

ПРЕОБРАЗОВАНИЯ БАЙКАЛЬСКИХ ГУБОК (СЕМ. *Lubomirskiidae*) ПРИ ИХ ЗАСЕЛЕНИИ В РЕКУ АНГАРА

© 2017 г. О. О. Майкова^{1, *}, Н. А. Букшук¹, В. Б. Ицкович¹, И. В. Ханаев¹,
И. А. Небесных¹, Н. А. Онищук¹, Д. Ю. Щербаков^{1, 2}

¹Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск 664033

²Иркутский государственный университет, кафедра физико-химической биологии, Иркутск 664033

*e-mail: maikova@lin.irk.ru

Поступила в редакцию 17.12.2016 г.

Проведен генетический и морфологический анализ эндемичных губок сем. *Lubomirskiidae*, обитающих в оз. Байкал и р. Ангара. При попадании разных видов губок из озера в реку они приобретают ряд сходных морфологических признаков, направленных на упрочнение скелета губки в условиях повышенной гидродинамической активности. Это значительно затрудняет видовую идентификацию обитающих в Ангаре губок по морфологическим признакам. Филогенетический анализ на основе последовательностей участков ITS и некодирующих районов митохондриальной ДНК подтвердил принадлежность губок из р. Ангара к байкальскому семейству *Lubomirskiidae* и показал их полифилетичность. Применение объединенных молекулярных и морфологических данных позволило кластеризовать некоторые образцы губок в группы, соответствующие отдельным видам. Показано, что виды *Baikalospongia intermedia* и *Lubomirskia baicalensis* не имеют генетической подразделенности, в то время как подвид *B. intermedia profundalis* значительно обособлен от *B. intermedia*, что указывает на необходимость дальнейших исследований с целью уточнения видового статуса данного подвида.

Ключевые слова: губки, Байкал, некодирующие районы митохондриальной ДНК, ITS, морфологическая пластичность.

DOI: 10.7868/S0016675817120098

Современное разнообразие байкальских эндемичных губок возникло в результате быстрого процесса адаптивной радиации, породившей букет близкородственных, но морфологически разнообразных видов, приспособленных к уникальным условиям глубоководного озера. Губки представляют собой постоянный и весьма значимый компонент донных сообществ озера, их биомасса во многих случаях превышает биомассу всех прочих групп зообентоса вместе взятых [1, 2].

Согласно действующей систематике все эндемичные губки в оз. Байкал принадлежат к семейству *Lubomirskiidae*, состоящему из 13 видов и одного подвида [3, 4], что составляет около 6% от мировой пресноводной спонгиофауны [5]. Современная систематика байкальских губок основана только на морфологических признаках [3, 4].

Известно, что губки обладают поразительной способностью приспосабливаться к разным, порой даже экстремальным условиям окружающей среды, например как вид *Eunapius subterraneus* [6]. Высокая морфологическая пластичность губок приводит к тому, что под воздействием различных факторов среды они могут в значительной

степени изменять свою морфологию [7–9], в результате чего даже особи одного вида могут иметь серьезные морфологические различия [10]. К наиболее значимым морфологическим признакам при видовой идентификации губок относятся организация скелета и строение скелетных элементов. У большинства пресноводных губок к этим диагностическим признакам добавляется строение геммул, геммулосклер и паренхимных микросклер [5, 11, 12]. Но губки сем. *Lubomirskiidae* не образуют геммул и не содержат паренхимных микросклер, поэтому видовая идентификация их существенно затруднена. Систематика байкальских эндемичных губок опирается, главным образом, на строение мегасклер и характер их организации в скелетной решетке. При этом даже в пределах одного вида морфология спикул может сильно варьировать [13]. Высокая вариативность может быть связана с биотопическим разнообразием Байкала и относительной молодостью видов *Lubomirskiidae* [14]. Все это затрудняет видовую идентификацию байкальских губок исключительно морфологическими методами, создавая предпосылки для применения комплексного

подхода. От правильного определения систематического положения губок зависит результат любых дальнейших исследований, как молекулярно-генетических, так и экологических.

Попытки использования только методов молекулярной систематики, неоднократно принятые ранее [15, 16], не принесли большого успеха, обозначив противоречие между высокой морфологической вариабельностью байкальских губок и весьма низкой скоростью молекулярной эволюции. Даже достаточно полиморфные транскрибируемые спейсеры рибосомных генов (ITS) не позволяют разделить близкородственные виды байкальских губок. Поэтому применение методов интегративной таксономии для *Lubomirskiidae* видится наиболее перспективным. Метод объединения морфологических и молекулярно-генетических данных для дифференцировки видов уже успешно применен для многих групп животных, в том числе и губок [17]. Такой комплексный подход позволяет учитывать различные характеристики вида: морфологические, экологические, биогеографические, особенности жизненного цикла и молекулярно-генетическую вариабельность.

Сложности к общей картине добавляет возможность миграции губок из Байкала. Хотя байкальские губки адаптированы к уникальным условиям обитания в олиготрофном озере, некоторые из них, попадая с током воды в Ангару, единственную вытекающую из Байкала реку, приживаются там и активно размножаются. Ранее в р. Ангара были найдены представители сем. *Lubomirskiidae*, отнесенные к двум видам: *Lubomirskia baicalensis* и *Baikalospongia intermedia* [3, 18–20]. Но подробных морфологических исследований проведено не было. Также ничего не известно и о генетической близости обитающих в Ангаре *Lubomirskiidae* с представителями этого семейства из Байкала. Такая ситуация дает нам уникальную возможность изучить генетическую и морфологическую изменчивость частично изолированных представителей некоторых видов эндемичного сем. *Lubomirskiidae*, находящихся под влиянием условий обитания, значительно отличающихся от таковых в Байкале.

В настоящей работе был применен комплексный подход, объединяющий морфологические и молекулярно-генетические данные для исследования филогенетических отношений эндемичных губок сем. *Lubomirskiidae* из двух связанных водоемов. В качестве генетических маркеров использованы вариабельные участки митохондриальной ДНК (мтДНК) между генами транспортных РНК (тРНК), а также последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS1, ITS2) ядерной ДНК (ядДНК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор образцов и морфологический анализ

Образцы губок из оз. Байкал были собраны в южной и центральной котловинах на глубинах 5–1450 м в 2007–2009 гг. Образцы губок в р. Ангара были собраны в августе 2013 г. на расстоянии около 60 км от истока Ангары, в центре города Иркутска, под Глазковским мостом, на глубинах 1–3 м. Морфологический анализ образцов был проведен на основе строения спикул и скелета согласно ранее описанным методикам [3, 21]. Также учитывались и такие характеристики, как форма и консистенция тела, форма оскулюмов.

Гидрохимический анализ

Вода для гидрохимического анализа была отобрана со дна и с поверхности р. Ангара в районе обитания губок. Для химического анализа пробы воды фильтровали через поликарбонатную мембрану с размерами пор 0.45 мкм. Гидрохимический анализ был выполнен в соответствии с общепринятыми методиками [22–24]. Катионы в фильтрате измеряли с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии, анионы определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в микроколонках. Для определения биогенных элементов (нитритного, нитратного и аммонийного азота, а также фосфатов) применяли колориметрический и метод микроколонной высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детекцией при помощи Фотометра и Милихром-02 (Milichrom-02). Определение перманганатной окисляемости и химическое потребление кислорода в водах выполняли титриметрическим методом. Концентрацию растворенного кислорода измеряли по методу Винклера.

Выделение ДНК, ПЦР-анализ, определение нуклеотидных последовательностей

Выделение суммарной ДНК проводили путем лизиса ткани в СТАВ-буфере с последующей отмывкой хлороформом [25]. Исследуемый участок мтДНК включал в себя два вариабельных района между генами *mPHK^{Tyr}* и *mPHK^{Met}*, разделенных геном *mPHK^{Ile}*. Участок яДНК содержал 3'-конец 18S рРНК, ITS1, 5.8S рРНК, ITS2 и 5'-конец 28S рРНК. Амплификацию фрагментов проводили в амплификаторе Peltier Thermal Cycler (MJ Research, USA) с использованием специфических праймеров и методики, опубликованных ранее [26, 27]. Длина амплифицированных фрагментов мтДНК варьировала от 600 до 1000 пн, что связано с присутствием множественных делеций/вставок, длина ITS-участков была около 1000 пн. Определение нуклеотидных последовательностей полученных фрагментов осуществлялось в

ЦКП “Геномика” (ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск). Множественное выравнивание последовательностей проводили с использованием программы MAFFT v. 6.882b [28], при этом из выравненных последовательностей межгенных участков были удалены уникальные делеции/вставки как филогенетически неинформативные сайты. Длина выравненных последовательностей составила 1238 пн.

Филогенетический анализ

Филогенетический анализ проведен на основе набора данных, включающего морфологические признаки и нуклеотидные последовательности двух молекулярно-генетических маркеров. В качестве морфологических характеристик использованы: форма тела (глобульная, корковая, ветвистая), консистенция тела (мягкая, жесткая, средней жесткости, эластичная), форма оскулюмов (звездчатые, округлые), форма спикул (оксы, стронгилы) и наличие или отсутствие щеток в структуре скелета.

Дополнительно к новым последовательностям в филогенетический анализ также были включены 16 ранее опубликованных [26, 27, 33, 36] (таблица). Филогенетический анализ проведен байесовским методом с помощью программы MrBayes v. 3.2.1 [29] с использованием модели нуклеотидных замен GTR. Марковские цепи Монте-Карло (Markov chain Monte Carlo) были запущены дважды (параметр по умолчанию) по 10 000 000 генераций. Из анализа исключали первые 20 000 деревьев, считая их неустойчивыми. Проверку филогенетических гипотез проводили также с помощью байесовского анализа. Для анализа достоверности гипотез проводили подсчет соотношения вероятностей, или Байес-фактор (Bayes Factor), который вычисляли с помощью программы Tracer [30, 31].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гидрохимический анализ не выявил заметных отличий по химическому составу воды из Ангара и Байкала, за исключением присутствия незначительного количества ионов аммония в реке (0.02–0.04 мг/л в реке по сравнению с 0–0.01 мг/л в озере). Более того, большинство собранных в Ангаре губок содержали в своем теле личинок, следовательно они успешно размножаются и могут распространяться вниз по течению.

При сборе губок в р. Ангара были отмечены единичные особи с признаками заболевания – с фиолетовыми и буро-коричневыми пятнами некроза. Стоит отметить, что в последние несколько лет в Байкале наблюдается массовое заболевание губок, распространившееся по всему озеру [32].

По морфологическим признакам все семь образцов губок из р. Ангара были отнесены к сем. *Lubomirskiidae*, но ни один из них не был идентифицирован до вида из-за высокой индивидуальной изменчивости и сочетания признаков разных видов. Тем не менее по морфологическим признакам образец Ангара9 был наиболее похож на вид *Lubomirskia baicalensis*, а образец Ангара12 – на *Baikalospongia intermedia*. Остальные пять образцов сочетали в себе признаки родов *Baikalospongia* и *Lubomirskia*. Характерной особенностью всех образцов было окончание главных скелетных пучков веероподобными структурами с разной степенью выраженности, называемыми щетками. Также стоит отметить необычную морфологическую вариабельность спикул внутри одной особи, превышающую таковую у губок, обитающих в оз. Байкал.

Некоторые морфологические изменения ангарских губок можно объяснить влиянием условий обитания в реке, значительно отличающихся от условий в озере. Основное отличие связано с другими гидродинамическими условиями, а именно с быстрым течением воды (1–2 м/с), что создает сильное механическое воздействие на губок. В результате приспособления к этому фактору происходит укрепление поверхности тела губки за счет образования щеток в структуре скелета. Этому же способствует и форма тела ангарских губок (тонкие корки или небольшие глобулы). В Байкале волновое воздействие наиболее выражено на малых глубинах, и до глубины 5 м встречаются практически только корковые формы [3, 21]. Глобульные губки небольших размеров также демонстрируют высокую устойчивость к активному гидродинамическому воздействию [9].

Для филогенетического анализа на основе объединенных генетических и морфологических данных были использованы пять морфологических признаков, перечисленные ранее в разделе “Материалы и методы”, по которым была составлена матрица. Нуклеотидные последовательности были определены для 18 фрагментов межгенных районов мтДНК и 17 фрагментов яДНК, содержащих ITS-участки. Последовательности, включенные в анализ, принадлежат губкам семи наиболее распространенных видов и одного подвида семейства *Lubomirskiidae*: *Baikalospongia martinsoni*, *B. bacillifera*, *B. intermedia*, *B. intermedia profundalis*, *B. recta*, *B. fungiformis*, *Lubomirskia baicalensis* и *L. incrustans*. Из 51 включенной в анализ последовательности 16 были ранее опубликованы [26, 27, 33, 36], остальные публикуются впервые и депонированы в базу данных GenBank/NCBI (таблица).

Филогенетический анализ подтвердил принадлежность губок из р. Ангара к байкальскому эндемичному семейству *Lubomirskiidae* и показал

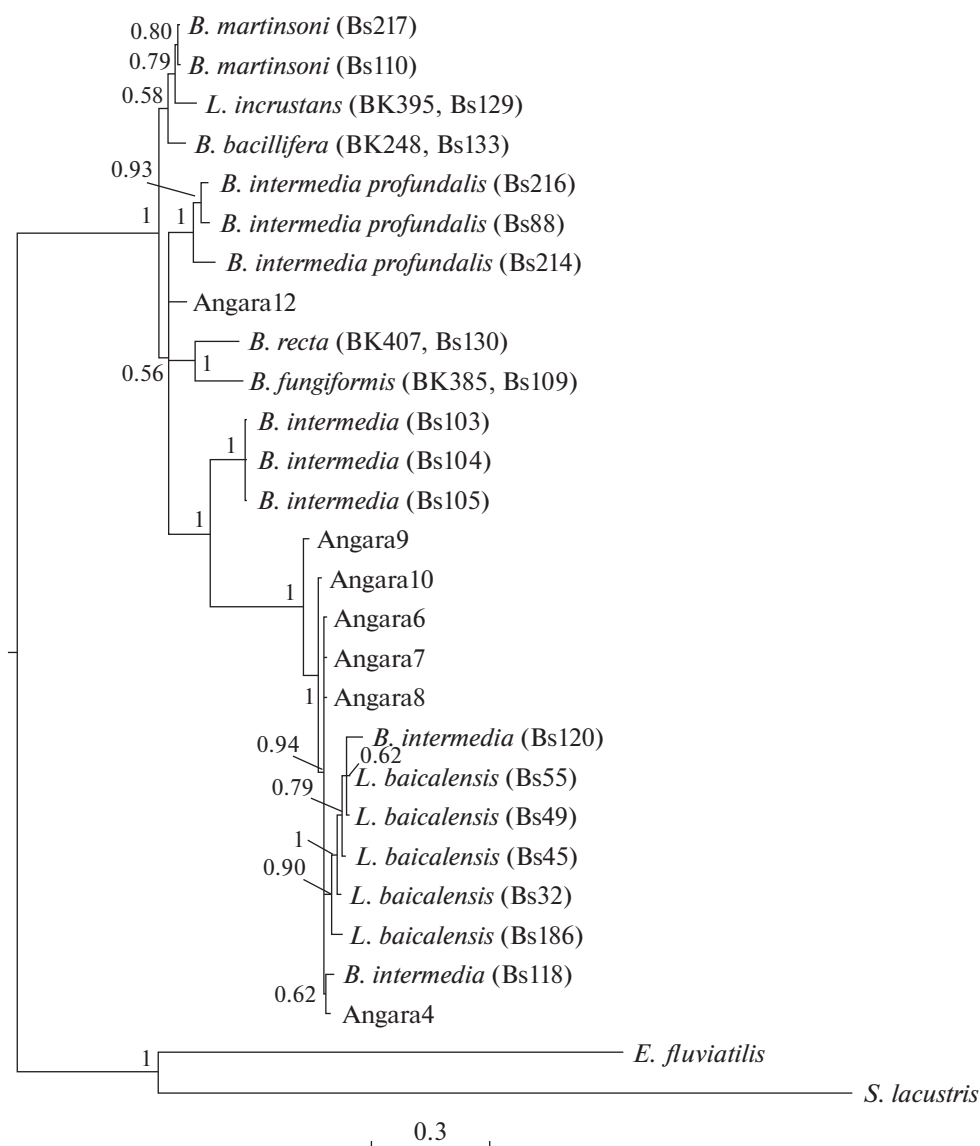
Таксономический статус, номера образцов в коллекции и номера доступа в GenBank используемых в анализе последовательностей

Вид	Номер образца в коллекции	Номер в GenBank	
		последовательности ITS-районов	последовательности межгенных участков мтДНК
<i>L. incrustans</i>	BK395 Bs129	DQ778324 ¹	GU980933 ²
<i>B. martinsoni</i>	Bs217 Bs110	KR347134 KR347129	KR604916 KR604915
<i>B. bacillifera</i>	BK248 Bs133	KC477715 ¹	KR604920
<i>B. fungiformis</i>	BK385 Bs109	DQ778328 ¹	KR604921
<i>B. recta</i>	BK407 Bs130	DQ778323 ¹	KR604922
<i>B. intermedia</i>	Bs103 Bs104 Bs105 Bs120 Bs118	KR347127 KR347128 KR347131 KR347130	KR604923 KR604925 KR604924 GU980943 ² GU980941 ²
<i>B. intermedia profundalis</i>	Bs216 Bs88 Bs214	KR347133 KR347126 KR347132	KR604917 KR604918 KR604919
<i>L. baicalensis</i>	Bs55 Bs186 Bs49 Bs45 Bs32	KR347125	JF267514 ² JF267513 ² JF267515 ² JF267512 ² GU385217 ³
Lubomirskiidae sp.	Angara9 Angara4 Angara6 Angara7 Angara8 Angara10 Angara12	KR347122 KR347136 KR347119 KR347120 KR347121 KR347123 KR347124	KT325542 KT325543 KT325544 KT325546 KT325545 KT325547 KT325541
<i>E. fluviatilis</i>		EF151942 ¹	GU057847 ⁴
<i>S. lacustris</i>		EF151935 ¹	JF267516 ²

Примечание. Образцы, секвенированные ранее: ¹ – [27], ² – [26], ³ – [33], ⁴ – [36].

их полифилетичность (рисунок). Гипотеза о полифилетичном происхождении ангарских губок была протестирована с помощью байесовского анализа и поддержана с высокой степенью веро-

ятности (Log10 Bayes Factor = 61.861). На филогенетическом дереве видно, что роды *Lubomirskia* и *Baikalospongia* полифилетичны, что также было показано ранее с использованием другого меж-



Филогенетическое дерево, полученное Байесовским методом (Bayesian inference, BI) на основе морфологических данных и объединенных нуклеотидных последовательностей ITS-участков яДНК (ITS1, ITS2) и межгенных районов мтДНК (1238 пн). Цифрами в основаниях кластеров указаны значения апостериорных вероятностей.

генного участка мтДНК [34]. Шесть образцов губок из Ангары, включая Ангара9, образуют общую кладу с образцами видов *L. baicalensis* и *B. intermedia* с высоким значением апостериорной вероятности (0.98). Гипотезы о наибольшем родстве образцов Ангара9 и Ангара12 к определенным видам были дополнительно протестированы и показано, что Ангара9 действительно наиболее близок виду *L. baicalensis* (Log10 Bayes Factor = 31.787), тогда как образец Ангара12 оказался наиболее близок подвиду *B. intermedia profundalis*, но с низкой степенью вероятности (Log10 Bayes Factor = 2.115).

Подвид *B. intermedia profundalis* на филогенетическом дереве значительно обособлен от *B. intermedia*. Однако ранее было показано существова-

ние ряда переходных форм между типичными *B. intermedia intermedia* и *B. intermedia profundalis* и лишь частичное согласование морфологических признаков с батиметрическим распределением [35]. Необходимо дальнейшее изучение *B. intermedia profundalis* комплексными методами с целью уточнения его таксономического статуса, что, возможно, приведет к обособлению его в самостоятельный вид.

Межвидовые генетические расстояния, вычисленные по объединенным последовательностям ITS-районов и межгенных участков мтДНК у *Lubomirskiidae*, составили 0.057 (*p*-distances). Средние значения внутривидовых генетических различий для *B. intermedia profundalis* и *L. baicalen-*

sis составили 0.012 и 0.003 соответственно (0–0.022), тогда как для образцов, отнесенных по морфологическим признакам к виду *B. intermedia*, среднее значение составило 0.041 (0.009–0.058). На филогенетическом дереве виды *B. intermedia* и *L. baicalensis* образуют единую кладу, несмотря на то что морфологически они хорошо отличаются друг от друга по целому ряду признаков. В то же время мы не можем говорить о генетической подделенности этих двух видов.

На примере ангарских губок видно, что при попадании в другие условия обитания губки разных видов приобретают схожие морфологические признаки. Интересно отметить, что образцы *B. intermedia* Bs103–105 генетически идентичны друг другу (p -distances = 0), что объясняется возможностью их размножения путем деления колонии. Это обстоятельство следует учитывать при дальнейшем сборе образцов для изучения генетического и морфологического разнообразия байкальских губок, однако до сих пор неизвестны максимально возможные границы пространственного распространения особей в результате бесполого размножения.

Ранее было показано, что использование только ITS последовательностей не позволяет решить филогенетические отношения внутри семейства Lubomirskiidae [36, 37]. Используемые во всем мире для филогенетических реконструкций губок генетические маркеры, такие как гены рибосомной РНК (18S и 28S рРНК) [38, 39] и митохондриальный ген цитохромоксидазы I (*COI*) [40, 41], также непригодны для разделения близкородственных видов байкальских эндемичных губок из-за высокой степени гомологии последовательностей [15, 16]. Низкая генетическая вариабельность Lubomirskiidae может быть объяснена недавним происхождением большинства современных литоральных видов байкальских эндемичных губок [14] и низкой скоростью накопления нуклеотидных замен. Ранее была показана низкая скорость эволюции митохондриальной ДНК Lubomirskiidae, сопоставимая с таковой у растений и кораллов [33, 42], что и объясняет непригодность любого отдельно взятого белоккодирующего митохондриального гена для филогенетических исследований байкальских эндемичных губок. При этом скорость эволюции межгенных некодирующих районов мтДНК в 4–5 раз выше скорости накопления замен в белоккодирующих генах, что делает их перспективными для филогенетических исследований Lubomirskiidae [26, 34]. В рамках настоящего исследования применение объединенных последовательностей ITS-участков и некодирующих районов мтДНК, а также морфологических признаков позволило разделить некоторые образцы губок на клады, соответствующие отдельным видам, а также показало особую генетическую близость видов *B. intermedia* и *L. baicalensis*. Отсутствие

генетической дифференциации и при этом значительная вариация морфологических признаков могут указывать на незаконченный процесс видообразования байкальских эндемичных губок.

Авторы выражают благодарность доктору Давиду Джусону за ценные комментарии и исправления.

Работа выполнена в рамках бюджетных тем VI.50.1.4 (0345-2016-0002), VI.61.1.3 (0345-2016-0005), а также при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 14-04-31298 и 15-04-03848а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кожов М.М. Биология озера Байкал. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 315 с.
2. Кожов М.М. О бентосе Южного Байкала // Бентос и планктон Южного Байкала // Изв. БГНИИ при ИГУ. 1970. Т. 23. Вып. 1. С. 3–12.
3. Ефремова С.М. Губки // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна / Под ред. Тимошкина О.А. и др. Новосибирск: Наука, 2001. Т. 1. С. 177–190.
4. Ефремова С.М. Новый род и новые виды губок сем. Lubomirskiidae Rezvoj, 1936 // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна / Под ред. Тимошкина О.А. и др. Новосибирск: Наука, 2004. Т. 1. Кн. 2. С. 1261–1278.
5. Manconi R., Pronzato R. Global diversity of sponges (Porifera: Spongillina) in freshwater // Hydrobiologia. 2008. V. 595(1). P. 27–33.
6. Harcet M., Bilandzija H., Bruvo-Madaric B., Cetkovic H. Taxonomic position of *Eunapius subterraneus* (Porifera, Spongillidae) inferred from molecular data—a revised classification needed? // Mol. Phylogenet. Evol. 2010. V. 54. P. 1021–1027.
7. Schronberg C.H.L., Barthel D. Unreliability of demospone skeletal characters: the example of *Halichondria panacea* // Sponge Sciences / Eds Watanabe Y., Fuse-tani N. Tokyo: Springer-Verlag, 1998. P. 41–54.
8. Maldonado M., Carmona M.C., Uriz M.J., Cruzado A. Decline in Mesozoic reef-building sponges explained by silicon limitation // Nature. 1999. V. 401. P. 785–788. doi 10.1038/44560
9. Bell J., Barnes D., Turner J. The importance of micro and macro morphological variation in the adaptation of a sublittoral demospone to current extremes // Marine Biol. 2002. V. 140. P. 75–81.
10. Van Soest R., Boury-Esnault N., Vacelet J. et al. Global diversity of sponges (Porifera) // PLoS One. 2012. V. 7: e35105. doi 10.1371/journal.pone.0035105
11. Manconi R., Pronzato R. Suborder Spongillina subord. nov.: freshwater sponges // Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges. V. 1 / Eds Hooper J.N.A., Van Soest R.W.M. Dordrecht; N.Y.: Kluwer Acad. Plenum Publ., 2002. P. 921–1020.
12. Castellani C., Maas A., Haug C. et al. Isolated sponges spicules from the late Cambrian Alum Shale Formation

- (‘Orsten’ nodules) of Sweden // *Bull. Geosci.* 2012. V. 87(3). P. 443–460.
13. Вейнберг Е.В. Спонгиофауна плиоцен-четвертичных отложений Байкала: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2005. 22 с.
 14. Maikova O., Khanaev I., Belikov S., Sherbakov D. Two hypotheses of the evolution of endemic sponges in Lake Baikal (Lubomirskiidae) // *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 2015. V. 53(2). P. 175–179.
 15. Schroder H.C., Efremova S.M., Itskovich V.B. et al. Molecular phylogeny of the freshwater sponges in Lake Baikal // *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 2002. V. 40. P. 1–7.
 16. Itskovich V., Belikov S., Efremova S. et al. Phylogenetic relationships between freshwater and marine Haplosclerida (Porifera, Demospongiae) based on the full length 18S rRNA and partial *COXI* gene sequences // *Porifera Research – Biodiversity, Innovation and Sustainability*. 2007. P. 1–9.
 17. Boury-Esnault N., Lavrov D.V., Ruiz C.A., Perez T. The integrative taxonomic approach applied to Porifera: A case study of the Homoscleromorpha // *Integrative Comp. Biol.* 2013. V. 53(3). P. 416–427.
 18. Резвой П.Д. Пресноводные губки (сем. Spongillidae и Lubomirskiidae) // Фауна СССР. М.: Изд-во АН СССР, 1936. Т. 2. С. 90–101.
 19. Bazikalova A. About amphipoda of Angara River // *Proc. Baikal Limnological Station*. 1957. V. 15. P. 377–387.
 20. Golyshkina R. Benthos of Irkutsk reservoir in first years of its existence (1957–1961) // *Proc. IBIW AN SSSR*. 1963. V. 6(9). P. 91–104.
 21. Masuda Y. Studies on the taxonomy and distribution of freshwater sponges in Lake Baikal // *Prog. Mol. Sub Cell. Biol.* 2009. V. 47. P. 81–110.
 22. Wetzel R.G., Likens G.E. *Limnological Analyses*. N.Y.: Springer-Verlag, 1991. 391 p.
 23. Baram G.I., Vereshchagin A.L., Golobokova L.P. Application of microcolumn HPLC with UV detection to analysis of anions in environmental objects // *Zh. Anal. Khim.* 1999. P. 54.
 24. Боева Л. Руководство для химического анализа поверхностных вод. Ростов-на-Дону: РосГидромет, 2009. 1032 с.
 25. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 479 с.
 26. Майкова О.О., Степнова Г.Н., Беликов С.И. Вариативность некодирующих последовательностей митохондриальной ДНК губок семейства Lubomirskiidae // *ДАН*. 2012. Т. 442(5). С. 709–711.
 27. Itskovich V., Gontcharov A., Masuda Y. et al. Ribosomal its sequences allow resolution of freshwater sponge phylogeny with alignments guided by secondary structure prediction // *J. Mol. Evol.* 2008. V. 67(6). P. 608–620.
 28. Katoh K., Toh H. Recent developments in the mafft multiple sequence alignment program // *Briefings Bioinform.* 2008. V. 9(4). P. 286–298.
 29. Ronquist F., Huelsenbeck J. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics*. 2003. V. 19(12). P. 1572–1574.
 30. Newton M., Raftery A. Approximate bayesian inference with the weighted likelihood bootstrap (with discussion) // *J. Royal Stat. Soci. Ser. B*. 1994. V. 56. P. 348.
 31. Suchard M., Weiss R., Sinsheimer J. Bayesian selection of continuous-time markov chain evolutionary models // *Mol. Biol. Evol.* 2001. V. 18. P. 1001–1013.
 32. Timoshkin O.A., Samsonov D.P., Yamamuro M. Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world’s greatest freshwater biodiversity in danger? // *J. Great Lakes Res.* 2016. V. 42. P. 487–497.
 33. Lavrov D. Rapid proliferation of repetitive palindromic elements in mtDNA of the endemic baikalian sponge *Lubomirskia baicalensis* // *Mol. Biol. Evol.* 2010. V. 27. P. 757–760.
 34. Ицкович В.Б., Калюжная О.В., Беликов С.И. Исследование полиморфизма участков ядерной и митохондриальной ДНК у близкородственных видов эндемичных байкальских губок // *Генетика*. 2013. Т. 49. № 8. С. 966–974.
 35. Букшук Н.А., Тимошкин О.А. Особенности морфологии и вертикального распределения *Baikalospongia intermedia* (Spongia: Lubomirskiidae) в глубоководной зоне озера Байкал // *Изв. ИГУ. Сер. Биология. Экология*. 2013. Т. 6. № 2. С. 128–131.
 36. Майкова О.О., Ицкович В.Б., Семитуркина Н.А. и др. Филогенетическое положение губок озер Чагьгай и Торе-Холь // *Генетика*. 2010. Т. 46. № 12. С. 1670–1677.
 37. Itskovich V., Kaluzhnaya O., Ostrovsky I., McCormack G. The number of endemic species of freshwater sponges (Malawispongiidae; Spongillina; Porifera) from Lake Kinneret is overestimated // *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 2013. V. 51(3). P. 252–257.
 38. Kelly-Borges M., Pomponi S. Phylogeny and classification of lithistid sponges (Porifera, Demospongiae): a preliminary assessment using ribosomal DNA sequence comparisons // *Mol. Mar. Biol. Biotech.* 1994. V. 3. P. 87–103.
 39. Borchellini C., Manuel M., Alivon E. et al. Sponge paraphyly and the origin of Metazoa // *J. Evol. Biol.* 2001. V. 14. P. 171–179.
 40. Erpenbeck D., Worheide G. On the molecular phylogeny of sponges (Porifera) // *Linnaeus Tercentenary: Progress in Invertebrate Taxonomy / Eds Zhang Z.-Q., Shear W.A.* // *Zootaxa*. 2007. V. 1668. P. 107–126.
 41. Vargas S., Schuster A., Sacher K. et al. Barcoding sponges: An overview based on comprehensive sampling // *PLoS ONE*. 2012. V. 7(7): e39345. doi 10.1371/journal.pone.0039345
 42. Lavrov D.V., Maikova O.O., Pett W., Belikov S.I. Small inverted repeats drive mitochondrial genome evolution in Lake Baikal sponges // *Gene*. 2012. V. 505. P. 91–99.

Transformation of Baikal Sponges (Family Lubomirskiidae) after Penetration into the Angara River

O. O. Maikova^{a,*}, N. A. Bukshuk^a, V. B. Itskovich^a, I. V. Khanaev^a,
I. A. Nebesnykh^a, N. A. Onishchuk^a, and D. Yu. Sherbakov^{a,b}

^a*Limnological Institute, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, 664033 Russia*

^b*Department of Physicochemical Biology, Irkutsk State University, Irkutsk, 664003 Russia*

*e-mail: maikova@lin.irk.ru

Genetic and morphological analysis of endemic sponges of the Lubomirskiidae family from Lake Baikal and the upper reaches of the Angara River was performed. Various sponge species acquired a number of similar morphological traits after the transition from the lake into the river. These traits enabled an increase of sponge skeleton strength under the conditions of elevated hydrodynamic activity. The changes significantly impeded morphology-based species identification of Angara sponges. Phylogenetic analysis of ITS regions and non-coding mitochondrial DNA fragments confirmed that the Angara sponges belonged to the Baikalian Lubomirskiidae family and demonstrated the polyphyletic origin of the sponges. The use of combined molecular and morphological data allowed for the clustering of some sponge samples into groups that corresponded to individual species. The absence of genetic isolation between the *Baikalospongia intermedia* and *Lubomirskia baicalensis* species was demonstrated, whereas the *B. intermedia profundalis* subspecies was well separated from *B. intermedia*. This finding pointed to the necessity of further studies for the clarification of the taxonomic status of this subspecies.

Keywords: sponges, Baikal, noncoding mitochondrial DNA regions, ITS, morphological plasticity.