

Некоторые подходы к восстановлению популяций байкальских губок: обзор

И. А. ТОПЧИЙ¹, Д. И. СТОМ^{1, 2, 3}, М. Ю. ТОЛСТОЙ², О. Н. ПОНАМОРЕВА⁴, А. Д. СТОМ¹,
М. Н. САКСОНОВ¹, А. Б. КУПЧИНСКИЙ³

¹Иркутский государственный университет
664003, Иркутск, ул. Карла Маркса, 1

²Иркутский национальный исследовательский технический университет
664019, Иркутск, ул. Баррикад, 147

³Байкальский музей СО РАН
664520, Иркутская область, р. п. Листвянка, ул. Академическая, 1

⁴Тульский государственный университет
300012, Тула, просп. Ленина, 92

Статья поступила 18.03.2022

После доработки 03.08.2022

Принята к печати 29.08.2022

АННОТАЦИЯ

Уникальная экосистема Байкала составлена разнообразными, преимущественно эндемичными фауной и флорой. Спонгиозная фауна озера представлена двумя семействами: эндемичным Lubomirskiidae и космополитным Spongillidae. В последние годы ситуация на Байкале характеризуется как катастрофическая, особенно если речь идет о литорали. Имеются многочисленные сообщения об угнетенном состоянии байкальских губок и снижении их численности во многих районах озера. Ставится вопрос о том, что необходимо не только природоохранные, но и природовосстановительные мероприятия. В обзоре рассмотрены основные приемы и методы выращивания губок. Наиболее подробно описаны в мировой практике четыре основных подхода к выращиванию губок *ex situ* и *in situ*: 1) из личинок; 2) из приморфов (культуры клеток губок); 3) из покоящихся стадий (геммул и редуцированных телец); 4) из эксплантов (фрагментов живой ткани, отделенных от материнского организма). В обзоре обсуждаются попытки применения данных подходов, используемых в мировой практике, для выращивания байкальских губок. На основании анализа литературы предполагается, что использование наиболее эффективных из вышеизложенных подходов позволит разработать технологию выращивания байкальских губок.

Ключевые слова: Porifera, байкальские губки, восстановление популяции губок, методы *in situ*, методы *ex situ*, культивирование.

ВВЕДЕНИЕ

Уникальная экосистема Байкала составлена разнообразными, преимущественно эндемичными фауной и флорой. Спонгиозная фауна

озера включает донные организмы из семейств Lubomirskiidae (16 видов) [Bukshuk, Maikova, 2020] и Spongillidae (5 видов) [Efremova, 2001]. Байкальские губки, как и все представители

этой группы, содержат сложное симбиотическое сообщество, включающее экзо- и эндосимбионтов [Zvereva et al., 2019].

В последние годы ситуация на Байкале, по мнению некоторых специалистов, характеризуется как катастрофическая, особенно если речь идет о литорали [Khanaev et al., 2018]. Эти изменения связаны с интенсивным развитием плохо организованного туризма, увеличением объема сточных вод, бытовых отходов и отсутствием в ряде мест очистных сооружений, а также, возможно, и другими причинами. Все это должно приводить к увеличению концентраций азота и фосфора в прибрежных зонах оз. Байкал. Предполагается, что обильный рост нитчатых водорослей связан с накоплением этих основных биогенов [Sorokovikova et al., 2020]. По данным Ю. М. Зверевой и соавт., от 30 до 100 % байкальских губок больны, повреждены или мертвы в зависимости от места исследования [Zvereva et al., 2019]. Сначала наблюдения проводили на небольших глубинах (5–20 м). При погружении ниже 20 м в 2015 г. обнаружены большие ветвящиеся формы *Lubomirskia baicalensis* (Pallas, 1776) [Khanaev et al., 2018; Potemkina et al., 2018]. С 2016 по 2018 г. отмечена динамика ухудшения состояния большинства исследованных байкальских губок. С 2018 по 2019 г. состояние некоторых губок улучшилось за счет регенерации пораженных участков. Некроз тканей у пораженных животных сопровождался бурным развитием цианобактерий. Некоторые из них, в том числе у обнаруженных в оз. Байкал, являются продуцентами токсинов [Belykh et al., 2016, 2019; Bondarenko et al., 2021]. Согласно результатам, полученным О. И. Беликовым и соавт., распространение цианобактерий в литоральной зоне оз. Байкал следует рассматривать как одно из важнейших негативных экологических изменений, наблюдавшихся в последнее время. Особую роль в патогенезе и гибели байкальских губок, вероятно, играют цианобактерии рода *Tychoneta*, образующие плотные маты [Bondarenko et al., 2019]. Однако, по мнению С. И. Беликова и его коллег, массовая гибель губок, скорее всего, была связана с распадом симбиотического микробного сообщества, приведшим к возникновению и распространению инфекции [Belikov et al., 2019].

Байкальские эндемичные губки способны отфильтровывать большой объем воды [Kurchinsky et al., 2019]. Согласно А. J. Pile et al., губка пропускает в течение суток около 1 л воды на 1 г сухой массы [Pile et al., 1997]. На некоторых участках литорали оз. Байкал биомасса губок составляет значительную долю зообентоса [Kozhov, Tomilov, 1965; Kozhov, 1970]. Поэтому, если не принять мер по сохранению численности байкальских губок, озеро лишится одного из важнейших естественных фильтраторов воды. Вместе с губкой могут исчезнуть ее экзо- и эндосимбионты. Все вышеизложенное делает актуальным не только развитие природоохранных, но и природовосстановительных мероприятий по отношению к *Lubomirskiidae*. О. О. Майкова и соавт. установили, что корковые и шаровидные формы байкальских губок способны очень быстро восстанавливаться за счет регенерации пораженных участков и быстрого роста. После почти полной деградации в корковых формах остаются фрагменты, которые впоследствии могут вырасти в отдельные организмы [Maikova et al., 2020]. В то же время скорость роста байкальских губок очень низкая – не более 1–1,5 см в год [Simpson, 1984]. При обсуждении и поиске оптимальных подходов к поддержанию популяции байкальских губок следует, по-видимому, обращаться к публикациям, посвященным рассмотрению материалов по воспроизводству *Porifera* в биотехнологических и коммерческих целях. Основная часть такого рода исследований связана с морскими губками. В данном обзоре рассматриваются подходы и методы выращивания губок. Их можно разделить на четыре основные группы: культуры из личинок, примморфов, покоящихся стадий (редукционных телец и геммул) и эксплантов.

ВЫРАЩИВАНИЕ ГУБОК *EX SITU*

Личинки

На ранних этапах развития губки стадия личинки следует за стадиями дробления и морфогенеза. По эмбриологическим и гистологическим признакам описано восемь различных форм [Ereskovsky, 2010]. На данный момент сведения о получении взрослых байкальских губок из личинок отсутствуют. Вместе с тем существует ряд интересных материалов о процессах полового размножения

байкальских губок [Гуреева, 1968; Семитуркина и др., 2009; Букшук, 2014].

Подавляющая часть полученных сведений по выращиванию губок из личиночной стадии получена в экспериментах с морскими видами. Первые исследования подобного плана проведены еще в конце XIX в. Х. В. Уилсоном [Wilson, 1898]. Наиболее подробно аспекты получения морских губок из личинок описаны S. de Caralt et al. [2007]. Были оценены успешность заселения, морфологические изменения при метаморфозе и выживаемость *Dysidea avara* (Schmidt, 1862), *Ircinia oros* (Schmidt, 1864) и *Hippospongia communis* (Lamarck, 1814) в одних и тех же условиях культивирования. Проверено влияние проточного режима и пищи на выживание и рост молоди *D. avara* и *Crambe crambe* (Schmidt, 1862). Изучены выживаемость и рост молоди *D. avara* и *C. crambe*, перенесенных в море, для сравнения развития губок из личинок *ex situ* и *in situ*. Результаты в целом показали, что культивирование губок из личинок является многообещающим методом, и что лабораторное культивирование в контролируемых условиях предпочтительнее культивированию в море. Это, в частности, предотвращает гибель особей на ранних стадиях жизни [de Caralt et al., 2007]. Стоит отметить, что эти результаты справедливы для выбранных авторами исследования средиземноморских губок.

Известно, что период миграции и период компетентности (промежуток времени, когда личинка способна к оседанию) у многих морских губок определяются уровнем энергетических запасов, скоростью развития и наличием сигналов оседания во внешней среде [Maldonado, 2006]. Ранее М. Maldonado и С. М. Young выявлена зависимость выживаемости личинок от продолжительности периода миграции на примере *Haliclona caerulea* (Hechtel, 1965). Чем дольше личинки находятся в свободном состоянии, тем выше вероятность их гибели [Maldonado, Young, 1999]. Однако вышеописанные факторы сильно меняются от одного вида к другому. Это не позволяет учитывать их в одинаковой степени при культивировании губок разных видов из личинок [Maldonado, 2006].

Подводя итоги, следует сказать, что культивирование губок из личиночной культуры – весьма интересное направление. Однако

оно имеет серьезные недостатки. Во-первых, данные сильно варьируются, в связи с чем невозможно обобщить полученные результаты и вывести общие рекомендации по выращиванию жизнеспособных губок из личинок. Во-вторых, до сих пор нет сведений по использованию личиночной культуры в получении байкальских эндемичных губок. Большинство сведений по данной теме справедливо для морских видов. Однако возможно, что дальнейшие исследования, направленные на восстановление и сохранение спонгиозауны Байкала, помогут решить эту проблему.

Примморфы

Уникальной особенностью большинства Porifera является их регенерация в полноценные организмы из скоплений клеток – примморфов. Это культуры клеток губок, полученные в лабораторных условиях и, как правило, имеющие вид довольно стабильных сферических агрегатов, покрытых экзопинакодермой. Образование примморфов принимается за один из начальных этапов регенерации губок *ex situ*. Перед стадией примморфа клетки объединяются в аморфные образования под действием фактора агрегации [Humphreys, 1963; Moscona, 1963]. Он имеет гликопротеиновую природу и работает в присутствии в среде ионов Ca^{2+} , Mg^{2+} и галектина.

М. R. Custodio et al. и W. E. G. Müller et al. при получении примморфов *Suberites domuncula* (Olivi, 1792) сформулировали протокол, включающий необходимые условия для роста и развития примморфных культур [Custodio et al., 1998; Müller et al., 1999]. После образования примморфа происходит регенерация. Она включает обширную дедифференцировку и трансдифференцировку определенных типов клеток [Lavrov, Kosevich, 2016]. Для получения клеточных агрегатов, а затем и примморфов тело губки необходимо предварительно гомогенизировать. Это достигается тремя способами: механическим, химическим и механохимическим. Первый заключается в разрезании губки на фрагменты стерильным скальпелем и пропускании ее через мельничный газ. Второй способ – измельчение фрагментов губки в ЭДТА, перемешивание на орбитальном шейкере, фильтрация надосадочной жидкости через мельничный газ с последующим центрифугированием. После этого выпавшие в осадок

клетки отмывают от ЭДТА, ресуспендируют и помещают на орбитальный шейкер. Суть третьего метода (механохимическая диссоциация ткани губки) – в раздавливании ткани губки с помощью пинцета и скальпеля в ЭДТА. Последующие процедуры аналогичны используемым в методе химической диссоциации [Lavrov, Kosevich, 2016]. Для подавления жизнедеятельности патогенных микроорганизмов применяют антибиотики. Следует отметить, что в зависимости от концентрации, pH среды и температуры они могут непосредственно влиять на формирование примморфов [Zhang et al., 2003]. Отмечено, что развитие примморфов более интенсивно идет из клеточных фракций, обогащенных археocyтами и хоаноцитами [Zhang et al., 2003; Funayama et al., 2005; Funayama, 2013].

На данный момент наиболее изучены процессы реагрегации и регенерации у следующих видов губок: *Clathria prolifera* (Ellis & Solander, 1786), *Ephydatia fluviatilis* (L., 1759), *Halichondria panicea* (Pallas, 1766), *Haliclona permollis* (Bowerbank, 1866), *Halisarca dujardini* (Johnston, 1842), *Leucosolenia complicata* (Montagu, 1814), *Spongilla lacustris* (L., 1758), *Sycon lingua* (Haeckel, 1870), *S. raphanus* (Schmidt, 1862). Их примморфные культуры при длительном культивировании могут формировать зрелых губок [Ereskovsky et al., 2021]. Тем не менее стоит отметить, что несмотря на большое количество сообщений на эту тему, изучение культивирования губок из примморфной культуры, начиная от клеточных агрегатов и заканчивая зрелым организмом, находится на начальной стадии. В основном исследования направлены на изучение примморфов как модельной культуры, а также получение лекарственных препаратов и метаболитов [Rady et al., 2016; Chernogor et al., 2020; Song et al., 2021].

Известно несколько исследований по получению примморфов байкальской губки *in vitro*. Они были проведены сотрудниками Лимнологического института СО РАН (Л. И. Черногор, О. Ю. Глызина). Л. И. Черногор и соавт. получили долгоживущие примморфы *L. baicalensis* [Chernogor et al., 2011]. При этом они использовали природную и модельную байкальскую воду. В некоторых экспериментах применяли факторы роста. Губка была механически диссоциирована. Полученную су-

спензию растворяли в байкальской воде и выдерживали 20 мин при температуре 3–6 °C до образования густого осадка. Культивирование проводили в байкальской воде при температуре 3–6 °C, на свету с интенсивностью 47 лк при 12-часовой смене режима день/ночь. Через 2 сут примморфы переносили в модельную байкальскую воду во флаконы объемом 200–500 мл и 24-луночные планшеты при температуре 3–6 °C. Среду меняли каждый день в течение первой недели, затем раз в неделю. Культура сохраняла жизнеспособность более 10 мес. [Chernogor et al., 2011]. Позже была подробно описана ультраструктура примморфов, полученных из *L. baicalensis*, идентифицированы симбиотические микроводоросли порядка Suessiales, родов *Mychonastes* и *Choricystis* [Müller et al., 2007; Ereskovsky et al., 2015].

Выращивание губок, в том числе байкальских эндемиков, из культуры примморфов – особенно перспективное и многообещающее направление. Об этом говорит относительная простота и дешевизна метода. Кроме того, на примере *Sycon ciliatum* (Fabricius, 1780) показано, что развитие из примморфов на транскриптомном уровне весьма сходно с естественным развитием из личинок [Soubigou et al., 2020]. Этот факт подтверждает потенциальную возможность адаптации губок, сформированных *ex situ*, к реальным условиям. Недостатком, как и при использовании других методов выращивания губок *ex situ*, является очень малое количество продолжительных экспериментов. Они бы могли подтвердить возможность получения взрослых сформированных губок из примморфов.

Геммулы и редукционные тела

Геммулы (внутренние почки) пресноводных губок представляют собой клеточные структуры, скопления тесоцитов, покрытые несколькими слоями различных полисахаридов и склеропротеинов. Байкальские эндемики образуют отделяемые наружные почки без скелетных элементов (редукционные тельца, сориты). И геммулы, и редукционные тельца образуются для переживания неблагоприятных условий окружающей среды. R. Rasmont et al. выращивали *Ephydatia fluviatilis* (L., 1759) и *Spongilla lacustris* (L., 1758) из геммул в культуральной среде с подробным описанием факторов, влияющих на геммуляцию

[Rasmont, 1975]. М. А. Poirier et al. подобрали оптимальные условия для роста пресноводных губок из геммул в аквариумах с проточной системой [Poirier et al., 1981]. Культуры губок, полученные из покоящихся стадий, могут быть использованы для различных исследований [Schill et al., 2006; Karlep et al., 2013; Bart et al., 2019]. О. Ю. Глызина и соавт., длительное время культивируя *L. baikalensis* [Glygina et al., 2013], показали, что при повышении температуры воды выше экологического оптимума губка не остается в рамках своей обычной “пациентной” жизненной стратегии, а проявляет способность к усиленному размножению. При этом наблюдается не только половое, но и бесполое размножение – с помощью образования редукционных телец. В период с 2010 по 2013 г. в опытах с *L. baikalensis* появление редукционных телец регистрировали 8 раз. По данным биохимических исследований они имели повышенное содержание хлорофиллов *a* и *b*, что указывает на их автотрофное питание за счет симбиотических зеленых водорослей. Авторами также зафиксировано развитие новых губок из редукционных телец при возвращении благоприятных условий [Glygina et al., 2013].

Геммулы и редукционные тельца способны переносить различные неблагоприятные условия, в том числе перепады температур. Это может обеспечить сохранность культуры губок до наступления подходящих условий. Недостатком, как в случае личиночной культуры и примморфов, являются малочисленные и противоречивые данные о развитии губок в продолжительных экспериментах.

ВЫРАЩИВАНИЕ ГУБОК *IN SITU*

Экспланты

Экспланты у Porifera представляют собой фрагменты животного, отделенные для последующего выращивания в оптимальных условиях до необходимых размеров. Эксплантацию всегда проводят в водной среде. А. R. Duckworth в своем обзоре охватил более чем 100-летнее развитие аквакультуры губок [Duckworth, 2009]. Как правило, выращивание проводят в естественных условиях на различных приспособлениях: вертикальных канатах, подводных платформах, каркасах и садках [Duckworth et al., 2004; Duckworth, 2009].

На данный момент существует множество различных конструкций, используемых при культивировании губок *in situ*. Это поводки, фиксирующие фрагмент губки, сетчатые мешки, сетчатые контейнеры из нержавеющей стали, крепление эксплантов на нейлоновых шнурах, натянутых между двумя тросами, и т. д.

Следует также учитывать, что не все виды культивируемых губок способны расти в условиях, когда фрагмент закреплен на поводке и свободно находится в толще воды. По этой причине их можно прикрепить ко дну в мешках из нейтральной сетки. Этот метод имеет ряд преимуществ: 1) эксплант не испытывает механических повреждений от прохождения поводка из синтетического материала через тело, благодаря чему губка быстрее растет; 2) снижается трудоемкость монтажа подводной “фермы”.

Однако у метода есть недостаток – нейлоновая сетка обрастает водорослями. Поэтому необходимо полностью заменять сетку на новую и пересаживать фрагмент губки, что негативно сказывается на ее росте и удорожает процесс. Тем не менее выращивание губок из фрагментов тканей *ex situ*, например в аквариумах, остается сложной задачей. Основная проблема заключается в подборе оптимальных условий: освещенности, температуры, минерального состава воды, ее замены, аэрации. Результаты, предоставленные Carballo et al., показали, что в аквариумах экспланты растут в 3 раза медленнее, чем в естественных условиях [Carballo et al., 2010].

Методика культивирования эксплантов *ex situ* подробно описана в обзоре Е. Н. Belarbi et al. Авторы уделили внимание многим аспектам этого вопроса: состоянию губок, условиям культивирования, соблюдению стерильности при получении фрагментов, применению антибиотиков и влиянию абиотических факторов, питанию [Belarbi et al., 2003]. Влияние температуры на ювенильную культуру *Hydromeniacidon perlevis* (Montagu, 1814) изучали L. Xue и W. Zhang [2009]. Повышение температуры с 18 до 23 °С в течение всей инкубации способствовало увеличению размеров в 29 раз за 43 дня. Снижение температуры приводило к прекращению роста. Еще одним важным аспектом культивирования *in situ* является сохранение нативного консорциума ассоциированных микроорганизмов [Becerro et al., 2012].

Достоинства и недостатки методов и подходов для восстановления популяций Porifera

Метод культивирования	Достоинства	Недостатки	Некоторые примеры	Ссылка
<i>In situ</i> Эксплантация	Широко применяемый метод как для хозяйственных и коммерческих нужд, так и для восстановления спонгифауны. Многолетний опыт исследований. Относительно простой и дешевый	Экспланты растут очень медленно. Требуется индивидуальный подбор устройств для фиксации фрагментов губок. Рост эксплантов довольно сложно контролировать	<i>Hymeniacidon perlevis</i>	Xue, Zhang, 2009
<i>Ex situ</i> Выращивание из личинок	Выживаемость в реальных условиях некоторых видов губок может быть выше	Полученные результаты сильно варьируются от вида к виду. Из-за этого невозможно обобщить полученные результаты и вывести общие рекомендации по выращиванию жизнеспособных губок из личинок. Большинство сведений по данной теме справедливы для морских видов	<i>Dysidea avara</i> , <i>Ircinia oros</i> , <i>Hippospongia communis</i> , <i>Crambe crambe</i>	de Caralt et al., 2007
Выращивание из примморфов	Большинство изученных видов способно к частичной или полной регенерации, в том числе из отдельных клеточных агрегатов. Культуру примморфов относительно несложно получить и поддерживать. Описаны и апробированы подробные методики омоложения губки с получением примморфов	Малочисленные сведения о развитии губок в продолжительных экспериментах	<i>Suberites domuncula</i> , <i>Clathria proliferata</i> , <i>Ephydatia fluviatilis</i> , <i>Halichondria panicea</i> , <i>Haliclona permollis</i> , <i>Halysarca dujardini</i> , <i>Leucosolenia complicata</i> , <i>Spongilla lacustris</i> , <i>Sycon lingua</i> , <i>Sycon raphanus</i> , <i>Lubomirskia baicalensis</i>	Humphreys, 1963; Moscona, 1963; Ereskovsky et al., 2021; Chernogor et al., 2011
Выращивание из геммул и репродукционных телец	Покоящиеся стадии губок способны переносить различные неблагоприятные условия, в том числе перепады температур. Это может обеспечить сохранность культуры губок до наступления подходящих условий	Аналогично	<i>Lubomirskia baicalensis</i> , <i>Ephydatia fluviatilis</i> , <i>Spongilla lacustris</i>	Rasmont, 1975; Poirier et al., 1981; Glycina et al., 2013

Выращивание губок из эксплантов в лабораторных условиях позволяет отслеживать и контролировать процесс культивирования. Однако определенную сложность при этом составляет подбор условий, максимально приближенных к реальным. В исследовании S. de Caralt et al. показано, что антибиотики в малых дозах не действуют на симбиотические бактерии. По мнению авторов, температура и доступность питательных веществ являются ключевыми факторами, влияющими на жизнеспособность и рост [de Caralt et al., 2003].

Использование эксплантов для получения взрослых губок известно человечеству с губкой древности [Chopin, 2013]. Сейчас в мировой практике этот метод широко используется в хозяйственных и коммерческих целях для выращивания губок, а также для восстановления морской спонгиозауны [Bierwirth et al., 2022]. Этот способ относительно простой и дешевый. Существенным недостатком выращивания губок из эксплантов как *in situ*, так и *ex situ* является длительный период культивирования. В реальных условиях такую культуру довольно сложно контролировать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последнее десятилетие опубликовано много сообщений об угнетенном состоянии байкальских губок и катастрофическом снижении их численности во многих районах озера. Поэтому становится все более актуальным вопрос о необходимости разработки не только природоохранных, но и природовосстановительных мероприятий. Для этого важна информация о методах и подходах культивирования губок.

Проанализировано четыре различных способа получения губок *in situ* и *ex situ*: выращивание из личинок, примморфов, покоящихся стадий (геммул и редукционных тел) и эксплантов. Достоинства и недостатки всех методик восстановления спонгиозауны описаны в таблице.

При анализе нами были учтены следующие факторы: 1) количество исследований, описывающих метод; 2) выживаемость молоди губок в природных условиях после культивирования *ex situ*; 3) простота и дешевизна метода.

Известно множество исследований, посвященных этим методам. Так, эксплантация

губок *in situ* широко используется в различных целях в мировой практике. Примморфы *L. baikalensis* способны к долговременному существованию в лабораторных условиях [Chernogor et al., 2011]. Однако следует отметить, что они, как и экспланты, растут достаточно медленно. Появление редукционных тел у байкальских губок и последующий рост из них новых особей отмечены только в искусственно созданных условиях [Glycina et al., 2013]. Выращивание губок из личинок пока находится на начальной стадии изучения.

Из рассмотренных в данном кратком обзоре методик для культивирования и восстановления байкальских эндемичных губок наиболее перспективными являются культура примморфов и экспланты. В будущем они могут лечь в основу рекомендаций по восстановлению и поддержанию уникальной спонгиозауны озера. Тем не менее стоит отметить, что необходимо подробное изучение этих методик применительно к байкальским губкам и проведение большого количества исследований.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и МОКНМС в рамках научного проекта № 20-54-44012.

ЛИТЕРАТУРА

- Букшук Н. А. Экологические особенности эндемичных губок озера Байкал: распределение и жизненные циклы: дис. Иркутск, 2014.
- Гуреева М. А. О половом размножении байкальских губок // Докл. АН СССР. 1968. № 5. С. 1253–1254.
- Семитуркина Н. А., Ефремова С. М., Тимошкин О. А. Степень изученности биоразнообразия и экологии спонгиозауны озера Байкал с акцентом на разнообразие, особенности экологии и вертикальное распределение губок на полигоне у мыса Березовый // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна / отв. ред. О. А. Тимошкин. Новосибирск: Наука, 2009. С. 891–901.
- Bart M. C., de Vet S. J., de Bakker D. M., Alexander B. E., van Oevelen D., van Loon E. E. et al. Spiculous skeleton formation in the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis* under hypergravity conditions // Peer J. 2019. Vol. 6. P. 1–18.
- Becerro M. A., Uriz M. J., Maldonado M., Turon X. Advances in Sponge Science: Physiology, Chemical and Microbial Diversity, Biotechnology. Vol. 62. Oxford: Elsevier, 2012. 356 p.
- Belarbi El H., Gómez A. C., Chisti Y., Camacho F. G., Grima E. M. Producing drugs from marine sponges // Biotechnol. Advan. 2003. Vol. 21, N 7. P. 585–598.
- Belikov S. I., Belkova N., Butina T., Chernogor L., Martynova-Van Kley A. et al. Diversity and shifts of the bacterial community associated with Baikal sponge mass mortalities // PLoS One. 2019. Vol. 14, N 3. P. 1–19.

- Belykh O. I., Fedorova G. A., Kuzmin A. V., Tikhonova I. V., Timoshkin O. A., Sorokovikova E. G. Microcystins in cyanobacterial biofilms from the littoral zone of Lake Baikal // Moscow University Biol. Sci. Bull. 2019. Vol. 72, N 4. P. 225–231.
- Belykh O. I., Tikhonova I. V., Kuzmin A. V., Sorokovikova E. G., Fedorova G. A., Khanaev I. V., Sherbakova T. A., Timoshkin O. A. First detection of benthic cyanobacteria in Lake Baikal producing paralytic shellfish toxins // Toxicon. 2016. Vol. 121. P. 36–40.
- Bierwirth J., Mantas T. P., Villechanoux J., Cerrano C. Restoration of marine sponges – What can we learn from over a century of experimental Cultivation? // Water. 2022. Vol. 14. 1055.
- Bondarenko N. A., Ozersky T., Obolkina L. A., Tikhonova I. V., Sorokovikova E. G., Sakirko M. V., Potapov S. A., Blinov V. V., Zhdanov A. A., Belykh O. I. Recent changes in the spring microplankton of Lake Baikal, Russia // Limnologica. 2019. Vol. 75. P. 19–29.
- Bondarenko N. A., Tomberg I. V., Shirokaya A. A., Belykh O. I., Tikhonova I. V., Fedorova G. A. et al. *Dolichospermum lemmermannii* (Nostocales) bloom in world's deepest Lake Baikal (East Siberia): abundance, toxicity and factors influencing growth // Limnol. and Freshwater Biol. 2021. N 1. P. 1101–1110.
- Bukshuk N. A., Maikova O. O. A new species of Baikal endemic sponges (*Porifera*, Demospongiae, Spongillida, Lubomirskiidae) // ZooKeys. 2020. Vol. 906. P. 113–130.
- Calheira L., Lanna E., Pinheiro U. Tropical freshwater sponges develop from gemmules faster than their temperate-region counterparts // Zoomorphology. 2019. Vol. 138, N 4. P. 425–436.
- Carballo J. L., Yañez B., Zubia E., Ortega M. J., Vega C. Culture of explants from the sponge *Mycale cecilia* to obtain bioactive mycalazal-type metabolites // Mar. Biotechnol. 2010. Vol. 12, N 5. P. 516–525.
- Chernogor L., Klimenko E., Khanaev I., Belikov S. Microbiome analysis of healthy and diseased sponges *Lubomirskia baicalensis* by using cell cultures of primmorphs // PeerJ. 2020. Vol. 8. e9080.
- Chernogor L. I., Denikina N. N., Belikov S. I., Ereskovsky A. V. Long-Term Cultivation of Primmorphs from Freshwater Baikal Sponges *Lubomirskia baicalensis* // Mar. Biotechnol. 2011. Vol. 13, N 4. P. 782–792.
- Chopin T. Integrated multitrophic aquaculture – ancient, adaptable concept focuses on ecological integration // Global Aquacult. Adv. 2013. Vol. 16. P. 16–19.
- Custodio M. R., Prokic I., Steffen R., Koziol C., Borojevic R., Brümmer F., Nickel M., Müller W. E. G. Primmorphs generate from dissociated cells of the sponge *Suberites domuncula*: a model system for studies of cell proliferation and cell death // Mechanisms of Ageing and Development. 1998. Vol. 105, N 1-2. P. 45–59.
- de Caralt S., Agell G., Uriz M. Long-term culture of sponge explants: conditions enhancing survival and growth, and assessment of bioactivity // Biomol. Eng. 2003. Vol. 20, N 4-6. P. 339–347.
- de Caralt S., Uriz M. J., Wijffels R. H. Cultivation of sponge larvae: settlement, survival, and growth of juveniles // Mar. Biotechnol. 2007. Vol. 9, N 5. P. 592–605.
- Duckworth A. Farming Sponges to Supply Bioactive Metabolites and Bath Sponges: A Review // Mar. Biotechnol. 2009. Vol. 11, N 6. P. 669–679.
- Duckworth A., Battershil C. N., Schiel D. R. Effects of depth and water flow on growth, survival and bioactivity of two temperate sponges cultured in different seasons // Aquaculture. 2004. Vol. 242. P. 237–250.
- Efremova S. M., Porifera // Index of Animal Species Inhabiting Lake Baikal and its Catchment Area / Ed. O. A. Timoshkin. Novosibirsk: Nauka, 2001. P. 179–192.
- Ereskovsky A. V. The Comparative Embryology of Sponges. Springer, 2010.
- Ereskovsky A., Borisenko I. E., Bolshakov F. V., Lavrov A. I. Whole-Body Regeneration in Sponges: Diversity, Fine Mechanisms, and Future Prospects // Genes. 2021. Vol. 12. 506.
- Ereskovsky A. V., Chernogor L. I., Belikov S. I. Ultrastructural description of development and cell composition of primmorphs in the endemic Baikal sponge *Lubomirskia baicalensis* // Zoomorphology. 2015. Vol. 135, N 1. P. 1–17.
- Funayama N. The stem cell system in demosponges: suggested involvement of two types of cells: archeocytes (active stem cells) and choanocytes (food-entrapping flagellated cells) // Development Gen. and Evolut. 2013. Vol. 223, N 1-2. P. 23–38.
- Funayama N., Nakatsukasa M., Hayashi T., Agata K. *Ephydatia fluviatilis* and its lineage marker, Ef annexin. Development // Growth and Different. 2005. Vol. 47, N 4. P. 243–253.
- Glycina O. Yu., Glysin A. V., Shilyannikova T. A. Life strategies of baikalian sponge *Lubomirskia baicalensis* // The Bull. of Irkutsk State University. Series “Biology. Ecology”. 2013. Vol. 6. P. 82–86.
- Humphreys T. Chemical Dissolution and *in vitro* Reconstruction of Sponge Cell Adhesions // Developmental Biol. 1963. Vol. 8, N 1. P. 27–47.
- Karlep L., Reintamm T., Kelve M. Intragenomic Profiling Using Multicopy Genes: The rDNA Internal Transcribed Spacer Sequences of the Freshwater Sponge *Ephydatia fluviatilis* // PLoS One. 2013. Vol. 8, N 6. P. 1–12.
- Khanaev I. V., Kravtsova L. S., Maikova O. O., Bukshuk N. A., Sakirko M. V., Kulakova N. V., Butina T. V., Nebesnykh I. A., Belikov S. I. Current state of the sponge fauna (*Porifera*: Lubomirskiidae) of Lake Baikal: Sponge disease and the problem of conservation of diversity // J. Great Lakes Res. 2018. Vol. 44. P. 77–85.
- Kozhov M. M. About the benthos of south Baikal // Bull. Scientific-Research Biology & Geography Institute at Irkutsk State University. 1970. Vol. 23. P. 3–12.
- Kozhov M. M., Tomilov A. A. To understanding of the Lake Baikal plankton // Proc. of Biol. and Geogr. Institute of Irkutsk State University. 1965. Vol. 18, N 1-2. P. 3–17.
- Kupchinsky A. B., Fialkov V. A., Zhdanova G. O., Gorbunova Yu. O., Stom D. I. (2019, June). Absorption of microorganisms by Lubomirskiidae sponges. International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM, Sofia, 2019. <https://doi.org/10.5593/sgem2019/3.1/S12.001>
- Lavrov A. I., Kosevich I. A. Sponge Cell Reaggregation: Cellular Structure and Morphogenetic Potencies of Multicellular Aggregates // J. Exp. Zool. Part A: Ecol. Genet. and Physiol. 2016. Vol. 325, N 2. P. 158–177.
- Maikova O. O., Kravtsova L. S., Khanaev I. V. Baikal endemic sponges in the system of ecological monitoring // Limnol. and Freshwater Biol. 2020. Vol. 1. P. 364–367.
- Maldonado M. The ecology of the sponge larva // Can. J. Zool. 2006. Vol. 84, N 2. P. 175–194.

- Maldonado M., Young C. M. Effects of the duration of larval life on postlarval stages of the demosponge *Sigmadocia caerulea* // J. Exp. Mar. Biol. and Ecol. 1999. Vol. 232, N 1. P. 9–21.
- Moscona A. A. Studies on cell aggregation: demonstration of materials with selective cell-binding activity // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1963. Vol. 49, N 5. P. 742–747.
- Müller W. E. G., Belikov S. I., Kaluzhnaya O. V., Perović-Ottstadt S., Fattorusso E., Ushijima H., Krasko A., Schröder H. C. Cold stress defense in the freshwater sponge *Lubomirskia baicalensis* // FEBS J. 2007. Vol. 274. P. 23–36.
- Müller W. E. G., Wiens M., Batel R., Steffen R., Schröder H. C., Borojevic R., Custodio M. R. Establishment of a primary cell culture from a sponge: primmorphs from *Suberites domuncula* // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1999. Vol. 178. P. 205–219.
- Pile A. J., Patterson M. R., Savarese M., Chernykh V. I., Fialkov V. A. Trophic effects of sponge feeding within Lake Baikal's littoral zone. 2. Sponge abundance, diet, feeding efficiency, and carbon flux // Limnol. Oceanogr. 1997. Vol. 42, N 1. P. 178–184.
- Poirrier M. A., Francis J. C., la Biche R. A. A continuous-flow system for growing fresh-water sponges in the laboratory // Hydrobiologia. 1981. Vol. 79, N 3. P. 255–259.
- Potemkina T. G., Potemkin V. L., Fedotov A. P. Climatic factors as risks of recent ecological changes in the shallow zone of Lake Baikal // Rus. Geol. Geophys. 2018. Vol. 59. P. 556–565.
- Rady H. M., Shoukr F. A., El Komi M. M., El Bossery A. M., Ezz El-Arab M. A. Establishment of primmorphs from three Red Sea sponge species // Pharmaceutical J. 2016. Vol. 15, N. 2. P. 48–54.
- Rasmont R. Chapter 5 Freshwater Sponges as a Material for the Study of Cell Differentiation Dedicated to the memory of Paul Brien // Current Topics in Developmental Biology / Eds.: A. A. Moscona, A. Monroy. Academic Press, 1975. Vol. 10. P. 141–159.
- Schill R. O., Pfannkuchen M., Fritz G., Köhler H., Brümmer F. Quiescent Gemmules of the Freshwater Sponge, *Spongilla lacustris* (Linnaeus, 1759) Contain Remarkably High Levels of Hsp70 Stress Protein and hsp 70 Stress Gene mRNA // J. Exp. Zool. Part A: Comparative Exp. Biol. 2006. Vol. 305, N 5. P. 449–457.
- Simpson T. L. The Cell Biology of Sponge. Springer, 1984.
- Song Y., Qu Y., Cao X., Zhang W., Zhang F., Linhardt R. J., Yang Q. Cultivation of fractionated cells from a bioactive-alkaloid-bearing marine sponge *Axinella* sp. // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal. 2021. Vol. 57. P. 539–549.
- Sorokovikova L. M., Tomberg I. V., Sinyukovich V. N., Ivanov V. G. Dynamics of nutrient concentrations and eutrophication of the waters in Barguzin Bay (Lake Baikal) // Limnol. Freshwater Biol. 2020. Vol. 4. P. 890–891.
- Soubigou A., Ross E. G., Touhami Y., Christmas N., Modepalli V. Regeneration in sponge *Sycon ciliatum* mimics postlarval development // Development. 2020. Vol. 147, N 22. dev193714.
- Wilson H. V. On the feasibility of raising sponges from the egg // Fish Commission Bull. 1898. Vol. 16. P. 241–245.
- Xue L., Zhang W. Growth and Survival of Early Juveniles of the Marine Sponge *Hymeniacidon perlevis* (Demospongiae) Under Controlled Conditions // Mar. Biotechnol. 2009. Vol. 11. P. 640–649.
- Zhang W., Zhang X., Cao X., Xu J., Zhao Q., Yu X., Jin M., Deng M. Optimizing the formation of in vitro sponge primmorphs from the Chinese sponge *Stylotella agminata* (Ridley) // J. Biotechnol. 2003. Vol. 100, N 2. P. 161–168.
- Zvereva Yu., Medvezhonkova O., Naumova T., Sheveleva N., Lukhnev A., Sorokovikova E., Evstigneeva T., Timoshkin O. A. Variation of sponge-inhabiting infauna with the state of health of the sponge *Lubomirskia baicalensis* (Pallas, 1776) in Lake Baikal // Limnology. 2019. Vol. 20. P. 267–277.

Some approaches to restoring the populations of Baikal sponges: a review

I. A. TOPCHYI¹, D. I. STOM^{1, 2, 3}, M. Yu. TOLSTOY², O. N. PONAMOREVA⁴, A. D. STOM¹,
M. N. SAKSONOV¹, A. B. KUPCHINSKY³

¹*Irkutsk State University*
664003, Irkutsk, Karl Marks str., 1

²*Irkutsk National Research Technical University*
664019, Irkutsk, Barrikad str., 147

³*Baikal Museum SB RAS*
664520, Urkytskaya oblast, Listvyanka, Academicheskaya str., 1

⁴*Tula State University*
300012, Tula, Lenin av., 92
E-mail: stomd@mail.ru

The unique ecosystem of Lake Baikal is made up of a diverse, mostly endemic fauna. The spongiofauna of the lake is represented by two families: endemic Lubomirskiidae and cosmopolitan Spongillidae. In recent years, the situation on Baikal has been characterized as catastrophic, especially when it comes to the littoral. There are numerous reports about the oppressed state of the Baikal sponges and the decrease in their numbers in many areas of the lake. The question is raised that not only nature protection, but also nature restoration measures are needed. The review discusses the basic techniques and methods of growing sponges. 4 main approaches to the cultivation of sponges *ex situ* and *in situ* are described in the most detail in world practice: 1) from larvae; 2) from primmorphs (sponge cell cultures); 3) from resting stages (gemmules and reduction bodies); 4) from explants (fragments of living tissue separated from the parent organism). The review discusses attempts to apply the described approaches used in world practice for growing Baikal sponges. Based on the analysis of the literature, it is assumed that the use of the most effective of the above approaches will make it possible to develop a technology for obtaining Baikal sponges.

Key words: *Porifera*, Baikal sponges, restoration of the sponge population, *in situ* methods, *ex situ* methods, cultivation.