

ISSN 2412-8988

DOI: 10.17117/cn.2016.08.03

<http://ucom.ru/doc/cn.2016.08.03.pdf>

Вестник научных конференций

2016 · N 8-3(12)

*Bulletin of
Scientific Conferences*

Исследование причин беспрецедентной гибели эндемичных губок озера Байкал

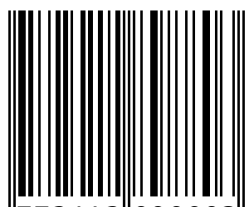
*Study of the causes of the unprecedented
destruction of endemic Baikal sponges*

*По материалам международного
рабочего совещания
6-10 сентября 2016 г.*



ИРКУТСКАЯ ОБЛАСТНАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
УНИВЕРСАЛЬНАЯ НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
ИМ. И. И. МОЛЧАНОВА-СИБИРСКОГО

ISSN 2412-8988



9 772412 898803



<http://ucom.ru/cn>

Вестник научных конференций. 2016. № 8-3(12). Исследование причин беспрецедентной гибели эндемичных губок озера Байкал: по материалам международного рабочего совещания 6-10 сентября 2016 г., Лимнологический институт, г. Иркутск. 40 с.

ISSN 2412-8988

DOI: 10.17117/cn.2016.08.03

<http://ucom.ru/doc/cn.2016.08.03.pdf>

Издание предназначено для научных и педагогических работников, преподавателей, аспирантов, магистрантов и студентов с целью использования в научной работе и учебной деятельности. По материалам международного рабочего совещания «Исследование причин беспрецедентной гибели эндемичных губок озера Байкал», 6-10 сентября 2016 г., Лимнологический институт, Россия, г. Иркутск.

Информация об опубликованных статьях предоставляется в систему Российского индекса научного цитирования – **РИНЦ** (договор № 255-04/2015).

Состав Оргкомитета:

Председатель Оргкомитета д.б.н., проф, зав. лабораторией органической и биорганической химии Беликов С.И.

Зам. председателя Оргкомитета к.б.н., н.с. Черногор Л.И.

к.б.н., с.н.с. Бутина Т.В.

к.б.н., с.н.с., вед. специалист Кондратов И.Г.

к.б.н., н.с. Майкова О.О.

с.н.с., ответств. за водолазные погружения Ханаев И.В.

Состав Программного комитета:

Председатель Программного комитета д.б.н., проф, Академик РЭА Дрюккер В.В.

к.б.н., доцент, с.н.с. Белькова Н.Л.

к.б.н., доцент, с.н.с. Деникина Н.Н.

к.б.н., с.н.с. Кулакова Н.В.

Статьи, поступающие в редакцию, рецензируются. Материалы публикуются в авторской редакции. За содержание и достоверность статей ответственность несут авторы. Мнение редакции может не совпадать с мнением авторов статей. При использовании и заимствовании материалов ссылка на издание обязательна. Выходит 12 раз в год. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ЭЛ № ФС 77-62122 от 19.06.2015 г. выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор). Учредитель и издатель: ООО «Консалтинговая компания Юком». Адрес редакции: Россия, 392000, г. Тамбов, а/я 44. Издание основано в 2015 году. Усл. печ. л. 2,50. Официальный сайт: ucom.ru E-mail: conf@ucom.ru

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОГРАММА РАБОЧЕГО СОВЕЩАНИЯ	5
Ereskovsky A.V., Annabelle Voorhoeve, Thierry Pérez Cytological and ultrastructural approaches to study of Baikal sponge diseases	9
Perez Thierry Chemical ecology: approaches to study of marine invertebrate diseases	10
Thomas O. Ecological chemistry in the aquatic environment	11
Voorhoeve A., Ereskovsky A., Pérez T. a Contribution to the study of the mechanisms explaining Baikal sponge diseases.....	12
Беликов С.И. Древнее озеро Байкал.....	13
Белькова Н.Л., Деникина Н.Н., Черногор Л., Беликов С.И. Поиск новых бактерий, ассоциированных с байкальскими губками: лабораторные и природные эксперименты	14
Бутина Т.В., Букин Ю.С., Кабилов М.Р., Тупикин А.Е., Беликов С.И. Генетическое разнообразие вирусов в составе сообщества байкальской губки <i>Lubomirskia baicalensis</i>	16
Гладких А.С., Миронова Л.В., Пономарева А.С., Хунхеева Ж.Ю., Миткеева С.К., Штыкова Ю.Р., Белых О.И., Тихонова И.В. MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ в ускоренной идентификации условно-патогенных бактерий в губках из озера Байкал	18
Гранин Н.Г., Верещагина О.Ф., Козлов В.В., Обжиров А.И., Макаров М.М., Гнатовский Р.Ю., Иванов В.Г., Блинов В.В., Мизандронцев И.Б. Причины и последствия повышения концентрации метана в воде оз. Байкал	20
Дрюккер В.В., Дутова Н.В., Горшкова А.С. Автохтонные бактериофаги озера Байкал – новое трофическое звено	22
Кравцова Л.С., Ханаев И.В., Майкова О.О., Букшук Н.А., Сакирко М.В., Кулакова Н.В., Бутина Т.В., Небесных И.А., Беликов С.И. Современное состояние спонгиофауны озера Байкал и проблема сохранения ее разнообразия	24

Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В., Потапов С.А., Белых О.И. Генетическое разнообразие микробных сообществ эндемичных губок оз. Байкал, отобранных во время массовой гибели	26
Кулакова Н.В., Адельшин Р.В., Ханаев И.В. Метагеномный анализ сообщества бактериальных и эукариотических сообществ в нормальных и больных губках <i>Lubomirskiidae</i>	28
Майкова О., Букшук Н., Ицкович В., Ханаев И., Онищук Н., Беликов С., Щербаков Д. Губки семейства <i>Lubomirskiidae</i> в реке Ангара: морфологический и филогенетический анализ	30
Сакирко М.В., Ханаев И.В., Сезько Н.П., Башенхаева Н.В., Жученко Н.А., Небесных И.А. Химический состав воды литоральной зоны озера Байкал летом 2015 года	32
Феранчук С.И., Бутина Т.В., Беликов С.И. Анализ фрагментов гигантских вирусов водорослей в метагеноме байкальской губки	34
Ханаев И.В. Пространственно-временной аспект распространения различных форм заболевания байкальских губок на мелководьях озера Байкал	36
Черногор Л.И., Ханаев И.В., Деникина Н.Н., Беликов С.И. Скрининг патологических агентов пресноводной байкальской губки <i>Lubomirskia baicalensis</i> : примморфы, как живая модельная система	38

ПРОГРАММА РАБОЧЕГО СОВЕЩАНИЯ

Program of the Workshop

6 сентября 2016 г. Вторник
September 6, 2016. Tuesday

- 9.00. Регистрация участников рабочего совещания
Registration of participants
- 9.20. Приветственное слово. Директор Института А. П. Федотов
Welcoming address by A.P. Fedotov, Director of the Institute
- 9.30. Открытие рабочего совещания. Проф. Сергей Беликов
(ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
*Opening of the Workshop. Prof. Sergei Belikov
(LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)*
- 9.40. Проф. Сергей Беликов (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Древнее озеро Байкал
*Prof. Sergei Belikov (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Ancient Lake Baikal*
- 10.00. Игорь Ханаев (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Пространственно-временной аспект распространения различных форм
заболевания байкальских губок на мелководьях озера Байкал
*Igor Khanaev (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Spatio-temporal aspect of distribution of various forms of sponge disease in
the shallow areas of Lake Baikal*
- 10.20. К.б.н. Любовь Кравцова (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Современное состояние спонгиоза фауны озера Байкал и проблема сохра-
нения ее разнообразия
*Dr. Lyubov Kravtsova (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Recent state of sponge fauna of Lake Baikal and problem of preservation
of its diversity*
- 10.40. К.г.н. Николай Гранин (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Причины и последствия повышения концентрации метана
в воде оз. Байкал
*Dr. Nikolai Granin (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Causes and consequences of increase of methane concentrations
in water of Lake Baikal*
- 11.00. Перерыв
Coffee break

- 11.20. К.х.н. Мария Сакирко (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Химическая композиция литоральной зоны озера Байкал
летом 2015 года
Dr. Maria Sakirko (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Chemical composition of the littoral zone of Lake Baikal
in the summer of 2015
- 11.40. Проф. Валентин Дрюккер (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Автохтонные бактериофаги озера Байкал – новое трофическое звено
Prof. Valentin Drucker (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Autochthonous bacteriophages of Lake Baikal as a new trophic link
- 12.00 К.б.н. Татьяна Бутина (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Генетическое разнообразие вирусов в составе сообщества байкальской губки *Lubomirskia baicalensis*
Dr. Tatiana Butina (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Genetic diversity of viruses as a part of the community of Baikal sponge
Lubomirskia baicalensis
- 12.20. К.ф.-м.н. Сергей Феранчук (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Анализ фрагментов гигантских вирусов водорослей в метагеноме байкальской губки
Dr. Sergei Feranchuk (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Analysis of fragments of giant algal viruses in the baikal sponge metagenome
- 12.40. К.б.н. Наталья Белькова (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Поиск новых бактерий, ассоциированных с байкальскими губками: лабораторные и природные эксперименты
Dr. Natalia Belkova (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
The search of new bacteria associated with Baikal sponges: laboratory and natural experiments
- 13.00. Обед
Lunch
- 14.00. Дискуссии, обсуждение результатов
Discussion
- 15.00. К.б.н. Любовь Черногор (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
Скрининг патологических агентов пресноводной байкальской губки *Lubomirskia baicalensis*: примморфы, как живая модельная система
Dr. Lubov Chernogor (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Screening of pathological agents of freshwater Baikal sponge Lubomirskia baicalensis: primmorfs as a living model system

- 15.20. К.б.н. Нина Кулакова (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
 Метагеномный анализ состава бактериальных и эукариотических организмов в здоровой и больной губках *Lubomirskia baicalensis*
Dr. Nina Kulakova (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Metagenomic analysis of bacterial and eukaryotic organisms in healthy and sick sponge Lubomirskia baicalensis
- 15.40. К.б.н. Ольга Майкова (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)
 Губки семейства *Lubomirskiidae* в реке Ангара: морфологический и филогенетический анализ
Dr. Olga Maikova (LIN SB RAS, Irkutsk, Russia)
Sponges of the Lubomirskiidae family in the Angara River: morphological and phylogenetic analysis
- 16.00. Dr. Thierry Perez (Mediterranean Institute of marine and terrestrial Biodiversity and Ecology (IMBE), 13007 Marseille, France)
 Chemical ecology: approaches to study of marine invertebrate diseases
- 16.20. Prof. Alexander Ereskovsky (Mediterranean Institute of marine and terrestrial Biodiversity and Ecology (IMBE), 13007 Marseille, France)
 Cytological and ultrastructural approaches to study of Baikal sponge diseases
- 16.40. Mr. Annabelle Voorhoeve (Mediterranean Institute of marine and terrestrial Biodiversity and Ecology (IMBE), 13007 Marseille, France)
 A contribution to the study of the mechanisms explaining baikal sponge diseases
- 17.00. Дискуссии, обсуждение результатов
Discussion

7 сентября 2016 г. Среда
September 7, 2016. Wednesday

- 9.00. Сбор участников и отъезд от здания Института на озеро Байкал, Листвянка
A bus tour from Irkutsk to Lake Baikal, Listvyanka
- 18.00. Ужин
 Обсуждение результатов рабочего совещания и программы работ
Dinner
Discussion of the workshop results

8 сентября 2016 г. Четверг
September 8, 2016. Thursday

- 0.00. Проезд до Малого моря
Ship course to Maloe more

Сбор образцов больных и здоровых губок, проведение подводных видеосъемок

Survey and collection of healthy and sick sponges for analysis, underwater shooting

8-9 сентября 2016 г.

September 8-11, 2016.

Сбор образцов больных и здоровых губок, проведение подводных видеосъемок

Survey and collection of healthy and sick sponges for analysis, underwater shooting

11 сентября 2016 г. Воскресенье

September 11.09.2016. Sunday

Возвращение в Иркутск.

Departure from Lake Baikal to Irkutsk.

Ereskovsky A.V., Annabelle Voorhoeve, Thierry Pérez
Cytological and ultrastructural approaches
to study of Baikal sponge diseases

*Mediterranean Institute of marine and terrestrial
Biodiversity and Ecology (IMBE),
13007 Marseille, France*

Keywords: ultrastructure, electron microscopy, cells, zoochlorellae, bacteria

This work has a financial support by the grants of PRC CNRS/RFBR 2016-2018.

Disease has taken numerous sponge populations to the brink of extinction, and sponge disease outbreaks have been reported in a wide range of geographic locations of the world. However, up to now no disease outbreaks have been reported in freshwater sponge populations. This project aims for the first time at an integrative study of the disease of endemic fresh-water sponges from the Lake Baikal. The selected species for this purpose are emblematic common sponge *Lubomirskia baicalensis* (Pallas, 1773). In this context, the objective of present report is to conduct ultrastructural and microscopically investigations of sponge necrosis, consisting of ultrastructural and light microscopy description of different healthy and damaged sponges.

Under electron microscopy, affected specimens showed striking differences in the organization of their ectosome and choanosome compared with healthy sponges. In general, there are distinct features of degradation accompanied by (1) the detachment of the exopinacocytes one from the other, which cover the sponge surface, (2) disintegration into separate endopinacocytes aquiferous system canals, and (3) further disintegration of choanocyte chambers. For diseased sponges also characteristic the degradation and/or ejection of intracellular symbiotic zooxanthellae algae from archaeocytes. Necrosis processes also accompanied with penetration of numerous microorganisms, including bacteria, cyanobacteria and dinoflagellates in sponge mesohyl and, at the last stages, in the skeletal spongin. Obtained result will contribute important information for an integrative study of the disease of unique endemic Baikal sponges.

Perez Thierry
Chemical ecology: approaches to study
of marine invertebrate diseases

*Mediterranean Institute of marine and terrestrial
Biodiversity and Ecology (IMBE),
Marseille, France*

It is conceivable that sponges may be highly sensitive to pollution, considering their natural filter feeding activities. Actually, the most productive sponge beds are generally located in areas that are not subjected to heavy pollution. But in such pristine places, sponges have been shown highly sensitive to other sources of disturbances such as climate extreme events. In the context of Global Change, epizootic events might thus cause serious long-term effects on sponge populations, especially in long-lived, slow-growing species. Moreover since the 1980s, episodes mass mortality are more frequent and more severe, these events being often linked to thermal anomalies and global warming. The first signs of sponge disease are often associated with a change in color or bleaching (similar to ‘coral bleaching’ in tropical coral reefs), the development of a bacterial white veil on the epidermis, followed by a rather rapid decomposition of the skeleton, or proliferation of opportunistic / saprophytic epibiotic organisms. Several studies showed that some diseases resulted in a bacterial attack of the sponge body or the skeleton; some authors argued that the virulence of this pathogen could have been triggered by high seawater temperatures, or favored by a decrease in the chemical defense abilities. Chemical ecology, helped by the development of metabolomics which allowed accurate analyses of a high number of specimens, can thus help to better understand the mechanisms which are behind such catastrophic events.

Thomas O.
**Ecological chemistry in the aquatic
environment**

*School of Chemistry NUI Galway, University Road,
Galway, Ireland*

Natural product chemistry has mostly been developed with the aim to find new bioactive molecules for applications in diverse fields and mostly the pharmaceutical one. In recent years, the development of studies on aquatic organisms has been driven by the same aspects. Despite their key role in the aquatic environment, the use of these true specialized metabolites has been underestimated for ecological purposes. We will present herein some results we obtained in the taxonomy and ecology of two specific groups of sponges Haplosclerida and Poecilosclerida.

**Voorhoeve A., Ereskovsky A., Pérez T.
a Contribution to the study of the mechanisms
explaining Baikal sponge diseases**

*Mediterranean Institute of marine and terrestrial
Biodiversity and Ecology (IMBE),
Marseille, France*

Sponges are regularly suffering disease outbreaks related to global change, *e.g.* changes in uses, pollution regime or climate events. The registration as a UNESCO World heritage of Lake Baikal is of unquestionable value for the economic development of the region but it also adds to the growing anthropogenic pressure affecting the water quality and ecosystem health of Lake Baikal. In this framework, Baikal sponges have recently started to experience a disease which turn into a mass mortality in several places around the lake. The observations of various symptoms allowed to sample pre-identified diseased individuals and healthy individuals of *Lubomirskia baicalensis* and of *Baicalospongia* spp. We first conducted thorough histological and cytological investigations in order to assess damages on tissues and cells organization and/or ultrastructure, and to identify putative pathogenic agents. Then, we applied a metabolomics approach combined to an ecotoxicological assay to detect possible changes in sponge metabolism, shifts in the sponge chemical diversity, affecting for instance chemical defence properties.

Беликов С.И.
Древнее озеро Байкал

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

Ключевые слова: древние озера, губки, эволюция, болезнь

Рассмотрены древние озера мира в сравнении с Озером Байкал и приведены гипотезы о происхождении Озера. Дан краткий анализ особенностей эволюции байкальских эндемичных губок. Приведены данные о резком изменении экологической обстановки в прибрежной зоне озера и гибели губок. Рассмотрены различные гипотезы о причинах гибели губок и проведено сравнение заболеваемости губок в пресноводных и морских экосистемах. Предложены для обсуждения направления дальнейших исследований по выявлению причин заболеваемости губок.

Belikov S.I.
Ancient lake Baikal

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences
(LIN SB RAS), Irkutsk*

Keywords: ancient lake, sponges, evolution, disease

Lake Baikal was compared with ancient lakes of the world. A hypothesis on its origin was put forward. We briefly analyzed specific features of the evolution of Baikal endemic sponges and described abrupt changes of the ecological situation observed in the littoral area of the lake, as well as mortality of sponges. Different causes of their mortality were hypothesized. We also compared sponge diseases in freshwater and marine ecosystems. We proposed to perform further investigations for elucidation of sponge disease causes.

**Белькова Н.Л.,
Деникина Н.Н., Черногор Л., Беликов С.И.
Поиск новых бактерий, ассоциированных
с байкальскими губками: лабораторные
и природные эксперименты**

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

*Ключевые слова: губки, примморфы, высокопроизводительное секвенирование,
редкие бактериальные группы, накопительные культуры*

Симбиотические взаимоотношения макро- и микроорганизмов широко распространены в природе и играют существенную роль в поддержании здорового иммунитета животных. Байкальские эндемичные губки являются наглядным примером сбалансированного, устойчивого и взаимовыгодного сообщества. Это сообщество представляет собой особую экологическую нишу в озере Байкал, где могут активно функционировать микроорганизмы, не способные выжить в олиготрофных условиях водной толщи. Целью настоящего исследования стал поиск новых бактерий-ассоциантов с байкальскими губками на основании метагеномных данных. Разнообразие филотипов оценивали на основании пиросеквенирования ампликонов 16S рДНК на платформе 454 Genome Sequencer GS Junior System (Roche). Биоинформационную обработку данных проводили с использованием сервиса RDP Pipeline(<https://pyro.cme.msu.edu>). В настоящее время в прибрежной зоне озера наблюдается массовая гибель эндемичных губок. Анализ микробиомов позволил выявить снижение общего видового разнообразия прокариот у больных особей. Среди доминирующих выявлены трудно культивируемые представители филы Verrucomicrobia и идентифицируемые только на уровне крупных таксонов Chitinophagaceae и Planctomycetaceae. В качестве минорных филотипов определены бактерии, имеющие различные метаболические пути утилизации органического вещества. Лабораторные эксперименты по культивированию примморф на олиготрофной питательной среде с добавлением метанола позволили выявить широкий спектр филотипов, относящихся к так называемой «rare biosphere»: Candidatus Parcubacteria, Candidatus Omnitrphica, candidate division SR1, Candidatus Gracilibacteria, Synergistetes, Candidatus Dependientiae. Среди полученных филотипов наибольший интерес представляют Candidatus Gracilibacteria, доля которых в суммарном микробиоме увеличивается с 1,8 до 12,6% при увеличении концентрации метанола в среде от 0 до 0,05%. Детекция представителей «rare biosphere» в микробиомах экспериментальных примморф с одной стороны, позволяет предположить наличие этих бактерий в составе природных сообществ байкальских губок, а с другой стороны, рассматривать примморфы как удобные модельные объекты для получения их накопительных культур.

Belkova N., Denikina N., Chernogor L., Belikov S.
the Search of new bacteria associated with baikal sponges:
laboratory and natural experiments

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences
(LIN SB RAS), Irkutsk*

Keywords: sponge, primmorphs, next generation sequencing, rare bacterial groups, enriched culture

Symbioses between macro- and microorganisms are widespread in nature and play major role in the health immunity of the hosts. The baikalian endemic sponges are a good example of balanced, sustainable and mutually beneficial community. This community is a special ecological niche in Lake Baikal, where microorganisms can actively operate whose are not able to survive in oligotrophic conditions of the water column. The purpose of this study was the search for new bacteria, associated with the Baikal sponges, on the basis of metagenomic data. A variety of the phylotypes was estimated according to the pyrosequencing of 16S rDNA amplicons on the platform 454 Genome Sequencer GS Junior System (Roche). Bioinformatic processing of the data was performed using the RDP Pipeline (<https://pyro.cme.msu.edu>). Currently, a massive loss of endemic sponges has been observed in the coastal zone of the lake. Analysis of microbiomes revealed a decrease in the overall species diversity of prokaryotes, associated with diseased specimens. Representatives of phylum Verrucomicrobia, which are difficult to culture as well as Chitinophagaceae and Planctomycetaceae identified only at the level of major taxa were dominant. As a minor phylotypes bacteria revealing different metabolic ways of recycling organic matter were identified. Laboratory experiments on the primmorph cultivation on oligotrophic nutrient medium supplemented with the methanol allowed to identify a wide range of phylotypes related to the so-called "rare biosphere": Candidatus Parcubacteria, Candidatus Omnitrophica, candidate division SR1, Candidatus Gracilibacteria, Synergistetes, Candidatus Dependientiae. Among the phylotypes obtained the greatest interest represented the Candidatus Gracilibacteria, whose share in the total microbiome increased from 1.8 to 12.6% when the concentration of methanol in the environment from 0 to 0.05%. Detection of the representatives of the "rare biosphere" in the microbiomes of the experimental prymmorphs on the one hand, suggests the presence of these bacteria in the composition of the natural communities of the baikalian sponges, and on the other hand, consider prymmorphs as convenient model objects for the enrichment cultures cultivation.

**Бутина Т.В., Букин Ю.С.,
Кабилов М.Р., Тупикин А.Е., Беликов С.И.**
**Генетическое разнообразие вирусов в составе
сообщества байкальской губки**
Lubomirskia baicalensis

^{1,2,5} Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН), г. Иркутск
^{3,4} Центр коллективного пользования "Геномика" СО РАН,
Институт химической биологии и фундаментальной
медицины СО РАН, г. Новосибирск

*Ключевые слова: вирусы, вирусное сообщество, генетическое разнообразие,
метагеномный анализ, озеро Байкал*

*Работа выполнена в рамках государственного задания
№ 0345-2014-0002, а также при финансовой поддержке проектов
РФФИ № 14-44-04148 и № 16-54-150007.*

В состав ассоциированного сообщества губок входят различные микроорганизмы, в том числе вирусы, чья численность и разнообразие могут быть весьма значительными, учитывая большое количество потенциальных хозяев в составе губок. Однако биоразнообразие и роль вирусов в губках практически не изучены. Актуальность данных исследований тесно связана с повсеместной проблемой заболеваний губок, этиология которых остается неизвестной.

Цель настоящей работы – исследование генетического разнообразия вирусных сообществ в составе сообщества эндемичной байкальской губки *Lubomirskia baicalensis* на основе анализа отдельных вирусных генов, а также метагеномного анализа суммарного генетического вирусного материала (вирома). Для генетической идентификации вирусов применялись известные наборы праймеров, позволяющие идентифицировать широкий спектр вирусов известной классификации, в результате чего нами проанализированы гены бактериофагов и цианофагов семейства *Myoviridae*. С помощью метагеномного анализа в составе сообщества байкальской губки выявлены представители 43 вирусных семейств. В целом, показано сходство и отличие в составе вириопланктона озера и вирома губки, а также в составе вирусных сообществ в визуально здоровых и пораженных ветвях *L. baicalensis*. Таким образом, в результате проведенных работ получены новые данные о разнообразии и роли вирусов в составе пресноводных губок.

Butina T.V., Bukin Y.S., Kabilov M.R., Tupikin A.E., Belikov S.I.
Genetic diversity of viruses as a part of the community
of Baikal sponge *Lubomirskia baicalensis*

^{1,2,5} *Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences (LIN SB RAS), Irkutsk*

^{3,4} *Genomics Core Facility, Institute of Chemical Biology and
Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk*

*Key words: viruses, viral community, genetic diversity, metagenomic analysis,
Baikal sponges*

*This research was performed as a part of the state program
№ 0345-2014-0002 with financial support of Russian Foundation
for Basic Research, projects № 14-44-04158 and № 16-54-150007*

A sponge community includes a variety of microorganisms including viruses. The abundance and diversity of viruses in the community may be significant because of the great number of potential hosts for viruses in sponges. Nevertheless, the biodiversity and significance of viruses inhabiting sponges are still to be studied. The urgency of such researches is closely linked to the widespread problem of sponge diseases, those etiologies is still unknown.

The goal of this study is estimation of genetic diversity of viral communities as part of the associated community of the endemic Baikal sponge *Lubomirskia baicalensis* on the base of certain genes and metagenomic analysis of the total viral genetic material (virome). For genetic identification, we used primer sets that allow identifying the broad range of viruses of known taxonomy. As a result, the genes of bacteriophages and cyanophages of the family Myoviridae were analyzed in Baikal sponge. The metagenomic analysis discovered 43 viral families included in community of sponge. In general, the similarity and difference in composition of lacustrine virioplankton and sponge virome as well as in viral communities of visually healthy and diseased branches of *L. baicalensis* were revealed. Thus, as a result of our study a new data of viral diversity and their role in associated community of freshwater sponges were obtained.

**Гладких А.С., Миронова Л.В.,
Пономарева А.С., Хунхеева Ж.Ю., Миткеева С.К.,
Штыкова Ю.Р., Белых О.И., Тихонова И.В.
MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ
в ускоренной идентификации условно-патогенных
бактерий в губках из озера Байкал**

*^{1,2,3,4,5} Иркутский научно-исследовательский противочумный
институт Сибири и Дальнего Востока,
г. Иркутск*

*^{6,7,8} Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

Ключевые слова: бактерии, губки, патогенная микрофлора, масс-спектрометрия

Целью работы являлась идентификация микроорганизмов, выделенных из губок, отобранных в июне 2016 года в районе поселка Листвянка, на основании белковых профилей с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа. Культивирование проводилось на различных питательных средах (1 % пептонная вода, щелочной агар, агар Хоттингера, мясо-пептонный агар) при 37 °С. Для идентификации на основании белковых профилей было выбрано 47 изолированных морфологически различных колоний. С высокой степенью достоверности определены до вида 13 % культур – *Acinetobacter junii*, *Enterobacter ludwigii*, *Escherichia coli* (score value 2,3 и более), с вероятной идентификацией вида, но достоверной идентификацией до рода 40 % культур – *Acinetobacter junii*, *Aeromonas bestiarum*, *Bacillus cereus*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Lysinibacillus sphaericus*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter kobei* (score value 2,0-2,3), 32 % культур предположительно соответствовали родам – *Acinetobacter*, *Lysinibacillus*, *Exiguobacterium*, *Comamonas*, *Aeromonas* (score value 1,7-1,9), 15 % исследованных культур бактерий не были идентифицированы по профилю референсных белков. Большинство полученных культур – потенциальные продуценты энтеротоксинов и гемолизинов, при этом по литературным данным – патогены человека и рыб. Ранее было показано, что бактерии рода, в частности *Aeromonas hydrophyla*, предположительно обнаруженные в составе байкальских губок (культура вероятно определена до рода), вызывают болезнь кораллов, причиной чего может служить выделение гемолитических токсинов – гемолизина и аэролизина.

**Gladkikh A.S., Mironova L.V., Ponomareva A.S., Mitkeeva S.K.,
Khunkheeva Zh.Yu., Shtykova Yu.R., Belykh O.I., Tikhonova I.V.
MALDI-TOF mass spectrometry analysis in accelerated
identification of opportunistic bacteria in Baikal sponge**

^{1,2,3,4,5} *Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and
Far East of Rosпотребнадзор,*

Irkutsk

^{6,7,8} *Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian
Academy of Sciences (LIN SB RAS),*

Irkutsk

Keywords: bacteria, sponges, pathogen flora, MALDI-TOF mass-spectrometry

The aim of this study was to identify microorganisms isolated from the sponges collected in June of 2016 near the settlement of Listvyanka using MALDI-TOF mass spectrometry analysis. Microorganisms were cultivated on different nutrient media (1% peptone water, alkaline agar, Hottinger's agar, and meat-and-peptone agar) at 37°C. We selected 47 isolated morphologically different colonies and identified 13% cultures to the species level with high certainty – *Acinetobacter junii*, *Enterobacter ludwigii*, and *Escherichia coli* (score value 2.3 and higher); 40% cultures with probable identification of species but with certain identification to the genus level – *Acinetobacter junii*, *Aeromonas bestiarum*, *Bacillus cereus*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Lysinibacillus sphaericus*, *Enterobacter amnigenus*, and *Enterobacter kobei* (score value 2.0-2.3); and 32% cultures supposedly corresponded to the genera *Acinetobacter*, *Lysinibacillus*, *Exiguobacterium*, *Comamonas*, and *Aeromonas* (score value 1.7-1.9); 15% analyzed bacterial cultures, were not identified from the reference protein profile. The majority of cultures obtained were potential producers of enterotoxins and hemolysins. According to the literature data, they are human and fish pathogens. Earlier studies showed that bacteria of the genus *Aeromonas*, in particular *Aeromonas hydrophyla*, presumably detected in the Baikal sponges (the culture was likely identified to the genus level) causes coral disease because of hemolytic toxin emissions – hemolysine and aerolysine.

**Гранин Н.Г., Верещагина О.Ф., Козлов В.В.,
Обжиров А.И., Макаров М.М., Гнатовский Р.Ю.,
Иванов В.Г., Блинов В.В., Мизандронцев И.Б.**
**Причины и последствия повышения
концентрации метана в воде оз. Байкал**

^{1,5,6,7,8,9} Федеральное Государственное бюджетное учреждение
науки Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),

г. Иркутск

^{2,4} Тихоокеанский океанологический институт ДВО РАН,

г. Владивосток

³ Институт динамики систем и теории управления СО РАН,

г. Иркутск

Ключевые слова: Метан, газовые гидраты, нижняя граница устойчивости,
уровень озера

Согласно данным 2003 г, средневзвешенные концентрации растворенного метана для Южного, Среднего и Северного Байкала составляли 30, 30 и 50 нл СН₄ л⁻¹. Общий запас метана в озере 820 т. Для поддержания квазистационарного вертикального распределения метана в водах озера требовалось ежегодное поступление 80 т СН₄ (Гранин и др., 2013). Измерения 2013 -2016 годов свидетельствуют о значительном увеличении средневзвешенных концентраций до 120, 170 и 160 нл л⁻¹ в южной, средней и северной котловинах озера и запаса метана в озере до 2550 т.

Причиной изменений (понижения/повышения) концентрации метана может быть повышение уровня озера обусловленное строительством Иркутской ГЭС. После повышения уровня озера нижняя граница устойчивости газовых гидратов заглубилась, что вызвало образование газовых гидратов, понижение внутрипластового давления и интенсивности выходов метана. В настоящее время происходит возрастание интенсивности выходов метана, которое сопровождается увеличением концентрации метана в водной толще. Аналогичное явление может наблюдаться в Каспийском море.

Выходы метана обусловленные разложением газовых гидратов могут играть значительную роль в изменении климата и вносить вклад, в реструктуризацию экосистем включая видообразование (Kemp et al., 2005). Результаты молекулярно-биологических исследований показывают, что во время близкое к времени катастрофического падения уровня (39-109 тысяч лет назад), появился новый вид – малая голомянка (Teterina et al., 2010). Возможно это было последствием значительных выбросов метана из донных отложений обусловленных понижением уровня озера.

**Granin N.G., Vereschagina O.F., Kozlov V.V.,
Obzhirov A.I., Makarov M.M., Gnatovsky R.Yu.,
Ivanov V.G., Blinov V.V., Mizandrobtcev I.B.
Causes and consequences of increase of methane
concentrations in water of lake Baikal**

^{1,5,6,7,8,9} *Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian
Academy of Sciences (LIN SB RAS), Irkutsk*

^{2,4} *I.I.I'ichev Pacific Oceanological Institute FEB RAS,
Vladivostok*

³ *Matrosov Institute for System Dynamics and
Control Theory of SB RAS, Irkutsk*

*Keywords: methane gas hydrates, the lower boundary of stability, the lake level,
methane*

According to the data of 2003, the weighted average concentration of dissolved methane for the Southern, Middle and Northern Baikal were 31, 31 and 50 nl l⁻¹ of CH₄. The total stock of methane in the lake 820 m. In order to maintain a quasi-stationary vertical distribution of methane in the waters of the lake required an annual delivery of 80 tons of CH₄ (Granin et al., 2013). Measuring 2013 -2016 years show a significant increase in the average concentrations of up to 122, 174 and 160 nL L⁻¹ in southern, central and northern basins and lakes of methane reserves in the lake up to 2550 m.

The reason for the changes in methane concentration may be due to the increase in lake level construction of the Irkutsk hydroelectric station. After raising the lake level lower boundary of stability of gas hydrates became deeper, which caused the formation of gas hydrates, reduction of the pressure and intensity of the methane output. Currently, there is an increase in the intensity the methane output, which is accompanied by an increase in methane concentration in the water column. A similar phenomenon can be observed in the Caspian Sea.

The methane escape caused by the gas hydrates decomposition may significantly affect the climate and contribute to a serious restructuring of the ecosystems, including speciation (Kemp et al., 2005). The results of molecular-biological studies indicate that at a time close to the catastrophic drop of the lake level (39-109 thousand years ago), a new fish species — small golomyanka — has been created in Baikal (Teterina et al., 2010). Perhaps it was due to significant the methane release from bottom sediments caused by the lake level lowering during this period.

Дрюккер В.В., Дутова Н.В., Горшкова А.С.
Автохтонные бактериофаги озера Байкал –
новое трофическое звено

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

Ключевые слова: автохтонные бактериофаги, морфологическое разнообразие, размерный спектр, вода, нейстон, биопленки, озеро Байкал

Начиная с 2002 года, методом трансмиссионной электронной микроскопии мы обнаружили в озере Байкал большое таксономическое разнообразие автохтонных бактериофагов в различных биотопах. Наибольшее количество фагов в водной толще (вириопланктон) – 76% относится к отряду Caudovirales (хвостовые фаги), объединяющему три семейства: Siphoviridae – 40-59%, Podoviridae – 11-32%, Myoviridae – 6-25%. Также были найдены фаги семейств Microviridae, Leviviridae, Inoviridae. В отличие от воды, в нейстоне основную часть составляют бесхвостые бактериофаги – 65%, предположительно относящиеся к семействам Microviridae, Leviviridae, Tectiviridae. Фаги с укороченными конусовидными хвостовыми отростками семейства Podoviridae составляют около 25%. Представители семейств Siphoviridae и Myoviridae, отличающиеся своей морфологией и наличием хвостового отростка и обладающие специализированными терминальными структурами, были немногочисленны – около 10%. В размерной структуре бактериофагов нейстонной пленки на границе фаз вода-воздух преобладали мелкие формы с диаметром капсида 30-60 нм – 44%. Фаги размером более 80 нм и класс частиц $\geq 60-80$ нм составляли 23% и 28% соответственно. Частота встречаемости фагов размером ≤ 30 нм оказалась незначительной – 5%. Численность бактериофагов в нейстоне на границе фаз вода-воздух в оз. Байкал варьировала от 0.05 млн. частиц/мл до 0.16 млн. частиц/мл и в среднем составляла 0.08 ± 0.04 млн. частиц/мл. Изучен морфологический состав и размерная структура фагов, входящих в микробиоценозы биопленок, формирующихся в Байкале на границе фаз вода-геологические породы: мрамор, гранит, слюда, кварц, габбро, уртит. В отличие от воды и нейстона, в биопленках доминируют фаги семейства Podoviridae – 40-50%. Эти фаги с диаметром капсида 42-55 нм и длиной хвостового отростка 8-22 нм. На втором месте по встречаемости – 35-45%, это мелкие фаговые частицы без отростков, размером 30-52 нм гексагональной формы на плоскости, предположительно относящиеся к семейству Microviridae.

Drucker V.V., Dutova N.V., Gorshkova A.S.
Autochthonous bacteriophages of lake
Baikal as a new trophic link

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS),
Irkutsk*

Key words: autochthonous bacteriophages, morphological abundance, size spectrum, water, neuston, biofilms, Lake Baikal

Since 2002, using method of transmission electronic microscopy, we found out in Lake Baikal a large taxonomic diversity of autochthonous bacteriophages in different biotopes. The major part of studied phages (virioplankton) in the water column (namely 76%) are related to the order Caudovirales (tail phages) uniting three families: Siphoviridae - 40-59%, Podoviridae – 11-32%, Myoviridae – 6-25%. We found as well in the virioplankton phages of the families Microviridae, Leviviridae, Inoviridae. Unlike the water, the majority of neuston consisted of tailless bacteriophages (65%) presumably belonging to the families Microviridae, Leviviridae, and Tectiviridae. Phages with short cone-shaped tails of the family Podoviridae amounted to approximately 25%. Members of the families Siphoviridae and Myoviridae (about 10%) differed in morphology and the presence of tail. The size spectrum of bacteriophages in the neuston film was dominated by fine forms with a capsid diameter of 30-60 nm (44%) at the water-air interphase. Phages with over 80 nm and a class of $\geq 60-80$ nm accounted for 23 and 28%, respectively. Phages with the size of ≤ 30 nm were not numerous (5%). The abundance of bacteriophages in the Baikal neuston varied between 0.05 and 0.16 mln virions per ml, averaging 0.08 ± 0.04 mln virions per ml. Morphological composition and size structure of phages were also studied in biofilm microcenoses at the water-geological rock interface: marble, granite, mica, quartz, gabbro, and urtite. Unlike water and neuston, biofilms were dominated by phages of the family Podoviridae (40-50%) with a capsid diameter of 42-55 nm and tail length of 8-22 nm. Phages without tails (30-52 nm) belonged presumably to the family Microviridae (35-45%).

**Кравцова Л.С., Ханаев И.В., Майкова О.О.,
Букшук Н.А., Сакирко М.В., Кулакова Н.В.,
Бутина Т.В., Небесных И.А., Беликов С.И.
Современное состояние спонгиофауны озера
Байкал и проблема сохранения ее разнообразия**

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

*Ключевые слова: губки, проективное покрытие, фаунистическое разнообразие,
Байкал*

Исследован видовой состав и пространственное распределение байкальских губок сем. *Lubomirskiidae* в мае-июне 2015 г. на 11 трансектах, протяженностью 100-150 м по дну Байкала на глубинах от 0 до 40 м. В разных районах прибрежной зоны озера выявлено 29 таксонов. RDA анализ показал, что на пространственное распределение разных таксонов влияют разные факторы: распределение одних связано с глубиной и с составом донных отложений, а других - с расстоянием от берега. Исследованные губки по форме тела делятся на корковые, глобульные и ветвистые, причем первые составляют наибольший процент (66%) от всех собранных образцов (512). На долю глобульных и ветвистых форм приходится по 21% и 13% соответственно. Оценено проективное покрытие 1м² дна Байкала губками разных форм – одного из критериев состояния спонгиофауны в связи с ее заболеванием. Пораженные губки, имеющие деформированную поверхность тела в результате некроза, либо обесцвеченные или покрытые фиолетовым цианобактериальным налетом, отмечены во всех исследованных районах. Встречаемость их на 68 обследованных станциях составила 54,4%. Судя по стоп-кадрам видео-профилей дна Байкала (2010 г. и 2014 г.) количество пораженных губок составляло от 2,4 до 19,1%. Доля пораженных губок среди ветвистых форм была выше (от 8,5% до 63,3%), чем среди корковых (от 0,5% до 17,9%). Поскольку этиология заболевания байкальских губок на сегодняшний день неизвестна и непонятна, то проблема сохранения их разнообразия с каждым годом становится все более и более актуальной.

**Kravtsova L.S., Khanaev I.V., Maykova O.O., Bukshuk N.A.,
Sakirko M.V., Kulakova N.V., Butina T.V., Nebesnykh I.A., Belikov S.I.
Recent state of sponge fauna of lake Baikal and problem
of preservation of its diversity**

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS),
Irkutsk*

Key words: sponges, projective covering, diversity, Lake Baikal

The specific structure and spatial distribution of the Baikal sponges *Lubomirskiidae* was investigated in May-June, 2015 on 11 transects, 100-150 m long on a bottom of Baikal at depths from 0 to 40 m. In different regions of the lake 29 taxa are revealed. RDA analysis has shown that spatial distribution of different taxa is influenced by different factors: distribution of one is connected with depth and composition of ground deposits, and the other - with distance from the coast. The sponges in a shape of a body are divided into cortical, globulny and branchy, and the first amount the greatest percent (66%) of all collected samples (512). The part of the globulny and branchy forms was 21% and 13% respectively. Projective covering 1 m² of a bottom of Baikal by sponges of different forms – one of criteria of a condition of a spongiofauna in connection with her disease was estimated. The struck sponges having the deformed body surface as a result of a necrosis, or decoloured or covered with a violet cyanobacterial plaque are noted in all studied areas. Occurrence them at 68 surveyed stations was 54,4%. Judging by freeze frames of video-profiles of a bottom of Baikal (2010 and 2014) the quantity of the struck sponges was from 2.4 to 19.1%. The part of the struck sponges among branchy forms was higher (from 8.5% to 63.3%), than among cortical (from 0.5% to 17.9%). As the etiology of a disease of the Baikal sponges is unknown and unclear today, the problem of conservation of their diversity becomes more and more actual every year.

**Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В.,
Потапов С.А., Белых О.И.
Генетическое разнообразие микробных
сообществ эндемичных губок оз. Байкал,
отобранных во время массовой гибели**

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

*Ключевые слова: сообщества, губки, 16S рРНК, оз. Байкал, L. baicalensis,
B. intermedia*

Проведен анализ генетического и таксономического состава микробиома губок *Lubomirskia baicalensis* и *Baikalospongia intermedia* с помощью NGS фрагмента гена 16S рРНК. Губки, покрытые цианобактериальными биопленками, были отобраны в районе пос. Большие Коты в марте 2015 г. В микробиоме губок определены последовательности 25 бактериальных фил, а также фрагменты гена 16S рРНК хлоропластов водорослей. В микробном сообществе губок как *L. baicalensis*, так и *B. intermedia* доминировали четыре филы: *Cyanobacteria* (57% и 72%, соответственно), *Proteobacteria* (22% и 13%), *Actinobacteria* (7% и 4%) и *Verrucomicrobia* (5% и 7%). У *L. baicalensis* преобладал филотип цианобактерий, на 93% сходный с видом *Coleofasciculus chthonoplastes* (порядок *Oscillatoriales*). У губки *B. intermedia* наиболее многочисленными были хлоропластные фило типы диатомовых и зелёных водорослей. В бактериальном сообществе обоих видов губок в большом количестве обнаружены нитчатые цианобактерии родов: *Tolypothrix*, *Pseudanabaena*, *Tychonema*, *Phormidium*, *Leptolyngbya*. Среди доминирующих бактериальных фило типов определены последовательности, принадлежащие психрофильным, метанооксиляющим, сульфат- и нитрат-редуцирующим, нитрит- и аммоний-оксиляющим бактериям, а также микроорганизмам, устойчивым к воздействию тяжелых металлов и способным разлагать синтетические полимеры. Очевидно, что нитчатые цианобактерии играют значительную роль в микробном сообществе больных байкальских губок. Возможно, этиологическим агентом, вызывающим болезни губок в оз. Байкал, является консорциум микроорганизмов, в состав которого входят нитчатые цианобактерии, способные продуцировать токсичные для губок вещества, как это описано в случае болезни кораллов (BBD).

Krasnopeev A.Y., Tikhonova I.V., Potapov S.A., Belykh O.I.
Genetic diversity of microbial communities of endemic
sponges in lake Baikal collected during their mass mortality

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS),
Irkutsk*

Key words: communities, sponges, 16S rRNA, Lake Baikal, L. baicalensis, B. intermedia

Genetic and taxonomic composition of the microbiome of sponges *Lubomirskia baicalensis* and *Baikalospongia intermedia* was analyzed using high-throughput sequencing of 16S rRNA gene fragment. Sponges covered with cyanobacterial mats were sampled in March of 2015 near the settlement of Bolshie Koty. We recorded 25 bacteria phyla and 16S rRNA gene fragment chloroplasts of diatoms and green algae in the sponge microbiome. Both *L. baicalensis* and *B. intermedia* were dominated by four phyla: *Cyanobacteria* (57% and 72%, respectively), *Proteobacteria* (22% and 13%), *Actinobacteria* (7% and 4%), and *Verrucomicrobia* (5% and 7%). A cyanobacterial phylotype, which is 93% similar to *Coleofasciculus chthonoplastes* (order *Oscillatoriales*), prevailed in *L. baicalensis*. Chloroplast phylotypes of diatoms and green algae were most abundant in *B. intermedia*. A large number of filamentous cyanobacteria were recorded in the microbial community of both sponges: *Tolypothrix*, *Pseudanabaena*, *Tychonema*, *Phormidium*, and *Leptolyngbya*. We also detected psychrophilic, methane-, sulfate-, nitrate-reducing, nitrite and ammonia oxidizing bacteria and microorganisms, which are resistant to heavy metals and able to degrade synthetic polymers. The analysis showed that filamentous cyanobacteria play a significant role in the microbial community of the diseased Baikal sponges. A consortium of microorganisms, including filamentous cyanobacteria able to produce substances toxic for sponges, is likely an etiologic agent that causes sponge diseases in Lake Baikal. This is similar to the case of the coral disease (BBD).

Кулакова Н.В., Адельшин Р.В., Ханаев И.В.
Метагеномный анализ сообщества бактериальных
и эукариотических сообществ в нормальных и
больных губках *Lubomirskiidae*

^{1,3} Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск

² Иркутский научно-исследовательский противочумный
институт Сибири и Дальнего Востока, г. Иркутск

Ключевые слова: 16S метагеном, 18S метагеном, больные губки, *Lubomirskiidae*,
озеро Байкал

Новое заболевание пресноводных губок в озере Байкал вызвало существенное уменьшение численности губок. Первые признаки заболевания были обнаружены в 2011 году в туристическом регионе на юге Байкала и в настоящее время распространились по всему озеру. Пиросеквенирование генов 16S и 18S рРНК использовано для оценки различий в бактериальном и эукариотическом сообществах в нормальных и больных губках из двух эндемичных видов *Lubomirskia bai-calensis* и *Baikalospongia bacillifera*. Гидрохимический анализ воды был проведен для оценки основных физико-химических параметров и концентрации биогенных элементов. Существенный сдвиг в количестве ридов обнаружен в 21 бактериальном таксоне, при этом увеличилась представленность Cytophagaceae, Chitinophagaceae, Sphingobacteriaceae, Cyanobacteria из Subsection III, Rhodobacteriaceae, Comamonadaceae, Oxalobacteraceae, Xanthomonadaceae and Verrucomicrobia, строго ассоциированных с заболеванием. Дополнительная колонизация представителями Ciliophora, Dinophyceae, Fungi, Arthropoda, Brachiopoda, Nematoda и Platyhelminthes наблюдалась во всех больных губках. В результате анализа бактериальных и эукариотических сообществ губок не был выявлен единственный специфичный патоген. Гидрохимический анализ воды показал локальное увеличение биогенных элементов в придонном слое воды рядом с активно развивающимися туристическими центрами. Несколько стрессовых факторов предположены в качестве причины заболеваний, сопровождающихся активным развитием потенциальных бактериальных патогенов и колонизацией эукариот.

Kulakova N.V., Adelshin R.V., Khanaev I.V.
Metagenome analysis of bacterial and eukaryotic organism
composition in healthy and diseased Lubomirskiidae sponges

^{1,3} *Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS),
Irkutsk*

² *Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia
and Far East of Rospotrebnadzor, Irkutsk*

*Keywords: 16S metagenome, 18S metagenome, diseased sponges, Lubomirskiidae,
Lake Baikal*

New appeared disease of freshwater sponges in Lake Baikal caused dramatic decrease in sponge fauna abundance. First signs of disease have been detected in 2011 near the urban region in the South of Baikal and now spread around Lake. Pyrosequencing of 16S and 18S rRNA genes was used to assay difference in composition of bacterial and eukaryotic assemblages in normal and diseased sponges from two endemic species *Lubomirskia baicalensis* and *Baikalospongia bacillifera*. The hydrochemical analysis provided data on main water parameters and load of biogenic elements. The significant shift in read abundance of operational taxonomic units (OTUs) was detected across 21 bacterial taxa with significantly increased Cytophagaceae, Chitinophagaceae, Sphingobacteriaceae, Cyanobacteria from Subsection III, Rhodobacteriaceae, Comamonadaceae, Oxalobacteraceae, Xanthomonadaceae and Verrucomicrobia which strongly associated with the disease. Additional colonization with Ciliophora, Dinophyceae, Fungi, Arthropoda, Brachiopoda, Nematoda and Platyhelminthes was observed in all diseased sponges. No single primary pathogen was detected in bacteria or eukaryotic complex associated with diseased sponges. The hydrochemical analysis showed local increase in biogenic elements at bottom layer of water near actively developing touristic sites. Several stress factors are proposed as triggers of sponge diseases that accompanied by actively involving complex of opportunistic bacterial pathogens with additional colonization of eukaryotes.

**Майкова О., Букшук Н., Ицкович В.,
Ханаев И., Онищук Н., Беликов С., Щербаков Д.
Губки семейства *Lubomirskiidae* в реке Ангара:
морфологический и филогенетический анализ**

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

Несмотря на широкое морфологическое разнообразие видов байкальского эндемичного семейства губок *Lubomirskiidae*, наиболее вероятное время происхождения семейства в озере Байкал определено, по молекулярным данным, около 10 млн лет назад. Согласно действующей классификации семейство *Lubomirskiidae* включает в себя 4 рода и 13 видов. В ходе сравнительно короткой эволюционной истории байкальские губки приобрели внушительное морфологическое и экологическое разнообразие. Интересно, что двум видам байкальских губок удалось проникнуть и выжить в резко отличающихся условиях единственной вытекающей из озера реки Ангара, где эти два вида были зарегистрированы ранее. Это дает нам уникальную возможность изучить эволюционные преобразования в процессе обособления и сосуществования двух сестринских видов в отличающихся от первоначальных экологических условиях. Сетчатое дерево на основе ITS1, ITS2 и двух митохондриальных межгенных районов показывает, что губки из озера Байкал и образцы из Ангара принадлежат одному кластеру. Губки из Ангара полифилетичны (значение Log10 Байес фактора равен -61,861) и принадлежат байкальскому эндемичному семейству *Lubomirskiidae*. Ангарские губки очень разнообразны морфологически и только 2 вида из 7 проанализированных были определены до вида: *B. intermedia* и *L. baicalensis*. Внутри-индивидуальная изменчивость спикул у всех образцов губок из Ангара гораздо выше, чем у таких же видов в Байкале. Для того чтобы проследить судьбу морфологических признаков в ходе миграции губок в реку, были измерены длина и ширина спикул для образцов губок из Байкала и Ангара. Мы показали особенности смещения признаков на примере длин спикул: индивидуальный диапазон изменчивости этого признака существенно не изменится в случае *B. intermedia*, в то время как образцы *L. baicalensis* из Байкала и Ангара отличается значительно ($U = 3.5$, $p < 0.000001$), хотя распределения признака немного перекрываются. Можно предположить, что для того, чтобы выжить в своеобразных речных условиях, этот вид должен резко преобразоваться. В результате работы показано, что в процессе обособления губок в Ангаре повышается их морфологическая вариабельность до такой степени, что особи разных видов становятся почти неотличимы друг от друга, но заметно отличаются от исходного вида (в случае с *L. baicalensis*). Этот эффект не ограничивается длиной спикул, распространяясь и на качественные признаки (форма спикул и строение скелета). Увеличение морфологической вариабельности в речных условиях, возможно, происходит из-за сильного и своеобразного селективного давления в Ангаре. Это новое направление отбора может преодолеть и исказить последствия межвидовой конкуренции видов направленное на поддержание морфологического разнообразия внутри озера Байкал.

**Maikova O., Bukshuk N., Itskovich V.,
Khanaev I., Onishchuk N., Belikov S., Sherbakov D.
Sponges of family Lubomirskiidae from Angara river:
morphological and phylogenetic analysis**

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS),
Irkutsk*

In spite of the wide morphological diversity of Lubomirskiidae species we may assume the origin of endemic sponge species flock in confines of the lake during last ca. 10 Ma according to molecular phylogeny. According to the present classification the family Lubomirskiidae includes 13 species (4 genera). In course of their comparatively short evolutionary history Baikal sponges acquired impressive morphological and ecological diversity. Two species of Baikal sponges apparently managed to penetrate into dramatically different environment of the only outlet of the lake Angara River where their occurrence has been reported earlier. This provides one a convenient model of evolutionary consequences of developing in an expatriate community of sister species towards the reverse of their evolutionary course the lake through niche splitting and differential specialization. The network based on ITS1, ITS2 and two mitochondrial intergenic regions shows that the Baikal sponges and the specimens from Angara River belong to a single definite cluster. It makes Angara sponges polyphyletic (Log10 Bayes factor value of -61.861) while still adhering to the Baikalian endemic family Lubomirskiidae. Angara sponges are very diverse morphologically and only 2 of them were identified at the species level: *B. intermedia* and *L. baikalensis*. Intra-individual variability of spicule traits in samples from Angara is much higher than in the Baikal ones. In order to trace fate of morphological traits in course of sponge migration to the river the length and width of spicules were measured for sponge samples from Lake Baikal and Angara River. We demonstrated the character displacement by spicule length: the individual range of variability of this trait does not change significantly in case of *B. intermedia*, *L. baikalensis* from Lake Baikal differs from Angara ones significantly ($U=3.5$, $p<0.000001$) although the distributions still slightly overlap. One may see that in order to survive in peculiar river conditions, this species must transform dramatically. One may see that in order to survive in peculiar river conditions, this species must transform dramatically may be because of specific selection. The overall appearance changes considerably too. While forming sponge "expat community" in Angara River, they increase dramatically their morphologic diversity so that the organisms of different specific origin become almost indistinguishable from each other but remarkably different from the original species (in the case of *L. baikalensis*). This effect is not restricted to quantitative traits like the length of spicules, but also involves qualitative characters like the shape of spicule spines and skeleton structure. This finding shows that morphological diversity increases in riverine conditions while it would be to expect the opposite due to strong and peculiar selective pressure in Angara River. This new direction of selection may overcome and distort the effects of inter-specific competition maintaining species diversity inside the Lake.

**Сакирко М.В., Ханаев И.В., Сезько Н.П.,
Башенхаева Н.В., Жученко Н.А., Небесных И.А.
Химический состав воды литоральной зоны
озера Байкал летом 2015 года**

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

Ключевые слова: Озеро Байкал, растворенные газы, биогенные элементы

*Работа выполнена в рамках государственного задания
ЛИН СО РАН №0345-2014-0007 № гос. рег. 01201353446*

В мае-июне 2015 г. проведены исследования химического состава воды в литорали озера. Отбор проб для гидрохимических анализов производился на 11 трансектах, от уреза воды до 100-150 м от берега. Отбор осуществлялся как с поверхности озера, так и в придонной области, где общая глубина достигала 40 м. Отдельно отбирались пробы захороненного в придонной зоне органического материала. Проводилось определение растворенного кислорода, величины рН, а также содержания биогенных элементов. По результатам исследований выявлено, что на всех станциях содержание биогенных элементов было в пределах фоновых характеристик открытых вод Байкала, за исключением залива Лиственничный. Здесь концентрации биогенных элементов в придонной области, где захоранивается органика растительного происхождения, значительно повышаются. Так содержание аммония возрастает до 4,40, нитритов до 0,094; нитратов до 1,19 минеральный фосфор до 0,42 мг/л, это может быть связано как с минерализацией органического материала, а также с поступлением хозяйственно-бытовых вод поселка через грунт. Отбор проб производился в дневные часы преимущественно в штилевую погоду, поэтому почти на всех трансектах отмечается значительное повышение величины рН и содержания растворенного кислорода в урезовой зоне, что говорит об активно происходящем фотосинтезе водорослей.

**Sakirko M.V., Khanaev I.V., Sezko N.P.,
Bashenkhaeva N.V., Zhuchenko N.A., Nebesnykh I.A.
Chemical composition of water in littoral zone
of lake Baikal, summer of 2015**

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS), Irkutsk*

Keywords: Lake Baikal, dissolved gases, nutrients

The work was supported by a state grant LIN SB RAS 0345-2014-0007, state registration 01201353446

We studied chemical composition of water in the littoral area of the lake in May-June of 2015. Water was sampled at 11 transects from the shoreline up to 100-150 m off the shore from the lake surface and near-bottom layer at a depth of 40 m. We also sampled buried organic material from the near-bottom layer and measured dissolved oxygen, pH, and nutrient concentrations. Concentrations of nutrients were within the background values characteristic of the open water of Lake Baikal at all sites, except Listvennichny Bay. The content of nutrients significantly increased in the near-bottom area where organic material of plant origin buried. For example, ammonium increased up to 4.40 mg/L, nitrite up to 0.094 mg/L, nitrate up to 1.19 mg/l. and mineral phosphorus up to 0.42 mg/L. This may be attributed to mineralization of organic matter and to discharge of domestic sewage from the settlement. We collected samples at daytime predominantly at calm weather. Therefore, significant rise of pH and dissolved oxygen was recorded in the shoreline area at all sites, attesting to active photosynthesis of algae.

Феранчук С.И., Бутина Т.В., Беликов С.И.
Анализ фрагментов гигантских вирусов
водорослей в метагеноме байкальской губки

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

Ключевые слова: губки, гигантские вирусы водорослей, Байкал

Образцы байкальской воды были отфильтрованы и подготовлены, и проведено секвенирование последовательностей нуклеиновых кислот в образцах для анализа вирусного метагенома байкальской губки. Полученные при секвенировании фрагменты были выровнены с белками из базы аннотированных белков вирусов со слабым порогом гомологии. Анализ показал, что наиболее представленными родами вирусов являются гигантские вирусы водорослей родов *mimivirus* и *phycodnavirus*, включая вириофаги, связанные с этими вирусами. Среди аннотированных видов вирусов наиболее близким к исследуемым образцам был вирус вида *Yellowstone lake mimivirus*. Размер образцов был недостаточным для проведения полного асемблирования последовательностей новых вирусов, но было проведено асемблирование фрагментов вирусов по гомологии с геномом *Yellowstone lake mimivirus*. Анализ асемблированных фрагментов на участке, соответствующем вирусной полимеразе, выявил наличие нескольких гомологичных видов мимивирусов в образцах. Среди вирусов рода *phycodnavirus* наиболее близким к исследуемым образцам был вид *Yellowstone lake phycodnavirus 1*.

Feranchuk S.I., Butina T.V., Belikov S.I.
Analysis of fragments of giant algal viruses
in the Baikal sponge metagenome

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS),
Irkutsk*

Keywords: sponges, algal viruses, mimivirus, Lake Baikal

Samples of Baikal water were prepared and filtered, and viral nucleic acids were sequenced to evaluate a virome of Baikal sponge. The sequenced reads were aligned with a database of viral proteins with a loose threshold. The most abundant species in the sample were homologous to giant algal viruses, mostly to mimiviruses and phycodnaviruses, including viriophages associated with these viruses. The annotated species, most homologous to the investigated samples, was identified as *Yellowstone lake mimivirus*. The size of samples were insufficient to reconstruct a whole genome of novel

viruses. However, the assembly of reads by a homology to Yellowstone lake mimivirus genome and a comparison of fragments aligned with a polymerase gene of the annotated genome reveal a presence of several different species homologous to Yellowstone lake mimivirus. The Yellowstone lake phycodnavirus 1 was identified as the closest relative of Baikal phycodnaviruses.

Ханаев И.В.
Пространственно-временной аспект
распространения различных форм заболевания
байкальских губок на мелководьях озера Байкал

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск*

Губки семейства *Lubomirskiidae* – важный элемент экосистемы озера Байкал, являющиеся наиболее массовыми эндемичными животными. Они населяют каменистую сублитораль озера на глубинах от 3 м до максимальных, при доступе света на глубинах до 60 м имеют интенсивную зеленую окраску благодаря фотосинтезирующим эндосимбионтам – одноклеточным зеленым водорослям, представителям типа *Chlorophyta*. Наиболее массовыми видами губок в оз. Байкал являются представители родов *Lubomirskia* и *Baikalospongia*. Именно они формировали неповторимый ландшафт дна озера.

Летом 2011 г. на оз. Байкал было обнаружено необычное явление: окраска некоторых губок изменилась с зеленой на грязно-розовую. Изменения в окраске были зафиксированы у представителей разных видов сем. *Lubomirskiidae*. Была определена пространственная протяженность распространения «розовых» губок, оказавшаяся достаточно большой: от п. Большие Коты до Ушканьих о-ов на глубинах 25-55 м. В последующие годы состояние спонгиозауны оз. Байкал претерпело катастрофические изменения. По наблюдениям 2014-2015 гг., в зависимости от расположения, 30-100% всех трех экологических форм губок (корковых, ветвистых и шаровидных) были больны, повреждены или мертвы. При этом отмечена ярко выраженная тенденция к расширению области поражения: если в сентябре 2014 больные губки наблюдали до глубин 15-20 м, то в июне 2015 года – до 30 м. Ухудшение состояния губок сопровождается развитием на их поверхности цианобактерий *Phormidium* spp., что окрашивает их в красно-коричневые тона. Ситуация значительно осложняется массовым распространением нитчатых водорослей, принадлежащих роду *Spirogira*.

Khanaev I.V.
Spatial-time distribution of different forms
of diseased sponges in shallow waters of lake Baikal

*Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian
Academy of Sciences (LIN SB RAS), Irkutsk*

Sponges of the family *Lubomirskiidae*, one of the important elements in the ecosystem of Lake Baikal, are the most abundant endemic animals. They inhabit stony

sublittoral area of the lake at a depth from 3 m to the maximal one. Up to a depth of 60 m with the light penetration, they are bright green due to the photosynthesized endosymbionts – unicellular green algae Chlorophyta. The most abundant genera in Lake Baikal are *Lubomirskia* and *Baikalospongia*. These species formed a unique landscape of the lake bottom.

An unusual phenomenon was recorded at Lake Baikal in the summer of 2011: some sponges changed their bright green color to dirty pink. We fixed color changes in different species of the family Lubomirskiidae. “Pink” sponges were recorded at a depth of 25 to 55 m at large distances from the settlement of Bolshiye Koty to the Ushkanyi Islands. The spongiofauna of Lake Baikal underwent drastic changes. According to the observations of 2011-2015, 30 to 100% of all three forms (cortical, branched, and globular) of sponges were diseased, affected or dead, depending of their location. Moreover, we noticed the tendency to expansion of the area of their location: if in September of 2014 diseased sponges occupied the depths of 15-20 m, in June of 2015 they inhabited the depth of 30 m. The state of sponges deteriorated because of the development of cyanobacteria *Phormidium* spp. on their surface, which turned them into red-brown. The situation in Lake Baikal becomes complicated due to mass development of filamentous algae of the genus *Spirogyra*.

**Черногор Л.И.,
Ханаев И.В., Деникина Н.Н., Беликов С.И.
Скрининг патологических агентов пресноводной
байкальской губки *Lubomirskia baicalensis*:
примморфы, как живая модельная система**

Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН (ЛИН СО РАН),
г. Иркутск

Ключевые слова: Байкальские демоспонгии, клеточная культура примморф, зеленые водоросли, Цианобактерии

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0345-2014-0002, а также при финансовой поддержке проектов РФФИ № 16-04-00065; № 16-54-150007.

Губки (Porifera) являются самыми древними, фильтрующими животными (Metazoa) (Srivastava et al., 2010). Байкальские эндемичные демоспонгии являются примитивными многоклеточными симбиотическими животными, которые являются сложным консорциумом многих видов. В последние годы, отмечаются случаи массовой гибели байкальских губок. Первые случаи заболевания губок (феномен «розовой губки») были обнаружены на Байкале в 2011 году. Причины смертности эндемиков не известны. Ранее мы показали, что культивирование клеточной культуры губок *in vitro* в течении длительного периода времени, позволит создать систему живой модели в экспериментально контролируемых условиях, в отсутствии каких-либо дополнительных органических компонентов. Генетическое родство культивируемой внутриклеточной эукариотической водоросли из примморф относится к коккоподобным зеленым водорослям из рода *Mychonastes* (Chernogor et al., 2013). Цель данной работы заключалась в скрининге патологических агентов пресноводной байкальской губки *Lubomirskia baicalensis* на модельной клеточной культуре примморф с использованием микроскопических и молекулярно-генетических исследований. Клеточная культура здоровых губок заражалась различными концентрациями суспензий от больных губок. Степень заражения культур клеток наблюдалась *in vivo* с помощью методов световой микроскопии, с последующим выделением и секвенированием с помощью метагеномного анализа. Здоровая культура окрашивалась в фиолетовый цвет при экспериментальном заражении, наблюдалось увеличение количества цианобактериальных клеток, в то время как симбиотические зеленые водоросли погибали. Эукариотические хлорофитовые водоросли порядка Chlorellales (61,5%) преобладали в зеленых приммофах, в то время, как род *Prochlorococcus* составлял 11,5% последовательностей в порядке цианобактерий. В инфицированных примморфах доминирующее положение составляли цианобактерии рода *Prochlorococcus* (87,2%), тогда как эукариотические хлорофитовые водоросли составляли 0,04%.

Клеточная культура примморф, описанная здесь, может рассматриваться в качестве системы мощной новой модели для изучения симбиотических взаимоотношений в губках, что позволит в дальнейшем идентифицировать патогены, показать трансдифференцировку и апоптоз клеток губки, а также создать коллекцию клеточных культур пресноводных байкальских губок.

Chernogor L.I., Khanaev I.V., Denikina N.N., Belikov S.I.
Screening of pathological agents of freshwater baikal sponge
***Lubomirskia baicalensis*: primmorphs as a living model system**

*Limnological Institute, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences (LIN SB RAS),
Irkutsk*

*Keywords: Lake Baikal demosponges, cell culture of primmorphs, green algae,
Cyanobacteria*

*This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research
(grants no 16-04-00065; 16-54-150007)*

Sponges (phylum Porifera) are the oldest, the filter-feeding animals (Metazoa) (Srivastava et al., 2010). The Baikal endemic demosponges is primitive multicellular symbiotic animals, which are complex consortium of many species. In recent years, there are cases of mass death of Baikalian sponges. First sponges with degradation signs (the "pink sponges" phenomenon) were discovered at Baikal in 2011. The reasons for endemics mortality at Baikal are unknown. Earlier, we have shown that primmorphs cultivation *in vitro* for a long period of time will allow the creation of a live model system under experimentally controlled conditions in the absence of any additional organic component. The genetic affinity of cultivated intracellular eukaryotic algae from tested primmorphs applies to the coccoid green algae of the genus *Mychonastes* (Chernogor et al., 2013). The purpose of this work is screening of pathological agents of freshwater Baikal sponge *Lubomirskia baicalensis* (Pallas 1776) at cell cultures of primmorphs using microscopic and molecular-genetic study. Cell culture of primmorphs infected different concentrations of suspensions from diseased sponges. The degree of the infection of cell culture observed *in vivo* using techniques light microscopy, followed by isolation and sequencing using the metagenomic analyzes. The healthy culture painted in purple color at the experimental infection, observed increased number of cyanobacterial cells, while symbiotic green algae died. The eukaryotic chlorophycean algae of the order Chlorellales (61.5%) were dominated in the green primmorphs, whereas genus *Prochlorococcus* made up 11.5% of the sequences in the

Phylum Cyanobacteria. In infected primmorphs dominant position accounted Cyanobacteria genus *Prochlorococcus* (87.2%), whereas eukaryotic chlorophycean algae made up 0.04%. The cell culture sponges described here can be considered as a powerful novel model system of studying symbiotic mutual relations in sponges, which allows to identify pathogens, transdifferentiation and apoptosis of sponge cells and creation of a cell cultures collection of freshwater Baikal sponges.