103/S009639252102005X](https://doi.org/10.3103/S009639252102005X)
- Podunay Y.A. 2022. Sexual reproduction, crossing system and biogeography of representatives of the genus *Ulnaria* (Bacillariophyta). *Cand. Sc. Dissertation*, Institute of biology of the south sea named A.O. Kovalevsky RAS, Sevastopol, Russia. (in Russian)
- Pérez-Burillo J., Trobajo R., Leira M. et al. 2021. DNA metabarcoding reveals differences in distribution patterns and ecological preferences among genetic variants within some key freshwater diatom species. *Science of The Total Environment* 798(149029): 0048-9697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2021.149029](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149029)
- Rengefors K., Kremp A., Reusch T.B.H. et al. 2017. Genetic diversity and evolution in eukaryotic phytoplankton: Revelations from population genetic studies. *Journal of Plankton Research* 39: 165-179. DOI: [10.1093/plankt/fbw098](https://doi.org/10.1093/plankt/fbw098)
- Rynearson T.A., Armbrust E.V. 2005. Maintenance of clonal diversity during a spring bloom of the centric diatom *Ditylum brightwellii*. *Molecular Ecology* 14(6): 1631-1640. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2005.02526.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02526.x)
- Rynearson T.A., Bishop I.W., Collins S. 2022. The population genetics and evolutionary potential of diatoms. *The molecular life of diatoms*. Cham: Springer International Publishing: 29-57. DOI: [10.1007/978-3-030-92499-7_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-92499-7_2)
- Rynearson T.A., Newton J.A., Armbrust E.V. 2006. Spring bloom development, genetic variation and population succession in the planktonic diatom *Ditylum brightwellii*. *Limnology and Oceanography* 51: 1249-1261. DOI: [10.4319/lo.2006.51.3.1249](https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.3.1249)
- Rynearson T.A., Virginia Armbrust E. 2004. Genetic differentiation among populations of the planktonic marine diatom *Ditylum brightwellii* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology* 40(1): 34-43. DOI: [10.1046/j.1529-8817.2004.03089.x](https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2004.03089.x)
- Sanchez-Puerta M.V., Abbona C.C., Zhuo S. et al. 2011. Multiple recent horizontal transfers of the *cox1* intron in Solanaceae and extended co-conversion of flanking exons. *BMC evolutionary biology* 11: 1-15. DOI: [10.1186/1471-2148-11-277](https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-277)
- Sarthou G., Timmermans K.R., Blain S. et al. 2005. Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research* 53(1-2): 25-42. DOI: [10.1016/j.seares.2004.01.007](https://doi.org/10.1016/j.seares.2004.01.007)
- Smetacek V. 1999. Diatoms and the ocean carbon cycle. *Protist* 150: 25-32. DOI: [10.1016/S1434-4610\(99\)70006-4](https://doi.org/10.1016/S1434-4610(99)70006-4)
- Szűcs M., Vahsen M.L., Melbourne B.A. et al. 2017. Rapid adaptive evolution in novel environments acts as an architect of population range expansion. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114(51): 13501-13506. DOI: [10.1073/pnas.1712934114](https://doi.org/10.1073/pnas.1712934114)
- Thompson A.S. 1988. Culture collection of algae and protozoa catalogue of strains. Ambleside, United Kingdom: Natural Environment Research Council, Freshwater Biological Association 164.
- Tréguer P., Nelson D.M., Van Bennekom A.J. et al. 1995. The silica balance in the world ocean: a reestimate. *Science* 268(5209): 375-379. DOI: [10.1126/science.268.5209.37](https://doi.org/10.1126/science.268.5209.37)
- Tréguer P., Pondaven P. 2000. Silica control of carbon dioxide. *Nature* 406: 358-359. DOI: [10.1038/35019236](https://doi.org/10.1038/35019236)
- Tuji A., Williams D.M. 2013. Examination of types in the *Fragilaria vaucheriae-intermedia* species complex. *Bulletin of the National Museum of Natural Science, series B, Botany* 39(1): 1-9.
- Vanormelingen P., Evans K.M., Mann D.G. et al. 2015. Genotypic diversity and differentiation among populations of two benthic freshwater diatoms as revealed by microsatellites. *Molecular Ecology* 24(17): 4433-4448. DOI: [10.1111/mec.13336](https://doi.org/10.1111/mec.13336)
- Williams D.M., Blanco S. 2019. Studies on type material from Kützing's diatom collection II: *Synedra acus* Kützing, *Synedra arcus* Kützing, their morphology, types and nomenclature. *Diatom Research* 34: 237-250. DOI: [10.1080/0269249X.2020.1711534](https://doi.org/10.1080/0269249X.2020.1711534)
- Williams D.M., Round F.E. 1987. Revision of the genus *Fragilaria*. *Diatom Research* 2: 267-288. DOI: [10.1080/0269249X.1987.9705004](https://doi.org/10.1080/0269249X.1987.9705004)
- Williams D.M. 2024. Ubiquitous names and ubiquitous species: examples from *Synedra acus* (*Ulnaria acus*), *S. ulna* (*Ulnaria ulna*) and *S. gouldarii* (*Ulnaria gouldarii*) *Diatom Research*: 1-12. DOI: [10.1080/0269249X.2024.2412849](https://doi.org/10.1080/0269249X.2024.2412849)
- Wolf K.K., Romanelli E., Rost B. et al. 2019. Company matters: The presence of other genotypes alters traits and intraspecific selection in an Arctic diatom under climate change. *Global change biology* 25(9): 2869-2884. DOI: [10.1111/gcb.14675](https://doi.org/10.1111/gcb.14675)
- Zakharova Y., Marchenkov A., Petrova D. et al. 2023. Delimitation of Some Taxa of *Ulnaria* and *Fragilaria* (Bacillariophyceae) Based on Genetic, Morphological Data and Mating Compatibility. *Diversity* 15(271): 1-26. DOI: [10.3390/d15020271](https://doi.org/10.3390/d15020271)
- Zakharova Y.R., Bedoshvili Y.D., Petrova D.P. et al. 2020. Morphological description and molecular phylogeny of two diatom strains from the genus *Ulnaria* (Kützing) Compere isolated from an ultraoligotrophic lake at the Pole of Cold in the Northern Hemisphere, Republic of Sakha (Yakutia), Russia. *Cryptogamie, Algologie* 41: 37-45. DOI: [10.5252/cryptogamie-algologie2020v41a6](https://doi.org/10.5252/cryptogamie-algologie2020v41a6)
- Zhang C., Ma H., Sanchez-Puerta M.V. et al. 2020. Horizontal gene transfer has impacted *cox1* gene evolution in *Cassiothra filiformis*. *Journal of Molecular Evolution* 88: 361-371. DOI: [10.1007/s00239-020-09937-1](https://doi.org/10.1007/s00239-020-09937-1)