

## Автотрофный пикопланктон озера Байкал

О. И. БЕЛЫХ, Е. И. ЗАЙКА, Е. В. БЕРЕЗИКОВ\*

Лимнологический институт СО РАН  
664033 Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
\* Институт цитологии и генетики СО РАН  
630090 Новосибирск, просп. ак. Лаврентьева, 10

### АННОТАЦИЯ

Рассматриваются вопросы видового разнообразия автотрофного пикопланктона оз. Байкал. Получено 32 пикопланктонных штамма: 25 цианобактериальных и 7 штаммов зеленых водорослей. Приводятся результаты изучения пяти штаммов цианобактерий и четырех штаммов зеленых водорослей с применением методов световой, эпифлуоресцентной, сканирующей и трансмиссионной микроскопии, спектрофотометрии и молекулярной биологии. Показано, что 4 цианобактериальных штамма относятся к роду *Synechococcus*, один – к роду *Synechocystis*. Причем выделенный *Synechocystis* sp. 9721 является новым видом, а не *Synechocystis limnetica* Rorovsk., который был единственным описанным видом байкальского пикопланктона до настоящего исследования. Выделенные штаммы зеленых водорослей являются различными видами семейства хлорококковых и отличаются от других представителей этого семейства по данным электронной микроскопии и результатам сравнительного анализа 18S рибосомальной РНК.

Автотрофный пикопланктон является одним из основных производителей первичной продукции и биомассы в морских и пресноводных экосистемах [1]. Основной компонент автотрофного пикопланктона в морях – хлорококковые цианобактерии рода *Synechococcus* [2–5]. Кроме цианобактерий в составе природных пикопланктонных популяций обнаружены очень мелкие эукариотические водоросли [6, 7]. В Байкале пикопланктон открыт Г. И. Поповской в 1968 г. Новый вид синезеленых водорослей (цианобактерий) *Synechocystis limnetica* Rorovsk. с диаметром клеток 1,5–1,6 мкм описан как доминирующий компонент байкальского пикопланктона [8]. До настоящего времени наши знания о видовом составе байкальского пикопланктона ограничивались этим видом, что в значительной степени вызвано отсутстви-

ем культур. Малый размер пикопланктонных организмов чрезвычайно затрудняет их идентификацию и систематику в полевых пробах, поэтому изучение пикопланктона на Байкале в основном ограничивалось экологическими аспектами [9–11].

Цель настоящей работы – выделение видов байкальского автотрофного пикопланктона в культуры и их изучение с использованием методов световой, эпифлуоресцентной и электронной микроскопии, спектрофотометрии и молекулярной биологии.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выделения монокультур байкальского пикопланктона использованы пробы воды, отобранные в различных районах Байкала в слое

0–25 м. Пробы предварительно профильтровали через фильтр (Nucleopore) с диаметром пор 3  $\mu\text{m}$ . Культуры получены на средах Г6 [12] и Z8 [13], приготовленных на байкальской воде. Они содержались без перемешивания в конических колбах со светотемновым режимом "14 ч свет : 10 ч темнота" при белом свете в инкубаторах "New Brunswick G25". Для выявления оптимальной температуры и освещенности изменяли температуру от 4 до 30 °С, освещенность от 500 до 3000 lx.

Эксперименты по изучению влияния разного состава сред и освещенности на ростовые характеристики культур ВАС 9701, 9704, 9706, 9708 проводили на средах Г6 и Z8 с добавлением почвенной вытяжки (1 часть почвы : 2 части воды, 1 %) и витаминов В12 (1 мг/л) и тиамина (5 мг/л) при освещенности 500 и 2000 lx на поверхности культур. Рост культур был измерен как изменение оптической плотности при длинах волн 700 и 650 нм на спектрофотометре Lomo СФ-46. Клетки всех штаммов были окрашены DAPI (4', 6-diamino-2-phenylidole, Sigma) для специфической окраски ДНК. Присутствие спорополленина в клеточной стенке проверено методом ацетолитизиса в смеси серной и уксусной кислот [14].

При световой и эпифлуоресцентной микроскопии культуры наблюдали под микроскопом "Olympus BH2". Для изучения автофлуоресценции использовали голубой (470 нм) и зеленый (545 нм) фильтры, для DAPI-окрашенных клеток применяли ультрафиолетовый фильтр (340 нм).

Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) клетки были фиксированы в 1 %-м глутаровом альдегиде на 0,1 М какодилатном буфере (рН 7,2) при 4 °С в течение часа. Они были помещены на фильтр (Nucleopore) с диаметром пор 0,2  $\mu\text{m}$  и дегидратированы в спиртах восходящей концентрации. После высушивания в критической точке клетки напыляли золотом и наблюдали в Philips SEM 525 М. Клетки для трансмиссионной электронной микроскопии (СЭМ) были фиксированы 30 мин в 1 %-м глутаровом альдегиде и 0,25 %-й  $\text{OsO}_4$  на 0,1 М какодилатном буфере при 4 °С, отмыты дважды и постфиксированы в 1 %-й  $\text{OsO}_4$  в течение часа. Затем отмыты в буфере, дегидратированы и заключены в эпон-аралдит. Ультратонкие

срезы окрашивали уранил-ацетатом и цитратом свинца и наблюдали в Jeol 100В ТЕМ.

Хлорофиллы экстрагированы в ацетоне в конце экспоненциальной фазы роста, когда плотность клеток в культуре составляла  $10^5$  кл./мл. Присутствие хлорофиллов идентифицировано по спектрам флуоресценции с помощью спектрофлуориметра "Hitachi 650–10S". Возбуждение производилось в диапазоне 420–470 нм. Содержание хлорофиллов *a* и *b* измерено по методу Jeffrey, Humphrey [15] на спектрофотометре Lomo СФ-46.

Для выделения ДНК клетки собирали с агаризованной среды с помощью микробиологической петли и переносили в буфер, содержащий 50 мМ Трис-НСl (рН 8,0 при 25 °С), 100 мМ ЭДТА, 100 мМ NaCl. Собранный материал промывали несколько раз этим же буфером, добавляли SDS до концентрации 1 % и подвергали трехкратной заморозке/разморозке. Затем к пробе добавляли протеиназу К в рабочей концентрации 500 мкг/мл и инкубировали 15 мин при 50 °С. После этого производили депротеинизацию смесью фенолхлороформа и осаждали ДНК этанолом.

Для проведения ПЦР в реакционную смесь 10 мМ Трис-НСl (рН 8,3 при 25 °С), 50 мМ KCl, 3 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 200 мкМ каждого dNTP и 2 ед. Таq-полимеразы добавляли 20 мкМ каждого праймера и 0,1 мкг ДНК. Для амплификации фрагментов 18S рРНК использовали две пары праймеров:

- (1) 5'-ТАССТGGТТГАТССТGCCAGТА-3',  
5'-АТТАССGCGGCTGCTGGCACC-3' и
- (2) 5'-Т/САGAGGTGAAАТТСТ-3',  
5'-GGGCATCACAGACСТG-3'.

Реакции проводили в следующем температурном режиме: 94 °С – 0,5 мин, 53 °С – 0,7 мин, 72 °С – 1 мин. Продукты амплификации разделяли в агарозных гелях, фрагменты необходимого размера вырезали из гелей и выделяли с помощью кита "Wizard™ PCR preps purification system" (Promega). Нуклеотидная последовательность амплифицированных фрагментов устанавливалась по методу Сэнгера с использованием кита "dsDNA Cycle Sequencing System" (GibcoBRL).

Для построения филогенетических деревьев по 18S рРНК в анализ были взяты последовательности 18 зеленых водорослей из GenBank. Выравнивание последовательностей произво-

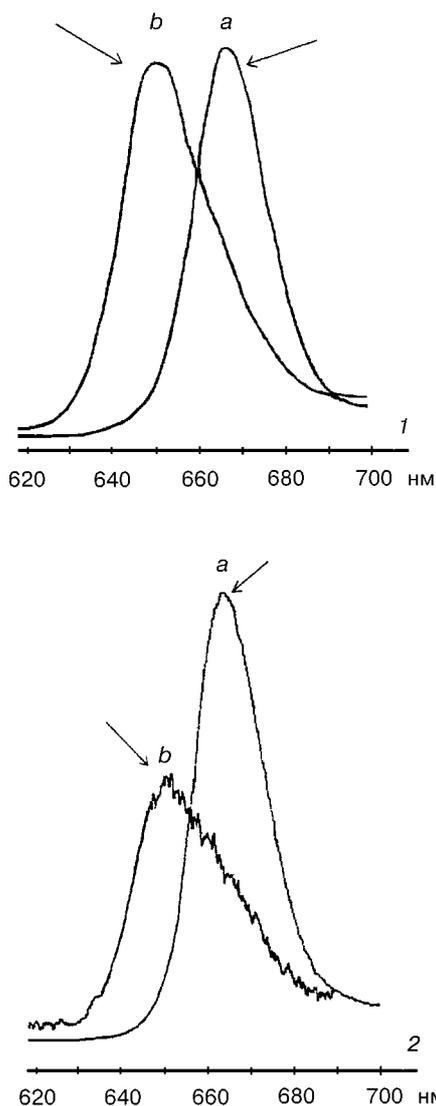


Рис. 1. Спектр флуоресцентной эмиссии ацетонового экстракта хлорофиллов штаммов VAS 9701 и 9706. Для хлорофилла *a*  $\lambda$  возбуждения 420 нм, для хлорофилла *b* – 470 нм. 1 – штамм VAS 9701, 2 – штамм VAS 9706.

дилось с помощью программы Clustalw [16]. Филогенетические деревья строились по методу максимального правдоподобия с использованием программы Puzzle [17].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Получены альгологически чистые культуры 32 штаммов пикопланктонных водорослей. При световой микроскопии культивируемых водорослей наблюдали мелкие клетки, как одиночные, так и образующие агрегаты. Форма клеток – сферическая, эллипсоидная, палочко-

видная. При эпифлуоресцентной микроскопии 25 штаммов выявлена ярко-оранжевая флуоресценция клеток при возбуждении зеленым светом, что характерно для цианобактерий. Это свойство цианобактерий благодаря содержанию фикоэритрина позволяет легко идентифицировать их как в полевых пробах, так и при культивировании. Красная флуоресценция при действии голубого света, обнаруживаемая у зеленых и прохлорофитовых водорослей, наблюдалась у семи изучаемых нами штаммов. У последних отмечено интенсивное бело-голубое свечение в области ядра при окраске DAPI, у прокариотических цианобактериальных штаммов выявлено диффузное свечение по всей поверхности клеток. Таким образом, полученные штаммы были разделены на две группы: синезеленые (цианобактерии) и эукариотические водоросли.

Спектры флуоресценции ацетоновых экстрактов двух штаммов эукариотических водорослей показаны на рис. 1. При возбуждении длинами волн, максимальными для хлорофиллов *a*, *b* и *c*, наблюдали пики в первом и втором случаях. Как известно, в составе пикопланктона морских и пресноводных водоемов выявлены зеленые коккоидные водоросли, принадлежащие к классам Chlorophyceae и Prasinophyceae (1, 18, 19). Некоторые представители этих классов имеют сходство в морфологии и ультраструктуре, но у прازیнофитовых выявлен хлорофилл "c-like", который характерен только для этого класса водорослей, и при возбуждении длиной волны 430 нм у них наблюдается выраженный пик при 630 нм [19]. В нашем случае пик при этой длине отсутствовал, что позволило нам отнести все четыре исследуемых штамма зеленых водорослей к классу Chlorophyceae. Соотношение хлорофиллов *b/a* составляет 0,62 у штамма VAS 9701; 0,60 у 9704; 0,49 и 0,39 соответственно у штаммов VAS 9708 и 9706, что также типично для этого класса водорослей.

Кривые роста штамма VAS 9701 на различных средах и при разных значениях освещенности приведены на рис. 2. Водоросли хорошо растут на минеральных средах Г6 и Z8 и не требуют добавления органики и витаминов  $B_1$  и  $B_{12}$ . Незначительное увеличение числа клеток наблюдается только у штамма 9706 при добавлении почвенной вытяжки в среды. При освещении

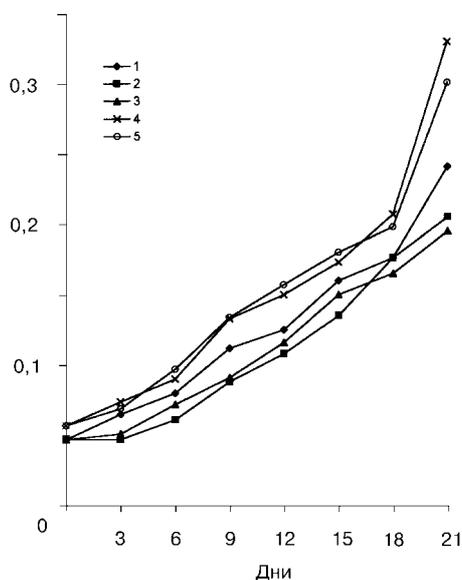


Рис. 2. Кривые роста штамма VAS 9701 на разных средах при освещенности 500 lx (1–3) и 2000 lx (4, 5). Среда: 1, 4 – Z8; 2 – Z8 с витаминами B12 и B1; 3 – Z8 с 1%-й почвенной вытяжкой; 5 – Г6.

щенности 2000 lx отмечается увеличение роста у всех четырех исследованных штаммов зеленых водорослей. Установлено, что при культивировании для зеленых водорослей оптимальная температура составляет 20–25 °С, освещенность 2000 lx, для цианобактерий – 10–15 °С и 1500 lx соответственно.

Результаты ТЭМ и СЭМ изучения зеленых водорослей (9701, 9704, 9706, 9708) показаны на рис. 3. Наблюдали клетки овоидной и эллипсоидной форм у всех четырех штаммов, при этом размеры клеток у штаммов различались. Штаммы 9704, 9706 и 9708 представлены одиночными клетками, штамм 9701 образует агрегаты до 20–30 клеток. Клеточная стенка у исследуемых водорослей многослойная, толщина 100–200 нм. Внешний слой образован так называемой триламеллярной оболочкой, которая состоит из двух темных осмиофильных слоев и светлого слоя, располагающегося между ними. Подобная триламеллярная структура выявлена у хлорококковых водорослей автоспоровой группы [14]. Триламеллярный слой является резистентным и не растворяется при действии кислот вследствие содержания спорополленина, который входит также в состав пыльцы высших растений и спор грибов. Присутствие спорополленина в клеточной оболочке изучаемых штаммов выявлено как устойчивость к ацетולי-

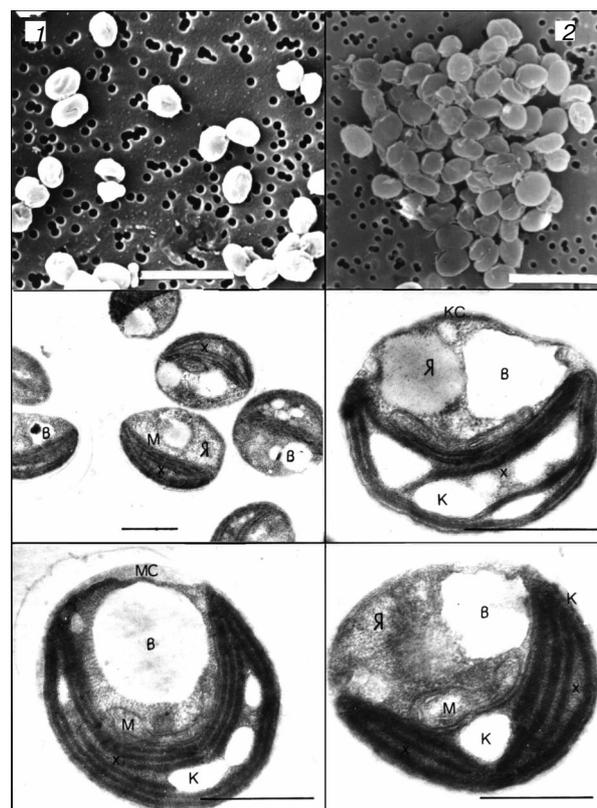


Рис. 3. Зеленые пикопланктонные водоросли (Chlorophyceae, Chlorococcales). 1, 2 – сканирующая электронная микроскопия, клетки на поликарбонатном фильтре (Nucleopore, 0,2 μm). Масштаб 5 μm. 3–6 – трансмиссионная электронная микроскопия, ультратонкие срезы. Масштаб 1 μm.

1 – клетки штамма VAS 9706; 2 – клетки штамма VAS 9701; 3, 4 – клетки штамма VAS 9708; 5 – клетка штамма VAS 9704; 6 – деление хлоропласта в клетке штамма VAS 9701. В – вакуоль; К – крахмал; КС – клеточная стенка; М – митохондрия; МС – микрофибриллярный слой; Я – ядро; Х – хлоропласт.

зису. Между триламеллярным слоем и плазматической мембраной наблюдали микрофибриллярный слой, состоящий из целлюлозы. Структура клеточной оболочки наших штаммов сходна с таковой у *Nannochloris coccoides* Naumann [20]. Последний является пресноводным пикопланктонным видом, морфология и ультраструктура которого хорошо изучены. Иной тип строения клеточной оболочки выявлен у морских пикопланктонных видов: *Nannochlorum eukaryotum* Wilhelm, других видов *Nannochloris* и представителей рода *Chlorella* [20–22]. Байкальские изоляты пикопланктонных зеленых водорослей делятся преимущественно на две автоспоры, очень редко – на четыре. При делении молодые клетки находятся внутри родительской оболочки до их полного формиро-

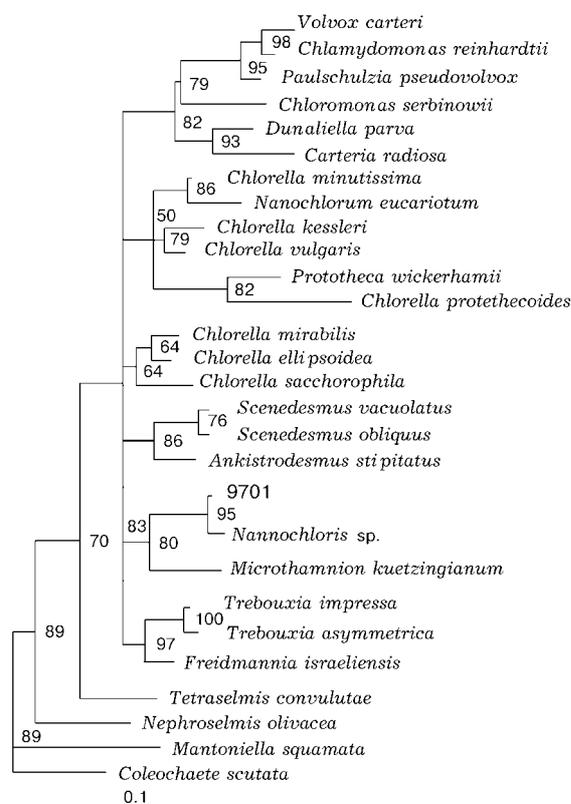


Рис. 4. Филогенетическое древо, построенное на основе сравнения последовательности гена 18S рибосомальной РНК байкальского изолята пикопланктонных водорослей (штамм ВАС 9701) и других зеленых водорослей с использованием программы PUZZLE. Количество шагов анализа – 500. Цифрами обозначен процент поддержки топологии древа.

вания, после чего оболочка растворяется. Ядро занимает до 1/3 объема клетки и располагается вблизи плазматической мембраны, у штамма 9701 и 9706 наблюдали ядрышки. Хлоропласт одиночный, крупный, чашевидный у 9701, 9704, 9708, 9706 – бобовидный. Внутри хлоропласта находятся гранулы крахмала. Пиреноид не выявлен в клетках всех четырех штаммов. Количество тилакоидов варьирует от 3 до 7 в хлоропластах у разных штаммов. Митохондрия одна, располагается в центре клетки, между хлоропластом и ядром. В клетках всех штаммов наблюдается крупная вакуоль. В некоторых случаях содержимое вакуолей прозрачное, в других выявлены включения. В вакуолях клеток штамма 9708 отмечены электронно-плотные включения округлой формы.

Хлоропласт, ядро и вакуоль занимают практически весь объем клетки. Диктиосома одна. Общая схема строения, характер деления, размер и форма клеток изучаемых штаммов характерны для хлорококковых водорослей. Вместе с тем штаммы 9701, 9704, 9706 и 9708 отличаются друг от друга по цвету колоний, размеру клеток, способности к агрегации. Электронно-микроскопическое изучение клеток этих штаммов зеленых водорослей выявило их различие в ультраструктурных деталях. На основании морфологических признаков, ультраструктурных особенностей и содержания хлорофиллов можно предположить, что эти водоросли являются отдельными, но весьма близкими видами.

Для определения таксономического положения выделенных штаммов зеленых водорослей проведен анализ нуклеотидной последовательности гена 18S рРНК. На рис. 4 представлено филогенетическое древо, построенное на основе сравнения последовательности гена 18S рРНК штамма 9701 и других зеленых водорослей, в том числе и трех пикопланктонных (*Nannochloris* sp., *Chlorella minutissima* Fott et Novakova, *Nanochlorum eucaryotum*). Как видно, штамм 9701 является близким родственником *Nannochloris* sp. и относится к семейству хлорококковых водорослей. Байкальский изолят отличается от *Nanochlorum eucaryotum* и образует отдельный кластер от всех видов *Chlorella*. Хлореллоподобные пикопланктонные водоросли были описаны в морях и озерах [1, 23]; Н. А. Бондаренко и Н. Г. Гусельникова предполагали, что доминирующими формами эукариотических водорослей в Байкале являются *Chlorella* sp. и *Oocystis* sp. [11]. Среди известных хлорелл к пикопланктонным относятся морская *Chlorella nana* Andreoli, Rascio et Casadoro [24, 25] и пресноводная *Chlorella minutissima* Fott et Novakova [26], однако по морфологии, экологии и ультраструктуре они значительно отличаются от изучаемых нами штаммов. Сравнение частичной последовательности генов 18S рРНК штаммов 9701, 9708, 9706 показало, что прочитанные фрагменты этого гена отличаются у выделенных изолятов. Это дает основание полагать, что все три штамма представляют собой различные виды.

Исследование цианобактериальных штаммов с помощью световой и эпифлуоресцентной микроскопии выявило, что они относятся к

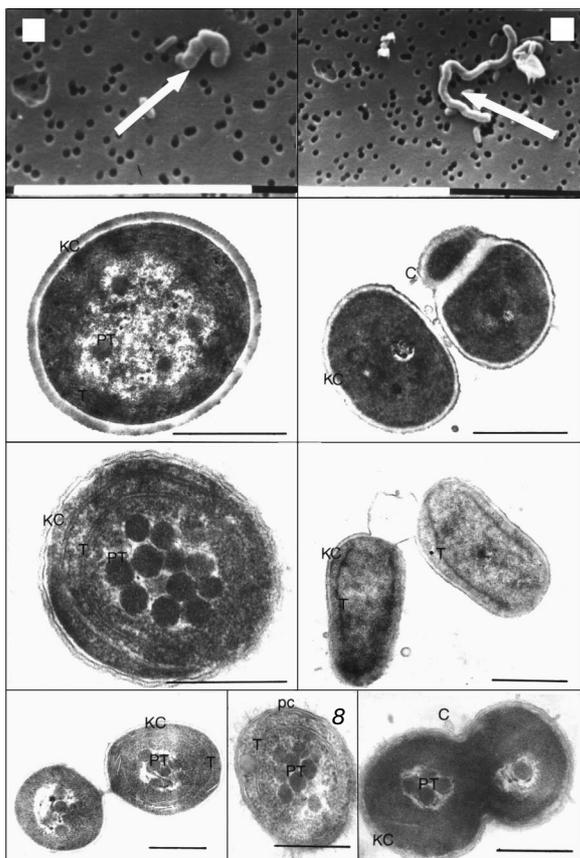


Рис. 5. Цианобактерии родов *Synechococcus* и *Synechocystis* (Chroococcales). 1, 2 – сканирующая электронная микроскопия, клетки на поликарбонатном фильтре (Nucleopore, 0,2 μm). Масштаб 10 μm. 3–9 – трансмиссионная электронная микроскопия, ультратонкие срезы. Масштаб 1 μm. 1 – *Synechococcus* sp. 9723; 2 – *Synechococcus* sp. 9722; 3 – общий вид клетки *Synechocystis* sp. 9721; 4 – деление *Synechocystis* sp. 9721 в двух направлениях; 5, 7, 8 – *Synechococcus* 9808 (5 – общий вид клетки, 7 – разделившиеся клетки, 8 – клетка с полисахаридным слоем в клеточной стенке); 9 – *Synechococcus* sp. 9811. КС – клеточная стенка; РТ – полифедральные тела; рс – полисахаридный слой; С – спиноподобные структуры; Т – тилакоиды.

родам *Synechococcus* и *Synechocystis*. Различные штаммы байкальских цианобактерий рода *Synechococcus* в одинаковых условиях культивирования характеризуются чрезвычайным разнообразием цвета культур, что свидетельствует о гетерогенности их пигментного состава и, вероятно, о принадлежности полученных штаммов к разным видам. Наиболее детально изучены четыре штамма *Synechococcus* spp. (9808, 9722, 9723, 9811) и один штамм *Synechocystis* sp. 9721. *Synechococcus* sp. 9808 представляет собой сферические клетки размером 2–3 μm, цвет культуры коричневый; *Synecho-*

*coccus* sp. 9722 – длинные изогнутые палочки размером 0,5–2,0 × 6–8 μm, имеет розовый цвет культуры; *Synechococcus* sp. 9723 – палочки размером 0,8–1,5 × 2,0–2,5 μm, светло-зеленые; *Synechococcus* sp. 9811 – сферические клетки с диаметром 1,5–2,0 μm, образуют агрегаты, желто-коричневые. *Synechocystis* sp. 9721 – сферические клетки размером до 3 μm, сине-зеленые. Все штаммы репродуцируются бинарным делением, виды *Synechococcus* делятся в одном направлении, *Synechocystis* sp. 9721 – в двух, способ деления является одним из основных признаков для отделения этих двух родов друг от друга [13]. Трансмиссионная и сканирующая электронная микроскопия пяти штаммов цианобактерий показала значительное различие между ними (рис. 5). На ультратонких срезах всех штаммов наблюдали тилакоиды, которые занимали периферический отдел клетки и располагались вдоль плазматической мембраны, в основном повторяя ее контур. У *Synechococcus* обычно отмечали по 1–3 тилакоида, у *Synechocystis* sp. – до пяти, структура их была типична для представителей этих родов. Цитоплазма умеренно осмиофильная, за исключением штамма 9811, где выявлена сильно выраженная электронно-плотная цитоплазма. В центре клеток, в области нуклеоида, цитоплазма разрежена и наблюдаются полифедральные тела как у *Synechococcus*, так и у *Synechocystis* sp. 9721, причем у последнего в меньшем количестве. Клеточная стенка многослойная и плотно примыкает к плазматической мембране, *Synechocystis* sp. 9721 отличается от других штаммов более мощной клеточной стенкой. На внешней поверхности клеточной стенки у всех видов *Synechococcus* выявлены спиноподобные структуры, однако по своему строению они не похожи на бактериальные спины, имеют меньший диаметр и длину, а также и другую организацию. Для некоторых морских изолятов *Synechococcus* также отмечены подобные структуры [27]. У отдельных клеток штамма 9808 обнаружен полисахаридный слой в клеточной стенке. Выделенный нами штамм *Synechocystis* ВАС 9721 по морфологическим критериям отличается от *Synechocystis limnetica*, описанного Г. И. Поповской, и является, по нашему мнению, новым представителем этого рода в оз. Байкал.

Таким образом, байкальский автотрофный пикопланктон характеризуется большим видовым разнообразием. Очевидна необходимость дальнейшего выделения и комплексного изучения видов пикопланктона оз. Байкал.

Работа выполнена при поддержке молодежного гранта СО РАН и гранта РФФИ-Байкал, 97-04-96178.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. J. G. Stockner, N. J. Antia, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1986, 43, 2472–2503.
2. J. B. Waterbury, S. W. Watson, R. R. L. Guillard, L. E. Brand, *Nature*, 1979, 277, 293–294.
3. P. W. Johnson, J. McN. Sieburth, *Limnol. Oceanogr.*, 1979, 24, 928–935.
4. W. K. W. Li, D.V. Subba Rao, W. G. Harrison, et al., *Science*, 1983, 219, 292–295.
5. T. Platt, D.V. Subba Rao, B. Irwin, *Nature*, 1983, 301, 702–704.
6. P. W. Johnson, J. Sieburth, *J. Phycol.*, 1979, 18, 318–327.
7. I. R. Joint, R.K. Pipe, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1984, 20, 113–118.
8. Г. И. Поповская, Новости систематики низших растений, Л., 1968, 3–5.
9. Н. А. Бондаренко, Н. Е. Гусельникова, *Изв. СО РАН. Биол. науки*, 1989, 1, 77–80.
10. R. C. Back, W. Bolgrien, N. Guselnikova, N. Bondarenko, *J. Great Lakes Res.*, 1991, 17, 194–202.
11. T. Nagata, K. Takai, K. Kawanobe, et al., *J. Plankton Res.*, 1994, 16:8, 945–959.
12. Б. В. Громов, Культивирование коллекционных штаммов водорослей, Л., 1984, 152.
13. R. Rippka, *Methods Enzymol.*, 1988, 167, 28–67.
14. A. W. Atkinson, B. E. S. Gunning, P. S. L. John, *Planta*, 1972, 107, 1–32.
15. S. W. Jeffrey, G. J. Humphrey, *Biochem. Physiol. Acta*, 1975, 167, 191–194.
16. M. Veski, S. W. Jeffrey, *J. Phycol.*, 1987, 23, 322–336.
17. J. D. Thompson, D. G. Higgins, T.J. Gibson, *Nucleic Acids Research*, 1994, 22, 4673–4680.
18. K. Strimmer, A. von Haeseler, *Mol. Biol. Evol.*, 1996, 13, 964–969.
19. M. J. Chretiennot-Dinet, C. Courties, A. Vaquer, et al., *Phycologia*, 1995, 34:4, 285–292.
20. K. Menzel, K. Wild, *Botanica Acta*, 1989, 102, 152–158.
21. C. Wilhelm, G. Eisenbeis, A. Wild, R. Zahn, *Zeitschrift fur Naturforschung*, 1982, 37c, 107–114.
22. D. J. Sarokin, E. J. Carpenter, *Botanica Marina*, 1982, 25, 483–491.
23. G. L. Fahnenstiel, Y. J. Carrick, C. E. Rogers, L. Sicko-Goad, *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.*, 1991, 76, 603–616.
24. C. Andreoli, N. Rascio, G. Casadoro, *Botanica Marina*, 1978, 21, 253–256.
25. L.-V. Thinh, D. J. Griffiths, *Ibid.*, 1985, 28, 41–46.
26. G. P. Dempsey, D. Lawrence, V. Cassie, *Phycologia*, 1980, 19:1, 13–19.
27. D. J. Sarokin, E. J. Carpenter, *Botanica Marina*, 1981, 24, 389–392.

### Autotrophic Picoplankton of Lake Baikal

O. I. BELYKH, E. I. ZAIKA, E. V. BEREZIKOV

Questions of species diversity of autotrophic picoplankton of Lake Baikal are considered. Thirty two picoplankton strains have been obtained: 25 cyanobacterial and 7 strains of green algae. Results of studies of 5 cyanobacteria strains and 4 green algae strains using the methods of light, epifluorescence, scanning and transmission microscopy, spectrophotometry and molecular biology are presented. It is demonstrated that 4 cyanobacteria strains belong to the genus *Synechococcus*, 1 belongs to the genus *Synechocystis*, the isolated *Synechocystis* sp. 9721 being a new species, but not *Synechocystis limnetica* Popovsk. which was the only described species of Baikalian picoplankton until the present study. The isolated strains of green algae are different species of the Chlorococci family and differ from other representatives of this family by the data of electron microscopy and by the results of comparative analysis of 18S ribosomal RNA.