

Genomic analysis of picocyanobacteria of the genus *Synechococcus* from Lake Baikal

Original Article

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Kaluzhnaya O.V.[✉], Gutnik D.I.[✉], Krasnopeev A.Yu.[✉], Tikhonova I.V.[✉],
Potapov S.A.[✉], Belykh O.I.[✉]

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

ABSTRACT. The genus *Synechococcus* comprises photosynthetic picocyanobacteria that, as autotrophic microorganisms, make a significant contribution to the production of organic matter and oxygen in marine and freshwater ecosystems. The wide distribution of representatives of the genus *Synechococcus* is due to their genetic diversity and ecological plasticity. Of particular interest is the study of these microorganisms in unique natural ecosystems, such as Lake Baikal – a freshwater oligotrophic deep-water lake with a high percentage of endemism among its inhabiting species. This work presents an analysis of two genomes of *Synechococcus* representatives recovered from metagenomic data of microbial communities from the water of Lake Baikal (MAGs): *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8. A structural and functional characterization of the genomes is provided, and genes for antibiotic resistance and secondary metabolite synthesis are identified. Phylogenetic analysis, including 90 closely related freshwater and marine representatives of the genus *Synechococcus* alongside the studied MAGs, showed that the genomes belong to different, rather distant, phylogenetic clades.

Keywords: *Synechococcus*, Lake Baikal, metagenome-assembled genomes (MAGs), phylogenomics, antibiotic resistance

For citation: Kaluzhnaya O.V., Gutnik D.I., Krasnopeev A.Yu., Tikhonova I.V., Potapov S.A., Belykh O.I. Genomic analysis of picocyanobacteria of the genus *Synechococcus* from Lake Baikal // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 554-574. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-554

1. Introduction

Cyanobacteria of the genus *Synechococcus* are a dominant group of autotrophic picoplankton in aquatic ecosystems. They contribute significantly to primary production of organic matter and oxygen and serve as the base of food webs (Flombaum et al., 2013; Callieri, 2017). Their wide distribution, adaptability to diverse environmental conditions, high abundance, and small cell size make *Synechococcus* species a convenient model for studying ecological and genetic adaptation of microorganisms (Shapiro and Polz, 2015). Lake Baikal is a unique deep-water ecosystem characterized by a high degree of biotic endemism, low water temperatures not exceeding 10–12 °C in the pelagic zone even during summer, and exceptional water purity (Rusinek, 2009; Osipova et al., 2010). Picocyanobacteria, including representatives of the genus *Synechococcus*, play a notable role in the Baikal planktonic community, espe-

cially during summer stratification, when their abundance reaches 10⁶ cells/mL (Belykh and Sorokovikova, 2003; Belykh et al., 2011). Their contribution to primary production, phytoplankton biomass, and chlorophyll concentration in Baikal can reach up to 80% (Nagata et al., 1994; Yoshida et al., 2003; Belykh and Sorokovikova, 2003).

Investigating the genetic diversity and phylogeny of cyanobacteria is of considerable scientific interest, as it allows for refinement of their taxonomic position and elucidation of evolutionary relationships between different taxa (Komárek et al., 2014; García-Pichel et al., 2019). The ability of *Synechococcus* cyanobacteria to colonize water bodies with varying salinity, temperature regimes, and trophic status depends on their affiliation with a particular evolutionary lineage (Flombaum et al., 2013). Studies on the ecological and functional features of the genus *Synechococcus* have been conducted predominantly on marine or model

*Corresponding author. E-mail address: olga@lin.irk.ru (O.V. Kaluzhnaya)

Received: July 10, 2026;

Accepted after revised: August 12, 2026;

Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



freshwater species, whereas representatives of natural populations from extreme and endemic ecosystems, such as Baikal, remain insufficiently described (Druce et al., 2023; Chiriac et al., 2023; Cabello-Yeves et al., 2018a; 2018b). For ancient oligotrophic lakes, where *Synechococcus* provide up to 80% of primary production, such data are essential for understanding ecosystem stability (Callieri, 2017; Belykh and Sorokovikova, 2003).

Traditional methods of isolating pure cyanobacterial cultures are labor-intensive and often fail to reflect the full spectrum of *in situ* genetic diversity. An alternative approach is metagenomic sequencing, which enables the reconstruction of metagenome-assembled genomes (MAGs) from environmental samples without cultivation (Yang et al., 2021). Although MAGs represent fragmented assemblies containing individual contigs rather than ideal complete genomes, this approach allows for the study of structural and functional genome organization, identification of key metabolic pathways and genes involved in adaptation to abiotic and biotic environmental factors, as well as assessment of diversity and phylogenetic position of natural population representatives (Cerk et al., 2024).

Analysis of metabolic pathways enables the determination of the biochemical potential of a microorganism, its metabolic limitations, and mechanisms of adaptation to abiotic environmental factors. The metabolic profile defines the range of assimilable compounds, the capacity for autotrophy, respiration, and nitrate and sulfate assimilation. Reconstruction of such pathways from genomic data allows prediction of dependence on external sources of carbon, nitrogen, and sulfur, as well as identification of key regulatory nodes. Comparison of metabolic modules between strains can reveal the molecular basis of stress tolerance, competitive advantages in specific habitats, and evolutionary trends of gene reduction or expansion, which is important both for understanding the ecological role of *Synechococcus* and for assessing their biotechnological potential.

The aim of this work is a comparative analysis of the structural organization of genomes, adaptive mechanisms, and phylogenetic position of two metagenome-assembled genomes, *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8, recovered from water samples of Lake Baikal, as well as an assessment of their metabolic potential. It is hypothesized that these strains, inhabiting the same ecological niche, may exhibit genomic differences reflecting distinct adaptive strategies.

2. Materials and Methods

Water samples of 20 L volume from each depth (5 and 20 m) were collected in July 2024 at the middle of the Listvyanka–Tankhoy transect (Lake Baikal). Samples were sequentially filtered through polycarbonate filters with pore sizes of 5.0 µm to remove large particles, 0.4 µm, and 0.22 µm to collect picocyanobacteria. Stepwise water filtration, DNA extraction, sequencing, and metagenomic genome assembly were performed according to a previously described protocol (Gutnik et al., 2024). For each sample, sequencing

was carried out in two independent paired-end runs (2 × 150 bp). The total raw data volume was 19.1 Gb for the 5 m sample and 26.8 Gb for the 20 m sample; after merging the data from both runs, the total number of paired reads reached 63.7 million and 89.3 million, respectively. Co-assembly of reads from the 5 m and 20 m depth samples allowed reconstruction of MAGs present in both samples. The relative abundance of recovered MAGs in metagenomic samples across depths was estimated using TPM (Transcripts Per Million) (Wagner et al., 2012; Bray et al., 2016). For annotation of metagenome-assembled genomes (MAGs), the Genome Annotation Service based on the RAST platform (Aziz et al., 2008) within the Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC) was used. To assess the relatedness of the recovered MAGs to known cyanobacterial genomes, the average nucleotide identity (ANI) was calculated (Jain et al., 2018).

For phylogenetic analysis of the studied MAGs, a search for the closest publicly available genomes was performed using the Similar Genome Finder tool integrated into BV-BRC (Ondov et al., 2016), where genome distances are calculated using the Mash method. Genomes meeting the threshold values of P value < 0.01 and Distance < 0.2 were included in the phylogenetic analysis. A total of 90 genomes were selected, including the two studied MAGs. The cyanobacterium *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (GCA_000011385.1) was used as an outgroup for tree construction. From 1000 candidate PGFam genes, the program selected 127 single-copy markers with an acceptable level of missing data (no more than 5 deletions or no more than 5 duplications per gene in the dataset). Alignment of the corresponding protein sequences (127 alignments, totaling 41,816 amino acid positions) was performed using MAFFT (Katoh and Standley, 2013). A phylogenetic tree was constructed based on the selected single-copy protein markers using the maximum likelihood method; bootstrap support was assessed using RAxML version 8.2 (Stamatakis, 2014).

CRISPR arrays with associated Cas proteins were identified using Bakta on the Proksee web platform (Grant et al., 2023). Annotation of genes involved in antimicrobial susceptibility and resistance was performed by comparison with the PATRIC and CARD reference databases (Wattam et al., 2017; Alcock et al., 2023).

Search for biosynthetic gene clusters of secondary metabolites in the studied genomes was performed using the online version of the antiSMASH software platform 8.0.4 (Medema et al., 2011; Blin et al., 2025) with default parameters (HMM detection stringency level – relaxed). To assess the similarity of the detected genetic loci to known clusters, the built-in ClusterBlast and KnownClusterBlast modules were used. According to antiSMASH algorithms, for ClusterBlast (comparison with predicted clusters from the antiSMASH database), the thresholds are minimum identity of 30% and coverage of 10%, whereas for KnownClusterBlast (comparison with experimentally confirmed clusters from the MIBiG database), the thresholds are 45% and 40%, respectively (Blin et al., 2025).

3. Results and Discussion

3.1. Structural and functional organization of MAGs

The genomes of *Synechococcus* sp. bin7 (165 contigs, 2,053,016 bp) and *Synechococcus* sp. bin8 (145 contigs, 1,829,603 bp), assembled from metagenomic data, showed rather high assembly completeness — 97.7% and 96.1%, respectively — and low contamination levels — 1.8% and 1.2%, indicating the high quality of the obtained MAGs (Table 1).

Despite the fact that both MAGs were isolated from the same habitat and assigned to the same genus, their G + C content differs substantially (*Synechococcus* sp. bin7 — 65.87%, *Synechococcus* sp. bin8 — 50.22%), which is often associated with adaptation to different environmental conditions (Musto et al., 2004). The high GC content of strain *Synechococcus* sp. bin7 may indicate its better adaptation to stress factors in surface waters, such as intense UV radiation and oxidative stress (Zhaxybayeva et al., 2009).

Assessment of relative abundance based on metagenomic data (TPM calculated from DNA) showed that at a depth of 5 m, the amount of genetic material of *Synechococcus* sp. bin7 (48,321 TPM) is significantly higher than that of *Synechococcus* sp. bin8 (11,728 TPM). With increasing depth to 20 m, the relative abundance of both strains decreases; however, for *Synechococcus* sp. bin7 the decline is more pronounced — by 3.3-fold (to 14,567 TPM), whereas for *Synechococcus* sp. bin8 — by 1.7-fold (to 6,835 TPM).

The decrease in relative abundance (TPM) with depth indicates that *Synechococcus* sp. bin7 is confined to surface waters, while *Synechococcus* sp. bin8 maintains higher abundance in the lower layers of the euphotic zone. Thus, *Synechococcus* sp. bin7 represents a specialized surface-water strain, whereas *Synechococcus* sp. bin8 exhibits a more eurytopic distribution strategy in the water column, which may reflect differences in ecological niches among closely related cyanobacteria (Pittera et al., 2014).

According to the annotation of the studied genomes in the BV-BRC database using the RAST toolset, the taxonomic position of the genomes is as follows: domain Bacteria, phylum Cyanobacteriota,

class Cyanophyceae, order Synechococcales, family Synechococcaceae, genus *Synechococcus*. The closest genome to *Synechococcus* sp. bin7, based on average nucleotide identity, is the Baikal strain *Synechococcus* sp. Baikal-G1 (ANI 98.78%), and for *Synechococcus* sp. bin8 — *Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (ANI 97.75%). Since both values exceed the generally accepted threshold for species delineation (95%), *Synechococcus* sp. bin7 can be assigned to the same species as strain *Synechococcus* sp. Baikal-G1, and *Synechococcus* sp. bin8 to the same species as strain *Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (Jain et al., 2018). The average nucleotide identity (ANI) value between the studied strains *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8 was 68%, which is significantly lower than the generally accepted threshold for species delineation (95%) and confirms their belonging to different species.

The main genomic characteristics of the strains obtained from annotation using the PATRIC platform, as well as the distribution of coding sequences (CDS) across RAST functional subsystems, are presented in Table 2.

The total number of identified coding sequences (CDS) in strain *Synechococcus* sp. bin7 (2,202) is 196 genes higher than in *Synechococcus* sp. bin8 (2,006), whereas the number of tRNA genes is almost identical (36 and 35, respectively). At the same time, the CDS density per 1 Mbp was comparable (1,072.6 in *Synechococcus* sp. bin7 versus 1,096.4 in *Synechococcus* sp. bin8), indicating a similar overall saturation of the genomes with genetic information, and the differences in absolute numbers are mainly due to the larger genome size of *Synechococcus* sp. bin7.

The most substantial differences between the strains were identified in the category of energy metabolism. Specifically, *Synechococcus* sp. bin7 had 161 CDS versus 84 in *Synechococcus* sp. bin8, which may reflect a more branched energy metabolism network, possibly including additional components of photosynthetic or respiratory chains (Brown, 2018). This phenomenon is consistent with data on the high ecological plasticity of *Synechococcus* representatives (Callieri, 2017). Also, in the categories of metabolism, there are 445 genes versus 355, and protein processing — 187 versus 135, respectively. This fact may suggest a broader meta-

Table 1. Characteristics of metagenome-assembled genomes (MAGs) of *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8

Characteristic	<i>Synechococcus</i> sp. bin7	<i>Synechococcus</i> sp. bin8
MAG length (bp)	2 053 016	1 829 603
Completeness, %	97.7	96.1
Contamination, %	1.8	1.2
GC content, %	65.87	50.22
Number of contigs	165	145
N ₅₀ (bp)	21 397	22 259
Closest genome (assembly accession)	<i>Synechococcus</i> sp. Baikal-G1 (GCA_002737305.1)	<i>Synechococcus</i> sp. LacPavin 0920 (GCA_026389135.1)
ANI, %	98.78	97.75
TPM (5m)	48 321	11 728
TPM (20m)	14 567	6 835

Table 2. Functional annotation of the genomes of *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8

Annotated Genome Features	<i>Synechococcus</i> sp. bin7	<i>Synechococcus</i> sp. bin8
CDS	2202	2006
tRNA	36	35
Subsystems genes		
Metabolism	445	355
Protein processing	187	135
Stress response	45	43
Energy	161	84
RNA processing	48	47
DNA processing	60	44
Cellular processes	17	30
Cell envelope	11	12
Membrane transport	15	8
Regulation and cell signaling	3	3
Number of CDS per 1 Mbp	1 072.6	1 096.4

bolic potential and more efficient protein homeostasis in *Synechococcus* sp. bin7. The nearly twofold difference in membrane transport genes (15 versus 8) likely reflects the ability of *Synechococcus* sp. bin7 to assimilate a wider range of nutrients from the environment. In the DNA processing category, a greater number of genes was also noted in *Synechococcus* sp. bin7 (60 versus 44), suggesting the presence of a greater diversity of repair systems in this genome; however, a final conclusion requires analysis of specific genes. As shown in Brown (2018), an increase in the number of genes in categories related to energy and transport often correlates with specialization to specific ecological niches, which is consistent with the data on the distribution of relative abundance of the strains.

At the same time, in the category of cellular processes, the opposite pattern is observed: *Synechococcus* sp. bin8 has 30 genes versus 17 in *Synechococcus* sp. bin7, stress response (45 versus 43), RNA processing (48 versus 47), and cell envelope (11 versus 12). In these categories, the values differ insignificantly, which may indicate comparable adaptation of both strains and reflect similarity in basic survival mechanisms (Martsinechko et al., 2024). The number of genes for regulation and cellular signaling (3 per MAG) may indicate the conservatism of these systems in the studied picocyanobacteria.

The identified differences in the number of genes involved in energy and metabolic exchange are in good agreement with the data on the distribution of relative abundance (TPM) of the two strains across depth. The higher content of genetic material of *Synechococcus* sp. bin7 in the surface layer (5 m: 48,321 TPM versus 11,728 TPM for *Synechococcus* sp. bin8) and its sharper decline with depth (a 3.3-fold decrease in *Synechococcus* sp. bin7 versus a 1.7-fold decrease in *Synechococcus* sp. bin8) indicate the specialization of this strain to the well-illuminated euphotic zone. The developed energy metabolism system (161 versus 84 CDS) and membrane transport (15 versus 8) in *Synechococcus* sp. bin7 likely provide efficient utilization of light energy and nutrient uptake in oligotrophic surface waters, where competi-

tion for resources is particularly high (Flombaum et al., 2013). In contrast, *Synechococcus* sp. bin8, which has a more modest set of energy metabolism genes, demonstrates more stable relative abundance in the 5–20 m range, which may indicate its ability to exist under reduced light conditions characteristic of the lower boundary of the euphotic zone. Thus, genomic differences in metabolic potential reflect the differentiation of ecological niches along the vertical light gradient: *Synechococcus* sp. bin7 is a surface-water specialist, whereas *Synechococcus* sp. bin8 is a generalist with a broader depth amplitude.

The similarity in the number of anti-stress system genes (45 versus 43) confirms the presence of common adaptive strategies to the conditions of a deep-water endemic lake (Rodriguez-Valera et al., 2017), where selective factors may include seasonal temperature fluctuations, low mineralization, and high water transparency characteristic of Baikal. The elevated G+C content in *Synechococcus* sp. bin7 (65.87%) compared to *Synechococcus* sp. bin8 (50.22%) further supports the hypothesis of better adaptation of the former to oxidative stress in surface waters with high insolation (Zhaxybayeva et al., 2009).

The circular genome annotation diagram reflects the structural and functional organization of the studied MAGs (Fig. 1). From the outer to the inner ring, the diagram displays: contigs in descending order of their lengths, CDS on the forward strand and CDS on the reverse strand, RNA genes, CDS with homology to antibiotic resistance genes, CDS with homology to virulence factors, G+C content, and G/C skew on contigs. The color of CDS in the diagram corresponds to their assignment to RAST functional subsystems according to Table 2. The identified antibiotic resistance and virulence loci belong to the category of genes associated with adaptive traits of microorganisms (Bertelli and Brinkman, 2018).

It should be noted that interpretation of differences in CDS numbers requires caution, since some genes may result from duplications, differences in annotation, or the presence of pseudogenes in the stud-

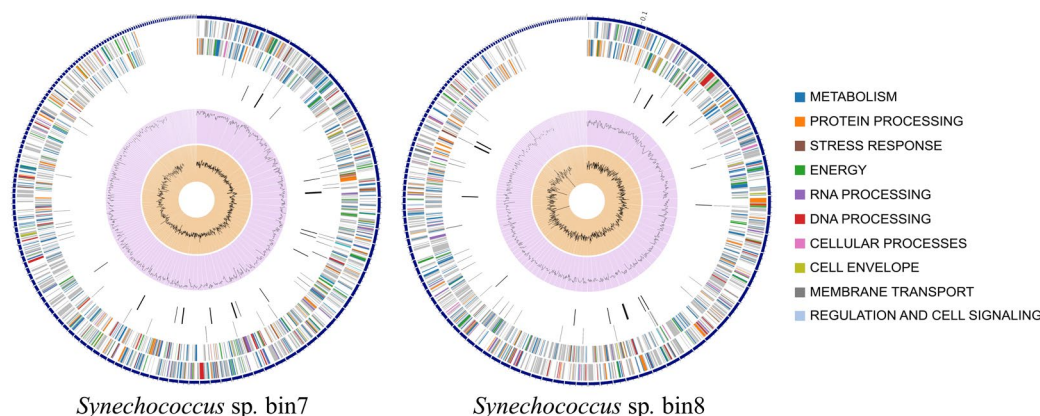


Fig.1. Circular diagram of genome annotation of *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8. Mapped from the outer to the inner circle: contigs of the studied MAGs, coding sequences (CDS) on the forward strand, CDS on the reverse strand, RNA genes, genes homologous to known antimicrobial resistance genes, G + C content, and GC-skew. Scale of the circular diagram – 1 division equals 0.1 Mbp. Colors of CDS on the forward and reverse strands indicate the gene subsystem (according to the legend).

ied MAGs. Nevertheless, the identified patterns are consistent with the hypothesis of ecological niche differentiation of the two Baikal *Synechococcus* strains along the vertical light gradient (Flombaum et al., 2013; Rodriguez-Valera et al., 2017).

3.2. Phylogenetic analysis

The phylogenetic tree constructed based on 90 picocyanobacterial genomes is shown in Figure 2. The analyzed dataset included 44 genomes of freshwater strains, among which were: the studied MAGs *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8 (highlighted in red and bold font), a subgroup of 7 Baikal MAGs obtained previously (purple), and the remaining 35 genomes of freshwater picocyanobacteria from international databases (green). The marine group comprised 45 genomes (blue). Bootstrap support values are indicated on the branches at levels above 50%. The genome of *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (black) was used as an outgroup — the most evolutionarily distant representative of cyanobacteria, occupying a basal position on the phylogenetic tree.

The studied Baikal MAGs were distributed across two phylogenetically distant clades differing in composition and ecological representativeness. *Synechococcus* sp. bin7 was localized in a clade uniting exclusively freshwater strains: *Synechococcus* sp. Baikal-G1 (Baikal), *Synechococcus* sp. UW140 strain MsE-30apr19-67 and *Synechococcus* sp. UW140 MiH-22jul19-245 (Czech Republic), as well as uncultured *Synechococcus* sp. Umea1p2_bin949 and Umea1p3_bin942 (Sweden). This cluster demonstrates an association with oligotrophic and mesotrophic ecosystems and confinement to surface, well-illuminated horizons, which is consistent with the high relative abundance of *Synechococcus* sp. bin7 in the euphotic zone (5 m: 48,321 TPM) (Dvorak et al., 2014; Callieri, 2017). In contrast, *Synechococcus* sp. bin8 fell within a mixed clade comprising both freshwater and marine genomes. The closest to it were freshwater strains from Lake Pavin (*Synechococcus* sp. LacPavin_0920_WC12_MAG_50_7, France), Lake La Cruz (*Synechococcus* sp. Cruz CV12-2-Slac-r, Spain; also known as *Synechococcus lacustris*), Lake Superior

(*Synechococcus* sp. SupBloom_Metag_053), as well as marine strains from the Caspian Sea (*Cyanobacteria bacterium* casp150_mb.24 and casp40_mb.49) and the Baltic Sea (uncultured *Synechococcus* sp. ERR2206772_bin.170). The presence in this clade of representatives from water bodies of varying trophic status — from ultra-oligotrophic to eutrophic — as well as marine forms indicates broader ecological plasticity of this cluster (Cabello-Yeves et al., 2018b; Carratalà et al., 2023). This is consistent with the relative abundance of *Synechococcus* sp. bin8, which decreases less sharply with depth (only 1.7-fold: from 11,728 to 6,835 TPM), suggesting its ability to maintain metabolic activity over a wider depth range (Pittera et al., 2014; Flombaum et al., 2013).

The genus *Synechococcus* is polyphyletic: some marine strains included in the analysis and previously assigned to *Synechococcus*, according to current data, belong to a clade sister to *Prochlorococcus*, validated as the independent genus *Parasynechococcus* (Coutinho et al., 2016; Komárek et al., 2020). The selection of reference genomes for the analysis was performed using threshold values of confidence and genomic distance calculated by the Mash method, and the phylogenetic tree was constructed based on single-copy marker genes, which allows assessment of the relative position of the studied MAGs among available reference genomes and the degree of their phylogenetic distance from each other.

The ANI value when comparing *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8 was 68%, indicating their belonging to different species and consistent with their placement in different phylogenetic clades. The phylogenetic proximity of *Synechococcus* sp. bin7 to freshwater strains, and of *Synechococcus* sp. bin8 to a mixed clade with marine representatives, indicates their different evolutionary histories. *Synechococcus* sp. bin7 likely belongs to a more ancient freshwater lineage, whereas *Synechococcus* sp. bin8 shows signs of adaptation to conditions of variable salinity or belongs to a phylogenetic lineage characterized by tolerance to a wide salinity range (Rosales et al., 2005; Cabello-Yeves et al., 2018b; Flombaum et al., 2013).

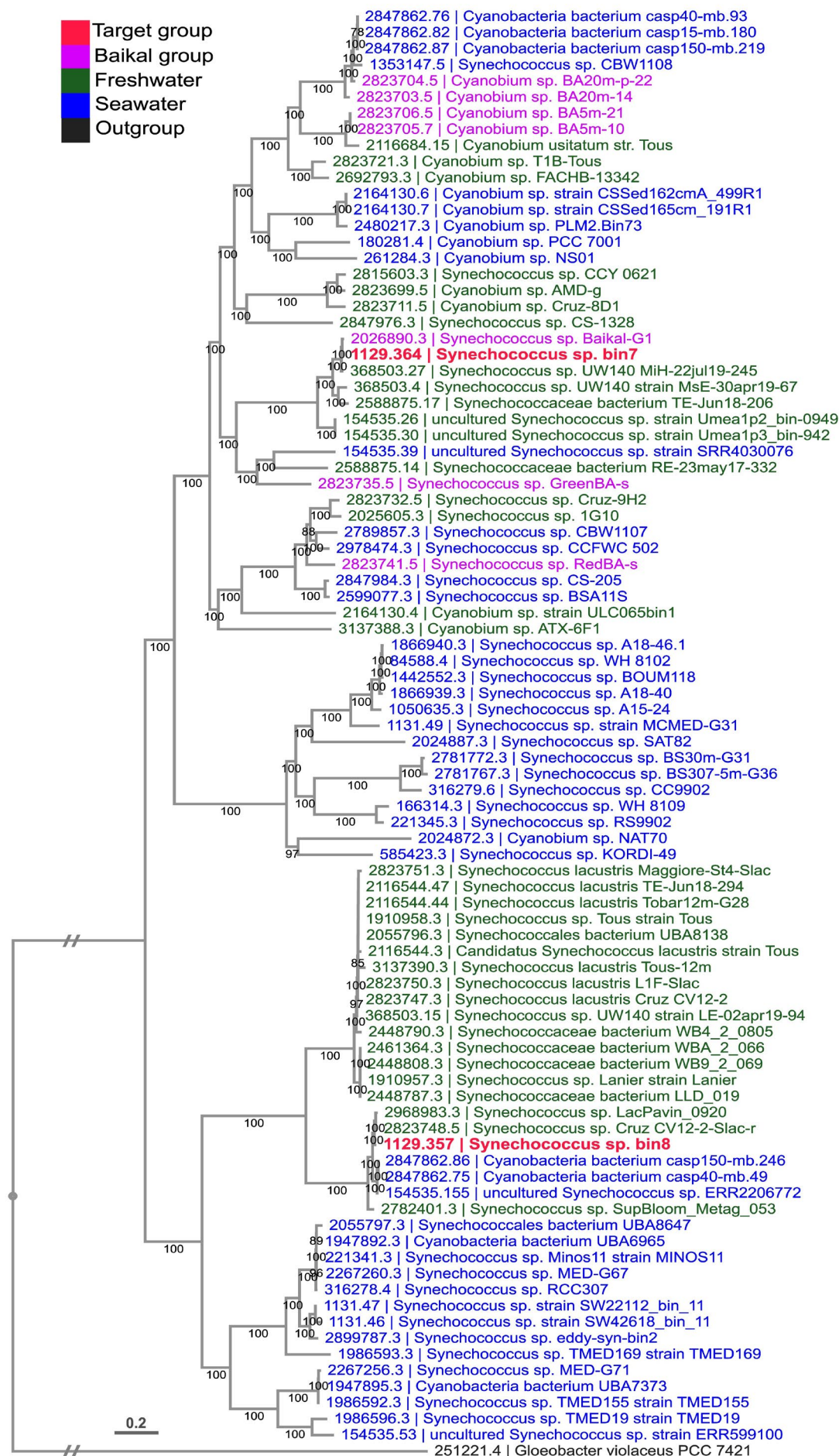


Fig.2. Phylogenetic tree of picocyanobacteria constructed based on 127 single-copy marker genes. Bootstrap support > 50% is indicated on the branches. Groups are highlighted in colors: red – the studied MAGs *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8; purple – Baikal strains; green – other representatives of the freshwater group; blue – marine group. The outgroup is *Gloeobacter violaceus* PCC 7421.

The presence of marine strains from the Caspian Sea in the clade of *Synechococcus* sp. bin8 indicates the phylogenetic relatedness of this strain to halophilic lineages, which may be considered as indirect evidence of the genetic potential of the Baikal strain for adaptation to salinity fluctuations. However, phylogenetic position alone is not proof of the presence of corresponding adaptive mechanisms, and to confirm this hypothesis, identification of specific genes involved in osmotic regulation (e.g., osmolyte transporters, compatible solute synthesis systems) is required; their presence in the genome of *Synechococcus* sp. bin8 needs separate analysis. Thus, phylogenetic analysis confirmed the genetic diversity of Baikal *Synechococcus*, and also showed that the endemic ecosystem of Lake Baikal, like other deep lakes, serves as a reservoir of evolutionary diversity of cyanobacteria (Callieri, 2017; Cabello-Yeves et al., 2018a; Carratalà et al., 2023).

3.3. Antibiotic resistance and immune defense mechanisms

Comparison of the two strains *Synechococcus* sp. bin7 and *Synechococcus* sp. bin8 with respect to the presence of antibiotic resistance genes and defense systems revealed both conserved features and strain-specific characteristics (Table 3).

Both studied genomes contain a set of antibiotic target genes: *alr*, *ddl*, *gyrA*, *gyrB*, *rpoB*, *EF-G*, *EF-Tu*, *murA*, *folP*, *dxr*, *inhA*, *fabI*, *kasA*, *S10p*, *S12p*, and *Iso-tRNA*, encoding proteins essential for cell viability: enzymes of cell wall synthesis (Alr, Ddl, MurA), DNA gyrase (GyrA, GyrB), RNA polymerase (RpoB), translation elongation factors (EF-G, EF-Tu), as well as enzymes of folate (FolP) and fatty acid synthesis (InhA, FabI, KasA). The action of most antibiotics is directed precisely at these proteins, so the presence of the corresponding genes indicates the preservation of natural susceptibility of cyanobacteria to antimicrobial agents, provided that mutations reducing binding affinity are absent (Blair et al., 2015; Callieri, 2017).

Both strains contain the *gidB* gene, encoding the methyltransferase GidB, which modifies 16S rRNA, ensuring proper ribosome assembly. Upon inactivation of *gidB*, methylation of 16S rRNA is disrupted, the ribosome changes conformation, and aminoglycoside antibiotics lose their ability to bind to it. Thus, loss of GidB function randomly confers resistance to aminoglycosides (Okamoto et al., 2007).

Genes for glycopeptide resistance, *vanY* and *vanT*, are present in both strains. Gene *vanY* encodes

a D,D-carboxypeptidase that hydrolyzes the terminal D-alanine from sensitive cell wall precursors (UDP-MurNAc-pentapeptide [D-Ala]), reducing their intracellular pool and thereby contributing to glycopeptide resistance (Arthur and Quintiliani, 2001). Gene *vanT* encodes a membrane-bound serine racemase that converts L-serine to D-serine — a substrate for the synthesis of vancomycin-resistant precursors, the terminal dipeptide of which contains D-alanine-D-serine (VanG-type resistance) (Stogios and Savchenko, 2020). However, additional experimental studies are required to confirm the functional activity of these genes in the Baikal *Synechococcus* strains.

Analysis of CRISPR-Cas systems revealed the following differences. CRISPR-Cas is an adaptive immune system of bacteria that stores DNA fragments of previously attacking viruses (spacers) and upon reinfection cleaves the viral DNA. Both strains contain the type I *cas3* gene. The Cas3 protein possesses both helicase and nuclease activity: it unwinds the double-stranded DNA of the virus and cleaves it, providing the effector stage of immunity (Sinkunas et al., 2011). In the genome of *Synechococcus* sp. bin8, the *cas4* gene, belonging to types I–II, is additionally present. The Cas4 protein participates in the adaptation stage: it helps distinguish foreign DNA from self-DNA and facilitates the integration of new spacers into the CRISPR array (McGinn and Marraffini, 2019).

Thus, *Synechococcus* sp. bin8 differs from *Synechococcus* sp. bin7 by the presence of an additional *cas4* gene, suggesting a more complex adaptive immune system in this strain. These differences, against the background of phylogenetic distinctness of the strains from each other (results presented in section 3.2), reflect the genomic diversity of *Synechococcus* (Martsinechko et al., 2024; Flombaum et al., 2013). It can be hypothesized that the presence of *cas4* in *Synechococcus* sp. bin8 provides more efficient protection against bacteriophages, which may be an important factor for survival in the Baikal plankton, where viral pressure is significant (Sorek et al., 2013; Rodriguez-Valera et al., 2017).

3.4. Biosynthetic gene clusters of secondary metabolites

Analysis using antiSMASH revealed several biosynthetic gene clusters of secondary metabolites in the genomes of the studied strains, presented in Table 4. In the MAG of *Synechococcus* sp. bin7, a terpene cluster containing the genes *PSY/CrtB* and *PT_FPPS_like* was detected, as well as a type III polyketide syn-

Table 3. Genes of antimicrobial sensitivity and resistance, and CRISPR-Cas systems according to PATRIC and CARD data

Resistance mechanism	<i>Synechococcus</i> sp. bin7	<i>Synechococcus</i> sp. bin8
Antibiotic targets	<i>alr</i> , <i>ddl</i> , <i>dxr</i> , <i>EF-G</i> , <i>EF-Tu</i> , <i>folP</i> , <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>inhA</i> , <i>fabI</i> , <i>Iso-tRNA</i> , <i>kasA</i> , <i>murA</i> , <i>rpoB</i> , <i>S10p</i> , <i>S12p</i>	<i>alr</i> , <i>ddl</i> , <i>dxr</i> , <i>EF-G</i> , <i>EF-Tu</i> , <i>folP</i> , <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>inhA</i> , <i>fabI</i> , <i>Iso-tRNA</i> , <i>kasA</i> , <i>murA</i> , <i>rpoB</i> , <i>S10p</i> , <i>S12p</i>
Gene conferring resistance by loss-of-function	<i>gidB</i>	<i>gidB</i>
Glycopeptide resistance (CARD)	<i>vanY</i> , <i>vanT</i>	<i>vanY</i> , <i>vanT</i>
CRISPR-Cas (nucleases/helicases)	<i>cas3</i> (type I)	<i>cas3</i> (type I), <i>cas4</i> (type I–II)

Table 4. Key genes of biosynthetic gene clusters of secondary metabolites in the genomes of the studied MAGs, identified using antiSMASH analysis

Cluster	<i>Synechococcus</i> sp. bin7	<i>Synechococcus</i> sp. bin8
Terpene	<i>PSY/CrtB</i> , <i>PT_FPPS_like</i>	<i>lycopene cyclase</i> , <i>FPPS</i> , <i>PSY/CrtB</i>
PKS	<i>T3PKS</i>	<i>T3PKS</i>
NRPS	—	<i>CDPS</i>

these cluster (T3PKS). In the MAG of *Synechococcus* sp. bin8, homologs of terpene genes (*lycopene cyclase*, *FPPS*, *PSY/CrtB*), a type III PKS cluster (T3PKS), and an NRPS cluster with *CDPS* (cyclodipeptide synthase) were identified.

The presence of the *PSY/CrtB* gene in both strains and *lycopene cyclase* in *Synechococcus* sp. bin8 indicates the presence of a carotenogenic pathway that provides cell protection against oxidative stress (Srivastava et al., 2022). Type III polyketide synthase clusters (T3PKS) catalyze the condensation of malonyl-CoA with acyl-CoA primers to form aromatic polyketides, including alkylresorcinols and phloroglucinols (Abe and Morita, 2010; Austin and Noel, 2003). The detected T3PKS clusters show similarity to the known hieridrin B/C cluster, which is responsible for polyketide biosynthesis in cyanobacteria (Leão et al., 2019).

Secondary metabolites of cyanobacteria play a key role in interspecies interactions, protection against abiotic and biotic stresses, as well as in shaping the structure of microbial communities (Dittmann et al., 2015). The revealed heterogeneity of biosynthetic clusters between the two strains reflects the metabolic diversity of the genus *Synechococcus*, which may determine the differentiation of ecological niches and competitive strategies in natural microbial communities. The presence of a unique NRPS cluster with *CDPS* only in *Synechococcus* sp. bin8 suggests its ability to produce bioactive peptides, which, according to studies, may provide this strain with a competitive advantage under specific ecological conditions (Cimermanic et al., 2014; Pancrace et al., 2017). The production of secondary metabolites, such as terpenes and polyketides, according to the literature, provides protection against photodegradation, antimicrobial activity, and allelopathic effects on other microorganisms, which is particularly important under conditions of high-water transparency and low trophic status characteristic of Baikal (Kust et al., 2018). The detected genes associated with the biosynthesis of terpenes, polyketides, and NRPS indicate the potential ability of the strains to produce bioactive compounds, which opens prospects for their possible application in pharmacology, bioremediation, and other biotechnological fields (Dittmann et al., 2015; Pancrace et al., 2017).

4. Conclusion

The application of a metagenomic approach enabled the reconstruction and comparative analysis of genomes of natural populations of picocyanobacteria of the genus *Synechococcus* from Lake Baikal. Lake Baikal is a deep-water oligotrophic water body with consistently low water temperatures. In the pelagic

zone, representatives of this genus produce up to 80% of organic matter during primary synthesis. Both recovered MAGs were characterized by high assembly completeness (97.7% and 96.1%) and low contamination levels, confirming their high quality. Phylogenetic analysis revealed that the studied strains belong to two distant clades, indicating long-term evolutionary divergence within a single biotope. *Synechococcus* sp. bin7 belongs to a freshwater clade, whereas *Synechococcus* sp. bin8 belongs to a mixed clade that also contains genomes of marine strains. Additionally, genes associated with stress response, antibiotic resistance, and CRISPR-Cas systems were identified in the genomes. Genes associated with antibiotic resistance (including the conserved *vanY/vanT*) and CRISPR-Cas systems, which are characteristic of freshwater cyanobacteria, were found in the genomes. The identified differences in metabolic potential, including a more developed energy metabolism and membrane transport system in *Synechococcus* sp. bin7, as well as the presence of the strain-specific *cas4* gene in *Synechococcus* sp. bin8, reflect the differentiation of ecological niches along the vertical light gradient and competitive strategies under oligotrophic conditions. The identified genes associated with the synthesis of terpenes, polyketides, and non-ribosomal peptides suggest that the studied strains possess biotechnological potential, which, after further investigation, may find application in pharmacology and bioremediation. It should be emphasized that all conclusions regarding antibiotic resistance and biosynthetic potential are based on genomic data and are predictive in nature, requiring experimental verification. The obtained results expand the existing understanding of genomic diversity, ecological plasticity, and molecular mechanisms of adaptation of freshwater picocyanobacteria in the endemic ecosystem of Lake Baikal.

Acknowledgements

This work was supported by the State Research Topic of LIN SB RAS No. FWSR-2026-0004 1023032700318-2-1.6.2.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Abe I., Morita H. 2010. Structure and function of the chalcone synthase superfamily of plant type III polyketide synthases. *Natural Product Reports* 27(6): 809–838. DOI: [10.1039/b909988n](https://doi.org/10.1039/b909988n)

- Alcock B.P., Huynh W., Chalil R. et al. 2023. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistance prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research* 51(D1): D690–D699. DOI: [10.1093/nar/gkac920](https://doi.org/10.1093/nar/gkac920)
- Arthur M., Quintiliani R. 2001. Regulation of VanA- and VanB-type glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(2): 375–381. DOI: [10.1128/AAC.45.2.375-381.2001](https://doi.org/10.1128/AAC.45.2.375-381.2001)
- Austin M.B., Noel J.P. 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Natural Product Reports* 20(1): 79–110. DOI: [10.1039/b100917f](https://doi.org/10.1039/b100917f)
- Aziz R.K., Bartels D., Best A.A. et al. 2008. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics* 9: 75. DOI: [10.1186/1471-2164-9-75](https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75)
- Belykh O.I., Sorokovikova E.G. 2003. Autotrophic picoplankton in Lake Baikal: Abundance, dynamics, and distribution. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 6(3): 251–261. DOI: [10.1080/14634980301489](https://doi.org/10.1080/14634980301489)
- Belykh O.I., Tikhonova I.V., Sorokovikova Ye.G. et al. 2011. Picoplankton Cyanoprokaryota of Genera *Synechococcus* Nägeli and *Cyanobium* Rippka et Cohen-Baz. from Lake Baikal (Russia). *International Journal on Algae* 13(2): 149–163. DOI: [10.1615/InterJAlgae.v13.i2.50](https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v13.i2.50)
- Bertelli C., Brinkman F.S.L. 2018. Improved genomic island predictions with IslandViewer 4. *Nucleic Acids Research* 46(W1): W26–W30. DOI: [10.1093/nar/gky376](https://doi.org/10.1093/nar/gky376)
- Blair J.M.A., Webber M.A., Baylay A.J. et al. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* 13: 42–51. DOI: [10.1038/nrmicro3380](https://doi.org/10.1038/nrmicro3380)
- Blin K., Shaw S., Weber T. 2025. antiSMASH 8.0: extended gene cluster detection capabilities and analyses of chemistry, enzymology, and regulation. *Nucleic Acids Research* 53(W1): W32–W38. DOI: [10.1093/nar/gkac1110](https://doi.org/10.1093/nar/gkac1110)
- Bray N.L., Pimentel H., Melsted P. et al. 2016. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature Biotechnology* 34(5): 525–527. DOI: [10.1038/nbt.3519](https://doi.org/10.1038/nbt.3519)
- Brown T.A. 2018. *Genomes 4*. 4th ed. New York: Garland Science. DOI: [10.1201/9781315226828](https://doi.org/10.1201/9781315226828)
- Cabello-Yeves P.J., Haro-Moreno J.M., Martín-Cuadrado A.B. et al. 2018. Novel *Synechococcus* genomes reconstructed from freshwater reservoirs unravel ecological and genomic differentiation. *Scientific Reports* 8(1): 1109. DOI: [10.1038/s41598-018-19227-0](https://doi.org/10.1038/s41598-018-19227-0)
- Cabello-Yeves P.J., Picazo A., Camacho A. et al. 2018. Ecological and genomic features of two widespread freshwater picocyanobacteria. *Environmental Microbiology* 20(10): 3757–3771. DOI: [10.1111/1462-2920.14377](https://doi.org/10.1111/1462-2920.14377)
- Callieri C. 2017. *Synechococcus* plasticity under environmental changes. *FEMS Microbiology Letters* 364(23): fnx229. DOI: [10.1093/femsle/fnx229](https://doi.org/10.1093/femsle/fnx229)
- Carratalà A., Chappelier C., Selmoni O. et al. 2023. Vertical distribution and seasonal dynamics of planktonic cyanobacteria communities in a water column of deep mesotrophic Lake Geneva. *Frontiers in Microbiology* 14: 1295193. DOI: [10.3389/fmicb.2023.1295193](https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1295193)
- Cerk K., Ugalde-Salas P., Nedjad C.G. et al. 2024. Community-scale models of microbiomes: Articulating metabolic modelling and metagenome sequencing. *Microbial Biotechnology* 17(1): e14396. DOI: [10.1111/1751-7915.14396](https://doi.org/10.1111/1751-7915.14396)
- Chiriac M.C., Haber M., Salcher M.M. 2023. Adaptive genetic traits in pelagic freshwater microbes. *Environmental Microbiology* 25(3): 606–641. DOI: [10.1111/1462-2920.16340](https://doi.org/10.1111/1462-2920.16340)
- Cimermancic P., Medema M.H., Claesen J. et al. 2014. Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters. *Cell* 158(2): 412–421. DOI: [10.1016/j.cell.2014.06.034](https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.034)
- Coutinho F., Theodorou M.C., Antunes A. 2016. Comparative genomics of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*: a review. *Journal of Marine Science and Engineering* 4(4): 78. DOI: [10.3390/jmse4040078](https://doi.org/10.3390/jmse4040078)
- Dittmann E., Gugger M., Sivonen K. et al. 2015. Natural product biosynthetic diversity and comparative genomics of the cyanobacteria. *Trends in Microbiology* 23(10): 642–652. DOI: [10.1016/j.tim.2015.07.008](https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.07.008)
- Druce E., Chiriac M.C., Sánchez P. et al. 2023. Metagenomic insights into the evolution and adaptive strategies of cyanobacteria from freshwater to marine environments. *Environmental Microbiology* 25(4): 789–805. DOI: [10.1111/1462-2920.16340](https://doi.org/10.1111/1462-2920.16340)
- Dvorak P., Casamatta D.A., Poulickova A. et al. 2014. *Synechococcus*: 3 billion years of global dominance. *Molecular Ecology* 23(22): 5538–5551. DOI: [10.1111/mec.12948](https://doi.org/10.1111/mec.12948)
- Flombaum P., Gallegos J.L., Gordillo R.A. et al. 2013. Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 110(24): 9824–9829. DOI: [10.1073/pnas.1307701110](https://doi.org/10.1073/pnas.1307701110)
- Garcia-Pichel F., Lombard M.A., Soule T. et al. 2019. Cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structure, and ecological significance. In: Mishra A.K., Tiwari D.N., Rai A.N. (Eds.), *Cyanobacteria: From Basic Science to Applications*. Academic Press, pp. 77–98. DOI: [10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0)
- Grant J.R., Enns E., Marinier E. et al. 2023. Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research* 51(W1): W484–W492. DOI: [10.1093/nar/gkad326](https://doi.org/10.1093/nar/gkad326)
- Gutnik D.I., Potapov S.A., Krasnopeev A.Y. et al. 2024. Characterization of *Saccharimonadia* bacteria in Lakes Baikal and Khubsugul: taxonomic and functional diversity. *Limnology and Freshwater Biology* 4: 908–924. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-908](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-908)
- Jain C., Rodriguez-R L.M., Phillippy A.M. et al. 2018. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nature Communications* 9(1): 5114. DOI: [10.1038/s41467-018-07641-9](https://doi.org/10.1038/s41467-018-07641-9)
- Katoh K., Standley D.M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30(4): 772–780. DOI: [10.1093/molbev/mst010](https://doi.org/10.1093/molbev/mst010)
- Komárek J., Kaštovský J., Mareš J. et al. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia* 86(4): 295–335.
- Komárek J., Johansen J.R., Šmarda J. et al. 2020. Phylogeny and taxonomy of *Synechococcus*-like cyanobacteria. *Fottea* 20(2): 123–134. DOI: [10.5507/fot.2020.006](https://doi.org/10.5507/fot.2020.006)
- Kust A., Khmelnitsky M., Miroshnikov A. et al. 2018. Secondary metabolites of cyanobacteria from Lake Baikal. *Limnology and Freshwater Biology* 1: 46–52.
- Leão P.N., Nakamura H., Costa M. et al. 2019. Structure of Hierridin C, Synthesis of Hierridins B and C, and Evidence for Prevalent Alkylresorcinol Biosynthesis in Picocyanobacteria. *Journal of Natural Products* 82(3): 572–578. DOI: [10.1021/acs.jnatprod.8b01038](https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b01038)
- Martsinechko A.S., Chebykin E.P., Chebunina N.S. et al. 2024. Assessment of the water quality of Lake Baikal and its tributaries in areas affected by local pollution based on microbiological and hydrochemical data. *Limnology and Freshwater Biology* 4: 998–1004. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-998](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-998)
- McGinn J., Marraffini L.A. 2019. Molecular mechanisms of CRISPR–Cas spacer acquisition. *Nature Reviews Microbiology* 17: 7–12. DOI: [10.1038/s41579-018-0071-7](https://doi.org/10.1038/s41579-018-0071-7)
- Medema M.H., Blin K., Cimermancic P. et al. 2011. antiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. *Nucleic Acids Research* 39(suppl_2): W339–W346. DOI: [10.1093/nar/gkr466](https://doi.org/10.1093/nar/gkr466)

- Musto H., Naya H., Zavala A. et al. 2004. Correlations between genomic GC levels and optimal growth temperatures in prokaryotes. *FEBS Letters* 573(1-3): 73–77. DOI: [10.1016/j.febslet.2004.07.056](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.07.056)
- Nagata T., Takai K., Kawanobe K. et al. 1994. Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: Abundance, growth and grazing mortality during summer. *Journal of Plankton Research* 16(8): 945–959. DOI: [10.1093/plankt/16.8.945](https://doi.org/10.1093/plankt/16.8.945)
- Okamoto S., Tamaru A., Nakajima C. et al. 2007. Loss of a conserved 7-methylguanosine modification in 16S rRNA confers low-level streptomycin resistance in bacteria. *Molecular Microbiology* 63(4): 1096–1106. DOI: [10.1111/j.1365-2958.2006.05585.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05585.x)
- Ondov B.D., Treangen T.J., Melsted P. et al. 2016. Mash: fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. *Genome Biology* 17: 132. DOI: [10.1186/s13059-016-0997-x](https://doi.org/10.1186/s13059-016-0997-x)
- Osipova S.V., Bondarenko N.A., Obolkina L.A. et al. 2010. Communities in the ultrapure ice of Lake Baikal: distinctive characteristics and adaptive strategies of ice inhabitants. In: 20th IAHR International Symposium on Ice. Lahti, Finland.
- Pancrace C., Gugger M., Calteau A. 2017. Genomics of NRPS/PKS biosynthetic gene clusters in cyanobacteria. In: Los D.A. (Ed.), *Cyanobacteria: Omics and Manipulation*. Caister Academic Press, pp. 119–140. DOI: [10.21775/9781910510197.07](https://doi.org/10.21775/9781910510197.07)
- Pittera J., Humily F., Thorel M. et al. 2014. Connecting thermal physiology and latitudinal niche partitioning in marine *Synechococcus*. *The ISME Journal* 8(6): 1221–1236. DOI: [10.1038/ismej.2013.228](https://doi.org/10.1038/ismej.2013.228)
- Rodriguez-Valera F., Martin-Cuadrado A.B., Lopez-Perez M. 2017. Flexible genomic islands as drivers of genome evolution in bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 39: 48–54. DOI: [10.1016/j.mib.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.09.005)
- Rosales S.A., Rouse J.D., Pellechia P.J. et al. 2005. Halotolerance of cyanobacteria and their potential for biotechnology applications. *Applied and Environmental Microbiology* 71(8): 4491–4498. DOI: [10.1128/AEM.71.8.4491-4498.2005](https://doi.org/10.1128/AEM.71.8.4491-4498.2005)
- Rusinek O.T. 2009. *Baikal Studies*. Book 1. Irkutsk: Irkutsk State University Press. (in Russian)
- Shapiro B.J., Polz M.F. 2015. Microbial speciation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7(10): a018143. DOI: [10.1101/cshperspect.a018143](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018143)
- Sinkunas T., Gasiunas G., Fremaux C. et al. 2011. Cas3 is a single-stranded DNA nuclease and ATP-dependent helicase in the CRISPR/Cas immune system. *The EMBO Journal* 30(7): 1335–1342. DOI: [10.1038/emboj.2011.41](https://doi.org/10.1038/emboj.2011.41)
- Sorek R., Lawrence C.M., Wiedenheft B. 2013. CRISPR-mediated adaptive immune systems in bacteria and archaea. *Annual Review of Biochemistry* 82: 237–266. DOI: [10.1146/annurev-biochem-072911-172315](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-072911-172315)
- Srivastava A., Thapa S., Chakdar H. et al. 2022. Cyanobacterial myxoxanthophylls: biotechnological interventions and biological implications. *Critical Reviews in Biotechnology* 42(5): 765–780. DOI: [10.1080/07388551.2021.1962791](https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1962791)
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30(9): 1312–1313. DOI: [10.1093/bioinformatics/btu033](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033)
- Stogios P.J., Savchenko A. 2020. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. *Protein Science* 29(3): 654–669. DOI: [10.1002/pro.3819](https://doi.org/10.1002/pro.3819)
- Wagner G.P., Kin K., Lynch V.J. 2012. Measurement of mRNA abundance using RNA-seq data: RPKM measure is inconsistent among samples. *Theory in Biosciences* 131(4): 281–285. DOI: [10.1007/s12064-012-0162-3](https://doi.org/10.1007/s12064-012-0162-3)
- Wattam A.R., Davis J.J., Assaf R. et al. 2017. Improvements to PATRIC, the all-bacterial Bioinformatics Database and Analysis Resource Center. *Nucleic Acids Research* 45(D1): D535–D542. DOI: [10.1093/nar/gkw1017](https://doi.org/10.1093/nar/gkw1017)
- Yang C., Chowdhury D., Zhang Z. et al. 2021. A review of computational tools for generating metagenome-assembled genomes from metagenomic sequencing data. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 19: 6301–6314. DOI: [10.1016/j.csbj.2021.11.028](https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.11.028)
- Yoshida Y., Sekino T., Genkai-Kato M. et al. 2003. Seasonal dynamics of primary production in the pelagic zone of southern Lake Baikal. *Limnology* 4(1): 53–62. DOI: [10.1007/s10201-002-0089](https://doi.org/10.1007/s10201-002-0089)
- Zhaxybayeva O., Doolittle W.F., Papke R.T. et al. 2009. Intertwined evolutionary histories of marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus marinus*. *Genome Biology and Evolution* 1: 325–339. DOI: [10.1093/gbe/evp032](https://doi.org/10.1093/gbe/evp032)

Анализ геномов пикоцианобактерий рода *Synechococcus* из озера Байкал

Оригинальная статья

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGYКалужная О.В.^{id}, Гутник Д.И.^{id}, Краснопеев А.Ю.^{id}, Тихонова И.В.^{id},
Потапов С.А.^{id}, Белых О.И.^{id}

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

АННОТАЦИЯ. Род *Synechococcus* – фотосинтезирующие пикоцианобактерии, которые, как автотрофные микроорганизмы, вносят значительный вклад в продукцию органического вещества и кислорода в морских и пресноводных экосистемах. Широкое распространение представителей рода *Synechococcus* обусловлено их генетическим разнообразием и экологической пластичностью. Особый интерес представляет изучение этих микроорганизмов в уникальных природных экосистемах, таких как озеро Байкал – пресное олиготрофное глубоководное озеро с высоким процентом эндемизма населяющих его видов. В работе проведен анализ двух геномов представителей рода *Synechococcus*, восстановленных из метагеномных данных микробных сообществ воды озера Байкал (MAGs): *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8. Дана структурно-функциональная характеристика геномов, определены гены антибиотикорезистентности и синтеза вторичных метаболитов. Филогенетический анализ, включающий 90 ближайших пресноводных, морских представителей рода *Synechococcus* и исследуемых MAGs, показал, что геномы относятся к разным, достаточно удаленным, филогенетическим кладам.

Ключевые слова: *Synechococcus*, озеро Байкал, метагеномно-собранные геномы (MAGs), филогеномика, антибиотикорезистентность

Для цитирования: Калужная О.В., Гутник Д.И., Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В., Потапов С.А., Белых О.И. Анализ геномов пикоцианобактерий рода *Synechococcus* из озера Байкал // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 554-574. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-554

1. Введение

Цианобактерии рода *Synechococcus* – это доминирующая группа автотрофного пикопланктона в водных экосистемах. Они вносят значительный вклад в первичную продукцию органического вещества и кислорода и служат основой пищевых цепей (Flombaum et al., 2013; Callieri, 2017). Широкое распространение, приспособленность к разным экологическим условиям обитания, высокая численность и малые размеры клеток делают виды *Synechococcus* удобной моделью для изучения экологической и генетической адаптации микроорганизмов (Shapiro and Polz, 2015). Озеро Байкал – уникальная глубоководная экосистема, характеризующаяся высокой степенью эндемизма биоты, низкой температурой воды, не превышающей в пелагиали озера 10–12 °C даже в летний период и её исключитель-

ной чистотой (Rusinek, 2009; Osipova et al., 2010). Пикоцианобактерии, включая представителей рода *Synechococcus*, играют заметную роль в байкальском планктонном сообществе, особенно в период летней стратификации, когда их численность достигает 10⁶ клеток/мл (Belykh and Sorokovikova, 2003; Belykh et al., 2011). Их вклад в первичную продукцию, биомассу фитопланктона и концентрацию хлорофилла в Байкале достигает 80% (Nagata et al., 1994; Yoshida et al., 2003; Belykh and Sorokovikova, 2003).

Исследование генетического разнообразия и филогении цианобактерий представляет значительный научный интерес, поскольку позволяет уточнить их систематическое положение и выявить эволюционные связи между различными таксонами (Komárek et al., 2014; Garcia-Pichel et al., 2019). Способность цианобактерий рода *Synechococcus*

*Автор для переписки. Адрес e-mail: olga@lin.irk.ru (О.В. Калужная)

Поступила: 10 июля 2026;

Принята после доработки: 12 августа 2026;

Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



колонизировать водоёмы с разной солёностью, температурным режимом и трофностью зависит от их принадлежности к определенной эволюционной линии (Flombaum et al., 2013). Исследования эколого-функциональных особенностей рода *Synechococcus* проведены преимущественно на морских или модельных пресноводных видах, тогда как представители природных популяций из экстремальных и эндемичных экосистем, таких как Байкал, описаны недостаточно (Druce et al., 2023; Chiriac et al., 2023; Cabello-Yeves et al., 2018a; 2018b). Для древних олиготрофных озёр, где *Synechococcus* обеспечивают до 80% первичной продукции, такие данные необходимы для понимания устойчивости экосистемы (Callieri, 2017; Belykh and Sorokovikova, 2003).

Традиционные методы выделения чистых культур цианобактерий трудоёмки и часто не отражают весь спектр генетического разнообразия *in situ*. Альтернативным подходом служит метагеномное секвенирование, позволяющее реконструировать метагеномно-собранные геномы (MAGs) из образцов окружающей среды без культивирования (Yang et al., 2021). Хотя MAGs представляют собой фрагментированные сборки, содержащие отдельные контиги, а не идеальные полные геномы, этот подход дает возможность изучать структурно-функциональную организацию геномов, выявлять ключевые метаболические пути и гены адаптации к абиотическим и биотическим факторам среды, а также оценивать разнообразие и филогенетическое положение представителей природной популяции (Cerk et al., 2024).

Анализ метаболических путей позволяет установить биохимический потенциал микроорганизма, его метаболические ограничения и механизмы адаптации к абиотическим факторам среды. Метаболический профиль определяет спектр усваиваемых соединений, способность к автотрофии, дыханию, ассимиляции нитратов и сульфатов. Реконструкция таких путей по геномным данным даёт возможность прогнозировать зависимость от внешних источников углерода, азота и серы, а также выявлять ключевые узлы регуляции. Сравнение метаболических модулей между штаммами позволяет обнаружить молекулярные основы устойчивости к стрессам, конкурентные преимущества в конкретных местообитаниях и эволюционные тренды редукции или экспансии генов, что важно как для понимания экологической роли *Synechococcus*, так и для оценки их биотехнологического потенциала.

Цель работы – сравнительный анализ структурной организации геномов, адаптивных механизмов и филогенетического положения двух метагеномно-собранных геномов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8, восстановленных из проб воды озера Байкал, а также оценка их метаболического потенциала. Предполагается, что эти штаммы, обитающие в единой экологической нише, могут демонстрировать геномные различия, отражающие разные адаптивные стратегии.

2. Материалы и методы

Пробы воды объёмом 20 л с каждой глубины (5 и 20 м) были отобраны в июле 2024 г. на середине разреза Листвянка–Танхой (озеро Байкал). Образцы последовательно фильтровали через поликарбонатные фильтры с диаметром пор 5,0 мкм для удаления крупных частиц; 0,4 мкм и 0,22 мкм для сбора пикоцианобактерий. Поэтапную фильтрацию воды, экстракцию ДНК, секвенирование, метагеномную сборку геномов выполняли согласно ранее описанной методике (Gutnik et al., 2024). Для каждой пробы секвенирование выполняли в двух независимых парно-концевых запусках (2×150 п.н.). Суммарный объём сырых данных составил 19,1 Гб для пробы с 5 м и 26,8 Гб для пробы с 20 м; после объединения данных запусков общее количество парных ридов достигло 63,7 млн и 89,3 млн соответственно. Совместная сборка ридов из проб с глубин 5 и 20 м позволила реконструировать MAGs, присутствующих в обеих пробах. Относительное количество восстановленных MAGs в метагеномных пробах по глубинам оценивали с помощью TPM (Transcripts Per Million) (Wagner et al., 2012; Bray et al., 2016). Для аннотации метагеномно-собранных геномов (MAGs) использовали сервис Genome Annotation Service на базе платформы RAST (Aziz et al., 2008) в рамках ресурса Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC). Для оценки степени родства восстановленных MAGs с известными геномами цианобактерий рассчитывали среднюю нуклеотидную идентичность (ANI) (Jain et al., 2018).

Для анализа филогенетического положения исследуемых MAGs провели поиск наиболее близких общедоступных геномов с помощью инструмента Similar Genome Finder, встроенного в BV-BRC (Ondov et al., 2016), где расстояние между геномами рассчитывается методом Mash. В филогенетический анализ включали геномы, удовлетворявшие пороговым значениям: достоверности (P value) < 0,01 и дистанции (Distance) < 0,2. Всего было выбрано 90 геномов, включая два исследуемых MAGs. В качестве внешней группы (outgroup) для построения дерева использовали геном цианобактерии *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (GCA_000011385.1). Для всех отобранных геномов из 1000 кандидатных PGFam-генов программой были отобраны 127 однокопийных маркеров при допустимом уровне пропусков (не более 5 делеций или не более 5 дубликаций на ген в выборке). Выравнивание соответствующих им белковых последовательностей (127 выравниваний, суммарно 41 816 аминокислотных позиций) выполнили с помощью MAFFT (Katoh and Standley, 2013). На основе отобранных однокопийных белковых маркеров было построено филогенетическое дерево методом максимального правдоподобия; оценку бутстреп-поддержки провели в программе RAxML версии 8.2 (Stamatakis, 2014).

Определение CRISPR-массивов с ассоциированными белками Cas выполняли с помощью Bakta на веб-платформе Proksee (Grant et al., 2023).

Аннотация генов, вовлечённых в чувствительность и устойчивость к противомикробным препаратам, выполнялась путём сравнения с референсными базами данных PATRIC и CARD (Wattam et al., 2017; Alcock et al., 2023).

Поиск биосинтетических кластеров генов вторичных метаболитов в исследуемых геномах выполняли с использованием онлайн-версии программной платформы antiSMASH 8.0.4 (Medema et al., 2011; Blin et al., 2025) с параметрами по умолчанию (уровень строгости HMM-детекции — relaxed). Для оценки сходства обнаруженных генетических локусов с известными кластерами использовали встроенные модули ClusterBlast и KnownClusterBlast. Согласно алгоритмам antiSMASH, для ClusterBlast (сравнение с предсказанными кластерами из базы antiSMASH) применяются пороги минимальной идентичности 30% и покрытия 10%, тогда как для KnownClusterBlast (сравнение с экспериментально подтверждёнными кластерами из базы MIBiG) — 45% и 40% соответственно (Blin et al., 2025).

3. Результаты и обсуждение
3.1. Структурная и функциональная организация MAGs

Собранные на основе метагеномных данных геномы *Synechococcus* sp. bin7 (165 контигов, 2 053 016 п.н.) и *Synechococcus* sp. bin8 (145 контигов, 1 829 603 п.н.) показали достаточно высокую полноту сборки — 97,7% и 96,1% соответственно — и низкий уровень контаминации — 1,8% и 1,2%, что свидетельствует о высоком качестве полученных MAGs (Таблица 1).

Несмотря на то, что оба MAGs выделены из одного местообитания и отнесены к одному роду, содержание G + C у них существенно различается (*Synechococcus* sp. bin7 — 65,87%, *Synechococcus* sp. bin8 — 50,22%), что часто ассоциируется с адаптацией к разным экологическим условиям (Musto et al., 2004). Высокий GC-состав штамма *Synechococcus* sp. bin7 может свидетельствовать о его лучшей адаптации к стрессовым факторам поверхностных вод, таким как интенсивное УФ-излучение и окислительный стресс (Zhaxybayeva et al., 2009).

Оценка относительного обилия по данным метагеномики (TPM, рассчитанный по ДНК) показала, что на глубине 5 м количество генетического материала *Synechococcus* sp. bin7 (48 321 TPM) значительно выше, чем у *Synechococcus* sp. bin8 (11 728 TPM). С увеличением глубины до 20 м относительное обилие обоих штаммов снижается, однако у *Synechococcus* sp. bin7 падение выражено сильнее — в 3,3 раза (до 14 567 TPM), тогда как у *Synechococcus* sp. bin8 — в 1,7 раза (до 6 835 TPM).

Снижение относительного обилия (TPM) с глубиной указывает на то, что *Synechococcus* sp. bin7 приурочен к поверхностным водам, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 сохраняет более высокую численность в нижних слоях эуфотической зоны. Таким образом, *Synechococcus* sp. bin7 представляет собой специализированный поверхностно-водный штамм, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 демонстрирует более эвриотопную стратегию распределения в толще воды, что может отражать различия в экологических нишах у близкородственных цианобактерий (Pittera et al., 2014).

По результатам аннотации исследуемых геномов в базе BV-BRC с использованием набора инструментов RAST, таксономическое положение геномов следующее: домен *Bacteria*, тип *Cyanobacteriota*, класс *Cyanophyceae*, порядок *Synechococcales*, семейство *Synechococcaceae*, род *Synechococcus*. Наиболее близким геномом для *Synechococcus* sp. bin7, согласно средней нуклеотидной идентичности, является байкальский *Synechococcus* sp. Baikal-G1 (ANI 98,78%), а для *Synechococcus* sp. bin8 — *Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (ANI 97,75%). Поскольку оба значения превышают общепринятый порог видовой дифференциации (95%), *Synechococcus* sp. bin7 может быть отнесён к тому же виду, что и штамм *Synechococcus* sp. Baikal-G1, а *Synechococcus* sp. bin8 — к тому же виду, что и штамм *Synechococcus* sp. LacPavin 0920 (Jain et al., 2018). Значение средней нуклеотидной идентичности (ANI) между исследуемыми штаммами *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8 составило 68%, что значительно ниже общепринятого порога видовой дифференциации (95%) и подтверждает их принадлежность к разным видам.

Таблица 1. Характеристики метагеномно-собранных геномов (MAGs) *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8

Характеристика	<i>Synechococcus</i> sp. bin7	<i>Synechococcus</i> sp. bin8
Длина MAG, п.н.	2 053 016	1 829 603
Полнота сборки, %	97,7	96,1
Контаминация, %	1,8	1,2
Содержание G + C, %	65,87	50,22
Число контигов	165	145
N50, п.н.	21 397	22 259
Ближайший геном (номер доступа NCBI)	<i>Synechococcus</i> sp. Baikal-G1 (GCA_002737305.1)	<i>Synechococcus</i> sp. LacPavin 0920_WC12 (GCA_026389135.1)
средняя нуклеотидная идентичность, ANI, %	98,78	97,75
TPM (5м)	48 321	11 728
TPM (20м)	14 567	6 835

Основные геномные характеристики штаммов, полученные в результате аннотации с использованием платформы PATRIC, а также распределение кодирующих последовательностей (CDS) по функциональным подсистемам RAST, представлены в Таблице 2.

Общее число выявленных кодирующих последовательностей (CDS) у штамма *Synechococcus* sp. bin7 (2 202) больше на 196 генов, чем у *Synechococcus* sp. bin8 (2 006), тогда как количество тРНК практически идентично (36 и 35 соответственно). При этом плотность CDS на 1 млн п.н. оказалась сопоставимой (1 072,6 у bin7 против 1 096,4 у bin8), что указывает на сходную общую насыщенность геномов генетической информацией, а различия в абсолютных числах связаны преимущественно с большим размером генома bin7.

Наиболее существенные различия между штаммами выявлены в категории энергетического метаболизма. Так, у *Synechococcus* sp. bin7 обнаружено 161 CDS против 84 у *Synechococcus* sp. bin8, что может отражать более разветвлённую сеть энергетического метаболизма, включая, возможно, дополнительные компоненты фотосинтетических или дыхательных цепей (Brown, 2018). Подобное явление согласуется с данными о высокой экологической пластичности представителей рода *Synechococcus* (Callieri, 2017). Также в категориях метаболизма насчитывается 445 генов против 355, процессинга белков — 187 против 135 соответственно. Возможно, данный факт предполагает более широкий метаболический потенциал и более эффективный белковый гомеостаз у *Synechococcus* sp. bin7. Почти двукратное различие в генах мембранного транспорта (15 против 8), вероятно, отражает способность *Synechococcus* sp. bin7 усваивать более широкий спектр питательных веществ из окружающей среды. В категории процессинга ДНК также отмечено большее количество генов у *Synechococcus* sp. bin7 (60 против 44), предполагая наличие в этом геноме большего разнообразия систем репарации, однако для окончательного вывода необходим ана-

лиз конкретных генов. Как показано в работе Brown (2018), увеличение числа генов в категориях, связанных с энергетикой и транспортом, часто коррелирует со специализацией к определённым экологическим нишам, что согласуется с данными по распределению относительного обилия штаммов.

При этом в категории клеточных процессов наблюдается обратная картина: у *Synechococcus* sp. bin8 зафиксировано 30 генов против 17 у *Synechococcus* sp. bin7, стрессового ответа (45 против 43), процессинга РНК (48 против 47) и клеточной оболочки (11 против 12). В этих категориях показатели различаются незначительно, что может говорить о сопоставимой адаптации обоих штаммов и отражать сходство базовых механизмов выживания (Martsinechko et al., 2024). Число генов регуляции и клеточной сигнализации (по 3 на каждый MAG) может свидетельствовать о консервативности этих систем у исследуемых пикоцианобактерий.

Выявленные различия в количестве генов энергетического и метаболического обмена хорошо согласуются с данными по распределению относительного обилия (TPM) двух штаммов по глубине. Более высокое содержание генетического материала *Synechococcus* sp. bin7 в поверхностном слое (5 м: 48 321 TPM против 11 728 TPM у bin8) и более резкое его снижение с глубиной (падение в 3,3 раза у *Synechococcus* sp. bin7 против 1,7 раза у *Synechococcus* sp. bin8) указывают на специализацию этого штамма к хорошо освещённой эуфотической зоне. Развитая система энергетического метаболизма (161 против 84 CDS) и мембранного транспорта (15 против 8) у *Synechococcus* sp. bin7, вероятно, обеспечивают эффективную утилизацию световой энергии и захват питательных веществ в олиготрофных поверхностных водах, где конкуренция за ресурсы особенно высока (Flombaum et al., 2013). Напротив, *Synechococcus* sp. bin8, имеющий более скромный набор генов энергетического метаболизма, демонстрирует более стабильное относительное обилие в диапазоне 5–20 м, что может свидетельствовать о его способности существовать при

Таблица 2. Функциональная аннотация геномов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8

Показатели аннотации (PATRIC)	<i>Synechococcus</i> sp. bin7	<i>Synechococcus</i> sp. bin8
CDS	2202	2006
tRNA	36	35
CDS гены подсистем (RAST)		
Метаболизм	445	355
Процессинг белков	187	135
Стрессовый ответ	45	43
Энергетический метаболизм	161	84
Процессинг РНК	48	47
Процессинг ДНК	60	44
Клеточные процессы	17	30
Клеточная оболочка	11	12
Мембранный транспорт	15	8
Регуляция и клеточная сигнализация	3	3
Число CDS на 1 млн п.н.	1 072,6	1 096,4

пониженной освещённости, характерной для глубин нижней границы эуфотической зоны. Таким образом, геномные различия в метаболическом потенциале отражают дифференциацию экологических ниш по вертикальному градиенту освещённости: *Synechococcus* sp. bin7 — специалист поверхностных вод, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 — генералист с более широкой глубинной амплитудой.

Сходство в числе генов антистрессовых систем (45 против 43) подтверждает наличие общих адаптивных стратегий к условиям глубоководного эндемичного озера (Rodriguez-Valera et al., 2017), где факторами отбора могут выступать сезонные колебания температуры, низкая минерализация и высокая прозрачность вод, характерная для Байкала. Повышенное содержание G+C у *Synechococcus* sp. bin7 (65,87%) по сравнению с *Synechococcus* sp. bin8 (50,22%) дополнительно поддерживает гипотезу о лучшей адаптации первого к окислительному стрессу в поверхностных водах с высокой инсоляцией (Zhaxybayeva et al., 2009).

Круговая диаграмма аннотации геномов отражает структурно-функциональную организацию исследуемых MAGs (Рис. 1). От внешнего к внутреннему кольцу на диаграмме отображены: контиги в порядке убывания их длин, CDS на прямой и CDS на обратной нитях, гены РНК, CDS с гомологией к генам антибиотикорезистентности, CDS с гомологией к факторам вирулентности, G+C-состав и G/C-асимметрия на контигах. Цвет CDS на диаграмме соответствует их принадлежности к функциональным подсистемам RAST согласно Таблице 2. Выявленные локусы антибиотикорезистентности и вирулентности относятся к категории генов, ассоциированных с адаптивными признаками микроорганизмов (Bertelli and Brinkman, 2018).

Следует отметить, что интерпретация различий по числу CDS требует осторожности, поскольку часть генов может быть результатом дубликаций, различий в аннотации или наличия псевдогенов в исследуемых MAGs. Тем не менее, выявленные паттерны согласуются с гипотезой о дифференциации экологических ниш двух байкальских штаммов

Synechococcus по вертикальному градиенту освещённости (Flombaum et al., 2013; Rodriguez-Valera et al., 2017).

3.2. Филогенетический анализ

Филогенетическое дерево, построенное на основе 90 геномов пикоцианобактерий, представлено на Рисунке 2. Анализируемая выборка включала 44 генома пресноводных штаммов, среди которых: исследуемые MAGs *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8 (выделены красным цветом и жирным шрифтом), подгруппа из 7 байкальских MAGs, полученных ранее (фиолетовый цвет), и остальные 35 геномов пресноводных пикоцианобактерий из международных баз данных (зелёный цвет). Морскую группу составили 45 геномов (синий цвет). Значения бутстреп-поддержки указаны на ветвях при уровне более 50%. В качестве внешней группы (outgroup) использован геном *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (чёрный цвет) — наиболее эволюционно удалённый представитель цианобактерий, занимающий базальное положение на филогенетическом дереве.

Исследуемые байкальские MAGs распределились по двум филогенетически удалённым кладам, различающимся по составу и экологической репрезентативности. *Synechococcus* sp. bin7 локализован в кладе, объединяющей исключительно пресноводные штаммы: *Synechococcus* sp. Baikal-G1 (Байкал), *Synechococcus* sp. UW140 strain MsE-30apr19-67 и *Synechococcus* sp. UW140 MiH-22jul19-245 (Чехия), а также некультивированные *Synechococcus* sp. Umealp2_bin949 и Umealp3_bin942 (Швеция). Данный кластер демонстрирует связь с олиготрофными и мезотрофными экосистемами и приуроченность к поверхностным, хорошо освещённым горизонтам, что согласуется с высоким относительным обилием *Synechococcus* sp. bin7 в эвфотической зоне (5 м: 48 321 TPM) (Dvorak et al., 2014; Callieri, 2017). Напротив, *Synechococcus* sp. bin8 вошёл в смешанную кладу, объединяющую как пресноводные, так и морские геномы. Наиболее близкими

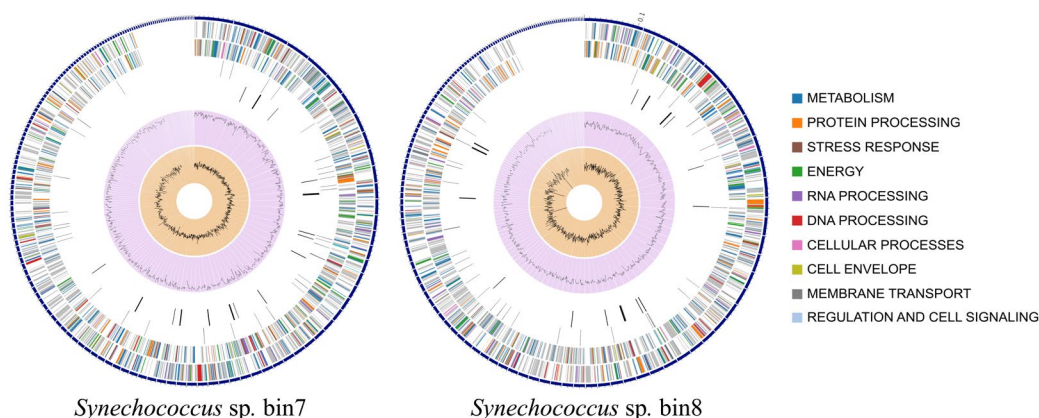


Рис.1. Круговая диаграмма аннотации геномов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8. От внешнего к внутреннему кругу картированы: контиги исследуемых MAGs, кодирующие последовательности (CDS) на прямой нити, CDS на обратной нити, гены РНК, гены гомологичные известным генам устойчивости к антимикробным препаратам, содержание G+C и асимметрия GC. Масштаб круговой диаграммы – 1 деление 0,1 млн п.н. Цвета CDS на прямой и обратной нити указывают на подсистему генов (согласно легенде).

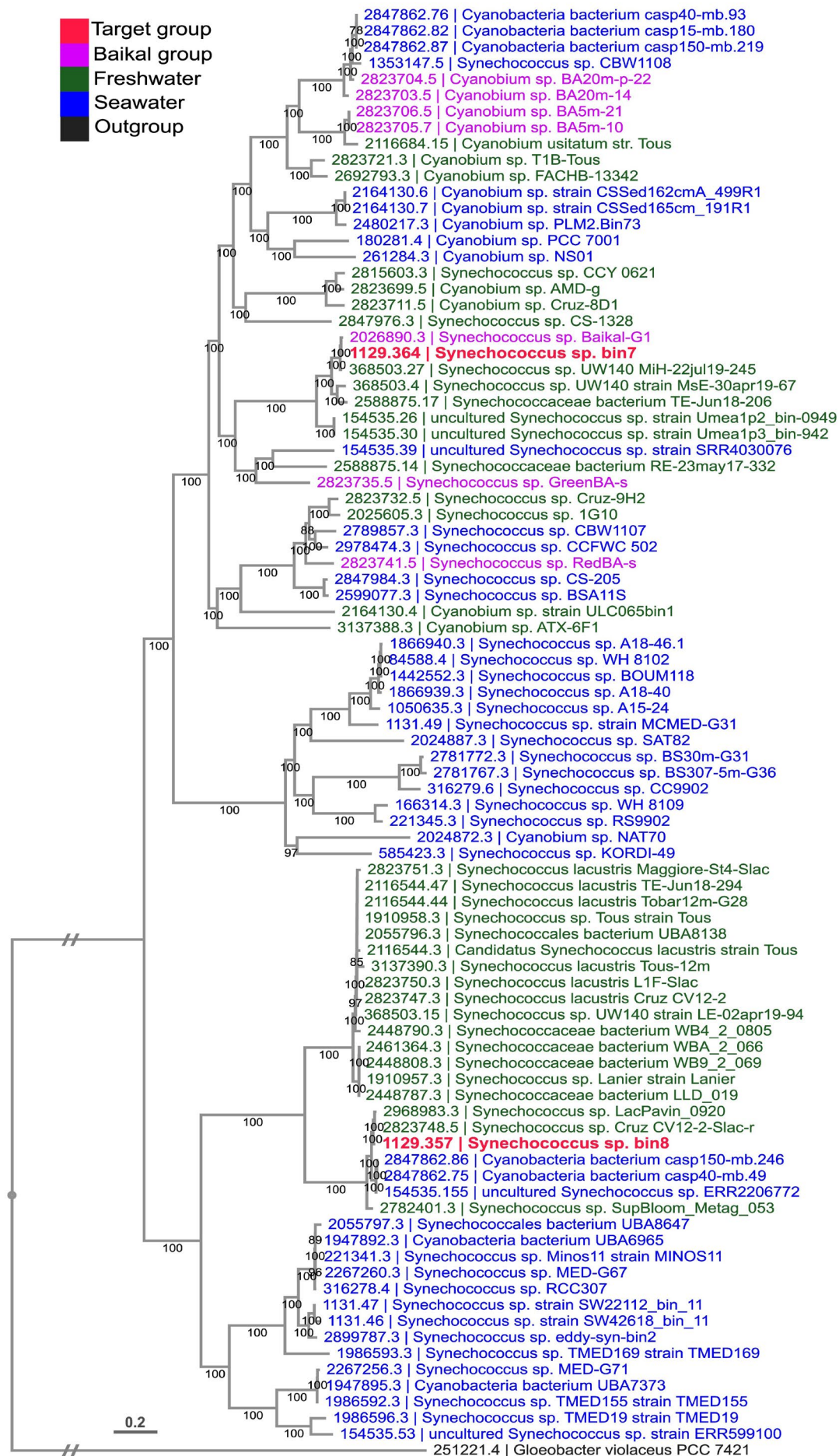


Рис.2. Филогенетическое дерево пикоцианобактерий, построенное на основе 127 однокопийных маркерных генов. Бутстреп-поддержка > 50% отмечена на ветвях. Цветами выделены группы: красный – исследуемые MAGs *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8, фиолетовый – байкальские штаммы, зелёный – остальные представители пресноводной группы, синий – группа морских штаммов. Внешняя группа – *Gloeobacter violaceus* PCC 7421.

к нему оказались пресноводные штаммы из озера Павин (*Synechococcus* sp. LacPavin_0920_WC12_MAG_50_7, Франция), озера Ла-Крус (*Synechococcus* sp. Cruz CV12-2-Slac-r, Испания; известен также как *Synechococcus lacustris*), озера Верхнее (*Synechococcus* sp. SupBloom_Metag_053), а также морские штаммы из Каспийского моря (*Cyanobacteria bacterium* casp150_mb.24 и casp40_mb.49) и Балтийского моря (некультивируемый *Synechococcus* sp. ERR2206772_bin.170). Присутствие в этой кладе представителей из водоёмов различного трофического статуса — от ультраолиготрофных до эвтрофных — а также морских форм указывает на более широкую экологическую пластичность данного кластера (Cabello-Yeves et al., 2018b; Carratalà et al., 2023). Это согласуется с относительным обилием *Synechococcus* sp. bin8, которое снижается с глубиной менее резко (всего в 1,7 раза: с 11 728 до 6 835 TPM), что свидетельствует о его способности сохранять метаболическую активность в более широком диапазоне глубин (Pittera et al., 2014; Flombaum et al., 2013).

Род *Synechococcus* является полифилетическим: часть морских штаммов, включённых в анализ и ранее относимых к *Synechococcus*, согласно современным данным, принадлежит к сестринской по отношению к *Prochlorococcus* кладе, валидированной как самостоятельный род *Parasynechococcus* (Coutinho et al., 2016; Komárek et al., 2020). Отбор референсных геномов для анализа выполнен с использованием пороговых значений достоверности и геномной дистанции, рассчитанной методом Mash, а филогенетическое дерево построено на основе однокопийных маркерных генов, что позволяет оценить относительное положение исследуемых MAGs среди доступных референсных геномов и степень их филогенетической удалённости друг от друга.

Значение ANI при сравнении штаммов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8 составило 68%, что указывает на их принадлежность к разным видам и согласуется с расположением в различных филогенетических кладах. Филогенетическая близость *Synechococcus* sp. bin7 к пресноводным штаммам, а *Synechococcus* sp. bin8 — к смешанной кладе с морскими представителями указывает на их различную эволюционную историю. *Synechococcus* sp. bin7, вероятно, отно-

сится к более древней пресноводной линии, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 демонстрирует признаки адаптации к условиям переменной солёности либо принадлежит к филогенетической линии, характеризующейся толерантностью к широкому диапазону солёности (Rosales et al., 2005; Cabello-Yeves et al., 2018b; Flombaum et al., 2013).

Присутствие в кладе *Synechococcus* sp. bin8 морских штаммов из Каспийского моря указывает на филогенетическое родство данного штамма с галофильными линиями, что может рассматриваться как косвенное указание на наличие у байкальского штамма генетического потенциала для адаптации к колебаниям солёности. Однако филогенетическое положение само по себе не является доказательством наличия соответствующих адаптивных механизмов, и для подтверждения этой гипотезы необходима идентификация конкретных генов, участвующих в осмотической регуляции (например, транспортеров осмолитов, систем синтеза совместимых растворённых веществ), присутствие которых в геноме *Synechococcus* sp. bin8 требует отдельного анализа. Таким образом, филогенетический анализ подтвердил генетическое разнообразие байкальских *Synechococcus*, а также показал, что эндемичная экосистема озера Байкал, подобно другим глубоким озёрам, служит резервуаром эволюционного разнообразия цианобактерий (Callieri, 2017; Cabello-Yeves et al., 2018a; Carratalà et al., 2023).

3.3. Антибиотикорезистентность и механизмы иммунной защиты

Сравнение двух штаммов *Synechococcus* sp. bin7 и *Synechococcus* sp. bin8 по наличию генов антибиотикорезистентности и систем защиты выявило как консервативные черты, так и их штаммоспецифичные особенности (Таблица 3).

Оба исследуемых генома содержат набор генов-мишеней антибиотиков: *alr*, *ddl*, *gyrA*, *gyrB*, *rpoB*, *EF-G*, *EF-Tu*, *murA*, *folP*, *dxr*, *inhA*, *fabI*, *kasA*, *S10p*, *S12p* и *Iso-tRNA*, кодирующих белки, необходимые для жизнедеятельности клетки: ферменты синтеза клеточной стенки (*Alr*, *Ddl*, *MurA*), ДНК-гиразу (*GyrA*, *GyrB*), РНК-полимеразу (*RpoB*), факторы элонгации трансляции (*EF-G*, *EF-Tu*), а также ферменты синтеза фолиевой кислоты (*FolP*) и жир-

Таблица 3. Гены чувствительности и устойчивости к противомикробным препаратам и системы CRISPR-Cas по данным PATRIC и CARD

Механизм устойчивости	<i>Synechococcus</i> sp. bin7	<i>Synechococcus</i> sp. bin8
Мишени антибиотиков	<i>alr</i> , <i>ddl</i> , <i>dxr</i> , <i>EF-G</i> , <i>EF-Tu</i> , <i>folP</i> , <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>inhA</i> , <i>fabI</i> , <i>Iso-tRNA</i> , <i>kasA</i> , <i>murA</i> , <i>rpoB</i> , <i>S10p</i> , <i>S12p</i>	<i>alr</i> , <i>ddl</i> , <i>dxr</i> , <i>EF-G</i> , <i>EF-Tu</i> , <i>folP</i> , <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>inhA</i> , <i>fabI</i> , <i>Iso-tRNA</i> , <i>kasA</i> , <i>murA</i> , <i>rpoB</i> , <i>S10p</i> , <i>S12p</i>
Ген, утрата которого даёт устойчивость	<i>gidB</i>	<i>gidB</i>
Устойчивость к гликопептидам (CARD)	<i>vanY</i> , <i>vanT</i>	<i>vanY</i> , <i>vanT</i>
CRISPR-Cas (нуклеазы/геликазы)	<i>cas3</i> (тип I)	<i>cas3</i> (тип I), <i>cas4</i> (типы I–II)

ных кислот (InhA, FabI, KasA). Именно на работу этих белков направлено действие большинства антибиотиков, поэтому присутствие соответствующих генов указывает на сохранность естественной чувствительности цианобактерий к противомикробным препаратам при условии отсутствия мутаций, снижающих аффинность связывания (Blair et al., 2015; Callieri, 2017).

У обоих штаммов обнаружен ген *gidB*, кодирующий метилтрансферазу *GidB*, которая модифицирует 16S рРНК, обеспечивая правильную сборку рибосомы. При инактивации *gidB* метилирование 16S рРНК нарушается, рибосома изменяет конформацию, и аминокликозидные антибиотики теряют способность с ней связываться. Таким образом, утрата функции *GidB* случайным образом даёт клетке устойчивость к аминокликозидам (Okamoto et al., 2007).

Гены гликопептидной устойчивости *vanY* и *vanT* присутствуют у обоих штаммов. Ген *vanY* кодирует D,D-карбоксипептидазу, которая гидролизует концевой D-аланин у чувствительных предшественников клеточной стенки (UDP-MurNAc-пентапептид [D-Ala]), снижая их внутриклеточный пул и тем самым способствуя устойчивости к гликопептидам (Arthur and Quintiliani, 2001). Ген *vanT* кодирует мембраносвязанную сериновую рацемазу, которая превращает L-серин в D-серин — субстрат для синтеза устойчивых к ванкомицину предшественников, терминальный дипептид которых содержит D-аланин-D-серин (VanG-тип устойчивости) (Stogios and Savchenko, 2020). Однако для подтверждения функциональной активности этих генов у байкальских штаммов *Synechococcus* необходимы дополнительные экспериментальные исследования.

Анализ систем CRISPR-Cas выявил следующие различия. CRISPR-Cas представляет собой адаптивную иммунную систему бактерий, которая хранит фрагменты ДНК ранее атаковавших вирусов (спейсеры) и при повторной инфекции разрезает вирусную ДНК. У обоих штаммов обнаружен ген *cas3* I типа. Белок *Cas3* обладает одновременно геликазной и нуклеазной активностью: он разматывает двухцепочечную ДНК вируса и разрезает её, обеспечивая эффекторную стадию иммунитета (Sinkunas et al., 2011). В геноме штамма *Synechococcus* sp. bin8 дополнительно присутствует ген *cas4*, относящийся к типам I–II. Белок *Cas4* участвует на стадии адаптации: он помогает отличить чужеродную ДНК от собственной и облегчает интеграцию новых спейсеров в CRISPR-массив (McGinn and Marraffini, 2019).

Таким образом, *Synechococcus* sp. bin8 отличается от *Synechococcus* sp. bin7 наличием дополни-

тельного гена *cas4*, что предполагает более сложную систему адаптивного иммунитета у данного штамма. Эти различия, на фоне филогенетической обособленности штаммов друг от друга (результаты представлены в разделе 3.2), отражают геномное разнообразие *Synechococcus* (Martsinechko et al., 2024; Flombaum et al., 2013). Можно предположить, что наличие *cas4* у *Synechococcus* sp. bin8 обеспечивает более эффективную защиту от бактериофагов, что может быть важным фактором выживаемости в байкальском планктоне, где вирусный пресс значителен (Sorek et al., 2013; Rodriguez-Valera et al., 2017).

3.4. Биосинтетические кластеры вторичных метаболитов

Анализ с использованием antiSMASH выявил в геномах исследуемых штаммов несколько биосинтетических кластеров вторичных метаболитов, представленных в Таблице 4. В MAG *Synechococcus* sp. bin7 обнаружен терпеновый кластер, включающий гены *PSY/CrtB* и *PT_FPPS_like*, а также поликетидный кластер III типа (ТЗPKS). В MAG *Synechococcus* sp. bin8 идентифицированы аналоги терпеновых генов (*lycopene cyclase*, *FPPS*, *PSY/CrtB*), PKS-кластер III типа (ТЗPKS) и NRPS-кластер с *CDPS* (циклодипептид-синтазой).

Присутствие гена *PSY/CrtB* у обоих штаммов и *lycopene cyclase* у *Synechococcus* sp. bin8 указывает на наличие каротиногенного пути, обеспечивающего защиту клеток от окислительного стресса (Srivastava et al., 2022). Поликетидные кластеры III типа (ТЗPKS) катализируют конденсацию малонил-KoA с ацил-KoA-праймерами с образованием ароматических поликетидов, включая алкилрезорцины и флороглюцины (Abe and Morita, 2010; Austin and Noel, 2003). Обнаруженные ТЗPKS-кластеры проявляют сходство с известным кластером *hierridin* В/С, отвечающим за биосинтез поликетидов у цианобактерий (Leão et al., 2019).

Вторичные метаболиты цианобактерий играют ключевую роль в межвидовых взаимодействиях, защите от абиотических и биотических стрессов, а также в формировании структуры микробных сообществ (Dittmann et al., 2015). Выявленная гетерогенность биосинтетических кластеров между двумя штаммами отражает метаболическое разнообразие рода *Synechococcus*, что может определять дифференциацию экологических ниш и конкурентные стратегии в природных микробных сообществах. Наличие уникального NRPS-кластера с *CDPS* только у штамма *Synechococcus* sp. bin8 позволяет

Таблица 4. Основные гены биосинтетических кластеров вторичных метаболитов в геномах исследуемых MAGs, выявленные с помощью анализа antiSMASH

Кластер	<i>Synechococcus</i> sp. bin7	<i>Synechococcus</i> sp. bin8
Terpene	<i>PSY/CrtB</i> , <i>PT_FPPS_like</i>	<i>lycopene cyclase</i> , <i>FPPS</i> , <i>PSY/CrtB</i>
PKS	ТЗPKS	ТЗPKS
NRPS	—	CDPS

предположить его способность к продукции биоактивных пептидов, что, согласно исследованиям, может предоставлять этому штамму конкурентное преимущество в специфических экологических условиях (Cimermancic et al., 2014; Pancrace et al., 2017). Продукция вторичных метаболитов, таких как терпены и поликетиды, согласно литературным данным, обеспечивает защиту от фотодеградаци, антимикробную активность и аллелопатическое воздействие на другие микроорганизмы, что особенно важно в условиях высокой прозрачности и низкой трофности байкальской воды (Kust et al., 2018). Обнаруженные гены, ассоциированные с биосинтезом терпенов, поликетидов и NRPS, указывают на потенциальную способность штаммов к продукции биоактивных соединений, что открывает перспективы для их возможного применения в фармакологии, биоремедиации и других биотехнологических областях (Dittmann et al., 2015; Pancrace et al., 2017).

4. Заключение

Применение метагеномного подхода позволило реконструировать и провести сравнительный анализ геномов природных популяций пикоцианобактерий рода *Synechococcus* из озера Байкал. Озеро Байкал относится к глубоководным олиготрофным водоёмам с устойчиво низкими температурами воды. В пелагической зоне представители данного рода продуцируют до 80% органического вещества в ходе первичного синтеза. Оба восстановленных MAGs характеризовались высокой полнотой сборки (97,7% и 96,1%) и низким уровнем контаминации, что подтверждает их высокое качество. Филогенетический анализ выявил принадлежность исследуемых штаммов к двум удалённым кладам, что свидетельствует о длительной эволюционной дивергенции в пределах одного биотопа. Штамм *Synechococcus* sp. bin7 относится к пресноводной кладе, тогда как *Synechococcus* sp. bin8 принадлежит к смешанной кладе, содержащей также геномы морских штаммов. Дополнительно в геномах идентифицированы гены, ассоциированные со стрессовым ответом, антибиотикорезистентностью и системами CRISPR-Cas. В геномах обнаружены гены, ассоциированные с устойчивостью к антибиотикам (в том числе консервативные *vanY/vanT*) и системы CRISPR-Cas, что характерно для пресноводных цианобактерий. Выявленные различия в метаболическом потенциале, включая более развитую систему энергетического метаболизма и мембранного транспорта у *Synechococcus* sp. bin7, а также наличие штаммоспецифичного гена *cas4* у *Synechococcus* sp. bin8, отражают дифференциацию экологических ниш по вертикальному градиенту освещённости и конкурентные стратегии в олиготрофных условиях. Выявленные гены, ассоциированные с синтезом терпенов, поликетидов и нерибосомных пептидов, позволяют предположить наличие у исследованных штаммов биотехнологического потенциала, который после дополнительного изучения может найти

применение в фармакологии и биоремедиации. Следует подчеркнуть, что все выводы относительно антибиотикорезистентности и биосинтетического потенциала основаны на геномных данных и носят предсказательный характер, требующий экспериментальной верификации. Полученные результаты расширяют существующие представления о геномном разнообразии, экологической пластичности и молекулярных механизмах адаптации пресноводных пикоцианобактерий в эндемичной экосистеме озера Байкал.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке гос. темы ЛИН СО РАН № FWSR-2026-0004 1023032700318-2-1.6.2

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Abe I., Morita H. 2010. Structure and function of the chalcone synthase superfamily of plant type III polyketide synthases. *Natural Product Reports* 27(6): 809–838. DOI: [10.1039/b909988n](https://doi.org/10.1039/b909988n)
- Alcock B.P., Huynh W., Chalil R. et al. 2023. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistance prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research* 51(D1): D690–D699. DOI: [10.1093/nar/gkac920](https://doi.org/10.1093/nar/gkac920)
- Arthur M., Quintiliani R. 2001. Regulation of VanA- and VanB-type glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(2): 375–381. DOI: [10.1128/AAC.45.2.375-381.2001](https://doi.org/10.1128/AAC.45.2.375-381.2001)
- Austin M.B., Noel J.P. 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Natural Product Reports* 20(1): 79–110. DOI: [10.1039/b100917f](https://doi.org/10.1039/b100917f)
- Aziz R.K., Bartels D., Best A.A. et al. 2008. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics* 9: 75. DOI: [10.1186/1471-2164-9-75](https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75)
- Belykh O.I., Sorokovikova E.G. 2003. Autotrophic picoplankton in Lake Baikal: Abundance, dynamics, and distribution. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 6(3): 251–261. DOI: [10.1080/14634980301489](https://doi.org/10.1080/14634980301489)
- Belykh O.I., Tikhonova I.V., Sorokovikova Ye.G. et al. 2011. Picoplankton Cyanoprokaryota of Genera *Synechococcus* Nägeli and *Cyanobium* Rippka et Cohen-Baz. from Lake Baikal (Russia). *International Journal on Algae* 13(2): 149–163. DOI: [10.1615/InterJAlgae.v13.i2.50](https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v13.i2.50)
- Bertelli C., Brinkman F.S.L. 2018. Improved genomic island predictions with IslandViewer 4. *Nucleic Acids Research* 46(W1): W26–W30. DOI: [10.1093/nar/gky376](https://doi.org/10.1093/nar/gky376)
- Blair J.M.A., Webber M.A., Baylay A.J. et al. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* 13: 42–51. DOI: [10.1038/nrmicro3380](https://doi.org/10.1038/nrmicro3380)
- Blin K., Shaw S., Weber T. 2025. antiSMASH 8.0: extended gene cluster detection capabilities and analyses of chemistry, enzymology, and regulation. *Nucleic Acids Research* 53(W1): W32–W38. DOI: [10.1093/nar/gkae1110](https://doi.org/10.1093/nar/gkae1110)
- Bray N.L., Pimentel H., Melsted P. et al. 2016. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature Biotechnology* 34(5): 525–527. DOI: [10.1038/nbt.3519](https://doi.org/10.1038/nbt.3519)

- Brown T.A. 2018. Genomes 4. 4th ed. New York: Garland Science. DOI: [10.1201/9781315226828](https://doi.org/10.1201/9781315226828)
- Cabello-Yeves P.J., Haro-Moreno J.M., Martin-Cuadrado A.B. et al. 2018. Novel *Synechococcus* genomes reconstructed from freshwater reservoirs unravel ecological and genomic differentiation. *Scientific Reports* 8(1): 1109. DOI: [10.1038/s41598-018-19227-0](https://doi.org/10.1038/s41598-018-19227-0)
- Cabello-Yeves P.J., Picazo A., Camacho A. et al. 2018. Ecological and genomic features of two widespread freshwater picocyanobacteria. *Environmental Microbiology* 20(10): 3757–3771. DOI: [10.1111/1462-2920.14377](https://doi.org/10.1111/1462-2920.14377)
- Callieri C. 2017. *Synechococcus* plasticity under environmental changes. *FEMS Microbiology Letters* 364(23): fnx229. DOI: [10.1093/femsle/fnx229](https://doi.org/10.1093/femsle/fnx229)
- Carratalà A., Chappelier C., Selmoni O. et al. 2023. Vertical distribution and seasonal dynamics of planktonic cyanobacteria communities in a water column of deep mesotrophic Lake Geneva. *Frontiers in Microbiology* 14: 1295193. DOI: [10.3389/fmicb.2023.1295193](https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1295193)
- Cerk K., Ugalde-Salas P., Nedjad C.G. et al. 2024. Community-scale models of microbiomes: Articulating metabolic modelling and metagenome sequencing. *Microbial Biotechnology* 17(1): e14396. DOI: [10.1111/1751-7915.14396](https://doi.org/10.1111/1751-7915.14396)
- Chiriac M.C., Haber M., Salcher M.M. 2023. Adaptive genetic traits in pelagic freshwater microbes. *Environmental Microbiology* 25(3): 606–641. DOI: [10.1111/1462-2920.16340](https://doi.org/10.1111/1462-2920.16340)
- Cimermancic P., Medema M.H., Claesen J. et al. 2014. Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters. *Cell* 158(2): 412–421. DOI: [10.1016/j.cell.2014.06.034](https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.034)
- Coutinho F., Theodorou M.C., Antunes A. 2016. Comparative genomics of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*: a review. *Journal of Marine Science and Engineering* 4(4): 78. DOI: [10.3390/jmse4040078](https://doi.org/10.3390/jmse4040078)
- Dittmann E., Gugger M., Sivonen K. et al. 2015. Natural product biosynthetic diversity and comparative genomics of the cyanobacteria. *Trends in Microbiology* 23(10): 642–652. DOI: [10.1016/j.tim.2015.07.008](https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.07.008)
- Druce E., Chiriac M.C., Sánchez P. et al. 2023. Metagenomic insights into the evolution and adaptive strategies of cyanobacteria from freshwater to marine environments. *Environmental Microbiology* 25(4): 789–805. DOI: [10.1111/1462-2920.16340](https://doi.org/10.1111/1462-2920.16340)
- Dvorak P., Casamatta D.A., Poulickova A. et al. 2014. *Synechococcus*: 3 billion years of global dominance. *Molecular Ecology* 23(22): 5538–5551. DOI: [10.1111/mec.12948](https://doi.org/10.1111/mec.12948)
- Flombaum P., Gallegos J.L., Gordillo R.A. et al. 2013. Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 110(24): 9824–9829. DOI: [10.1073/pnas.1307701110](https://doi.org/10.1073/pnas.1307701110)
- Garcia-Pichel F., Lombard M.A., Soule T. et al. 2019. Cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structure, and ecological significance. In: Mishra A.K., Tiwari D.N., Rai A.N. (Eds.), *Cyanobacteria: From Basic Science to Applications*. Academic Press, pp. 77–98. DOI: [10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0)
- Grant J.R., Enns E., Marinier E. et al. 2023. Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research* 51(W1): W484–W492. DOI: [10.1093/nar/gkad326](https://doi.org/10.1093/nar/gkad326)
- Gutnik D.I., Potapov S.A., Krasnopeev A.Y. et al. 2024. Characterization of *Saccharimonadia* bacteria in Lakes Baikal and Khubsugul: taxonomic and functional diversity. *Limnology and Freshwater Biology* 4: 908–924. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-908](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-908)
- Jain C., Rodriguez-R L.M., Phillippy A.M. et al. 2018. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nature Communications* 9(1): 5114. DOI: [10.1038/s41467-018-07641-9](https://doi.org/10.1038/s41467-018-07641-9)
- Katoh K., Standley D.M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30(4): 772–780. DOI: [10.1093/molbev/mst010](https://doi.org/10.1093/molbev/mst010)
- Komárek J., Kaštovský J., Mareš J. et al. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia* 86(4): 295–335.
- Komárek J., Johansen J.R., Šmarda J. et al. 2020. Phylogeny and taxonomy of *Synechococcus*-like cyanobacteria. *Fottea* 20(2): 123–134. DOI: [10.5507/fot.2020.006](https://doi.org/10.5507/fot.2020.006)
- Kust A., Khmelnitsky M., Miroshnikov A. et al. 2018. Secondary metabolites of cyanobacteria from Lake Baikal. *Limnology and Freshwater Biology* 1: 46–52.
- Leão P.N., Nakamura H., Costa M. et al. 2019. Structure of Hierridin C, Synthesis of Hierridins B and C, and Evidence for Prevalent Alkylresorcinol Biosynthesis in Picocyanobacteria. *Journal of Natural Products* 82(3): 572–578. DOI: [10.1021/acs.jnatprod.8b01038](https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b01038)
- Martsinechko A.S., Chebykin E.P., Chebunina N.S. et al. 2024. Assessment of the water quality of Lake Baikal and its tributaries in areas affected by local pollution based on microbiological and hydrochemical data. *Limnology and Freshwater Biology* 4: 998–1004. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-998](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-998)
- McGinn J., Marraffini L.A. 2019. Molecular mechanisms of CRISPR–Cas spacer acquisition. *Nature Reviews Microbiology* 17: 7–12. DOI: [10.1038/s41579-018-0071-7](https://doi.org/10.1038/s41579-018-0071-7)
- Medema M.H., Blin K., Cimermancic P. et al. 2011. antiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. *Nucleic Acids Research* 39(suppl_2): W339–W346. DOI: [10.1093/nar/gkr466](https://doi.org/10.1093/nar/gkr466)
- Musto H., Naya H., Zavala A. et al. 2004. Correlations between genomic GC levels and optimal growth temperatures in prokaryotes. *FEBS Letters* 573(1–3): 73–77. DOI: [10.1016/j.febslet.2004.07.056](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.07.056)
- Nagata T., Takai K., Kawanobe K. et al. 1994. Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: Abundance, growth and grazing mortality during summer. *Journal of Plankton Research* 16(8): 945–959. DOI: [10.1093/plankt/16.8.945](https://doi.org/10.1093/plankt/16.8.945)
- Okamoto S., Tamaru A., Nakajima C. et al. 2007. Loss of a conserved 7-methylguanosine modification in 16S rRNA confers low-level streptomycin resistance in bacteria. *Molecular Microbiology* 63(4): 1096–1106. DOI: [10.1111/j.1365-2958.2006.05585.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05585.x)
- Ondov B.D., Treangen T.J., Melsted P. et al. 2016. Mash: fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. *Genome Biology* 17: 132. DOI: [10.1186/s13059-016-0997-x](https://doi.org/10.1186/s13059-016-0997-x)
- Osipova S.V., Bondarenko N.A., Obolkina L.A. et al. 2010. Communities in the ultrapure ice of Lake Baikal: distinctive characteristics and adaptive strategies of ice inhabitants. In: 20th IAHR International Symposium on Ice. Lahti, Finland.
- Pancrace C., Gugger M., Calteau A. 2017. Genomics of NRPS/PKS biosynthetic gene clusters in cyanobacteria. In: Los D.A. (Ed.), *Cyanobacteria: Omics and Manipulation*. Caister Academic Press, pp. 119–140. DOI: [10.21775/9781910510197.07](https://doi.org/10.21775/9781910510197.07)
- Pittera J., Humily F., Thorel M. et al. 2014. Connecting thermal physiology and latitudinal niche partitioning in marine *Synechococcus*. *The ISME Journal* 8(6): 1221–1236. DOI: [10.1038/ismej.2013.228](https://doi.org/10.1038/ismej.2013.228)
- Rodriguez-Valera F., Martin-Cuadrado A.B., Lopez-Perez M. 2017. Flexible genomic islands as drivers of genome evolution in bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 39: 48–54. DOI: [10.1016/j.mib.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.09.005)

- Rosales S.A., Rouse J.D., Pellechia P.J. et al. 2005. Halotolerance of cyanobacteria and their potential for biotechnology applications. *Applied and Environmental Microbiology* 71(8): 4491–4498. DOI: [10.1128/AEM.71.8.4491-4498.2005](https://doi.org/10.1128/AEM.71.8.4491-4498.2005)
- Rusinek O.T. 2009. *Baikal Studies. Book 1. Irkutsk: Irkutsk State University Press.* (in Russian)
- Shapiro B.J., Polz M.F. 2015. Microbial speciation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7(10): a018143. DOI: [10.1101/cshperspect.a018143](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018143)
- Sinkunas T., Gasiunas G., Fremaux C. et al. 2011. Cas3 is a single-stranded DNA nuclease and ATP-dependent helicase in the CRISPR/Cas immune system. *The EMBO Journal* 30(7): 1335–1342. DOI: [10.1038/emboj.2011.41](https://doi.org/10.1038/emboj.2011.41)
- Sorek R., Lawrence C.M., Wiedenheft B. 2013. CRISPR-mediated adaptive immune systems in bacteria and archaea. *Annual Review of Biochemistry* 82: 237–266. DOI: [10.1146/annurev-biochem-072911-172315](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-072911-172315)
- Srivastava A., Thapa S., Chakdar H. et al. 2022. Cyanobacterial myxoxanthophylls: biotechnological interventions and biological implications. *Critical Reviews in Biotechnology* 42(5): 765–780. DOI: [10.1080/07388551.2021.1962791](https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1962791)
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30(9): 1312–1313. DOI: [10.1093/bioinformatics/btu033](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033)
- Stogios P.J., Savchenko A. 2020. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. *Protein Science* 29(3): 654–669. DOI: [10.1002/pro.3819](https://doi.org/10.1002/pro.3819)
- Wagner G.P., Kin K., Lynch V.J. 2012. Measurement of mRNA abundance using RNA-seq data: RPKM measure is inconsistent among samples. *Theory in Biosciences* 131(4): 281–285. DOI: [10.1007/s12064-012-0162-3](https://doi.org/10.1007/s12064-012-0162-3)
- Wattam A.R., Davis J.J., Assaf R. et al. 2017. Improvements to PATRIC, the all-bacterial Bioinformatics Database and Analysis Resource Center. *Nucleic Acids Research* 45(D1): D535–D542. DOI: [10.1093/nar/gkw1017](https://doi.org/10.1093/nar/gkw1017)
- Yang C., Chowdhury D., Zhang Z. et al. 2021. A review of computational tools for generating metagenome-assembled genomes from metagenomic sequencing data. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 19: 6301–6314. DOI: [10.1016/j.csbj.2021.11.028](https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.11.028)
- Yoshida Y., Sekino T., Genkai-Kato M. et al. 2003. Seasonal dynamics of primary production in the pelagic zone of southern Lake Baikal. *Limnology* 4(1): 53–62. DOI: [10.1007/s10201-002-0089](https://doi.org/10.1007/s10201-002-0089)
- Zhaxybayeva O., Doolittle W.F., Papke R.T. et al. 2009. Intertwined evolutionary histories of marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus marinus*. *Genome Biology and Evolution* 1: 325–339. DOI: [10.1093/gbe/evp032](https://doi.org/10.1093/gbe/evp032)