

Investigation of *Tychonema* sp. tropism to the sponge body in the experiment of co-cultivation of cyanobacteria with primmorphs

Short communication
LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Naidanova Y.A.* , Sorokovikova E.G., Tikhonova I.V., Khanaev I.V., Belykh O.I.

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

ABSTRACT. Mass disease of endemic sponges accompanied by the growth of cyanobacterial biofilms on their bodies has been registered in recent years in Lake Baikal. These biofilms are formed by the cyanobacterium *Tychonema* sp., which grows on various types of substrates in the littoral zone and is often found on sponges. The aim of the study was to conduct an experiment on co-cultivation of *Tychonema* sp. with *Baikalospongia* sp. primmorphs to test the hypothesis about the tropism of Baikal cyanobacterium to the body of sponges. In the experiment, gradual fouling of the primmorphs with cyanobacterium filaments, destruction of their structure and death of sponge cells were registered. In the control without addition of cyanobacteria, the primmorphs remained alive during the whole time of the experiment.

Keywords: sponge disease, Lake Baikal, benthic cyanobacteria

For citation: Naidanova Y.A., Sorokovikova E.G., Tikhonova I.V., Khanaev I.V., Belykh O.I. Investigation of *Tychonema* sp. tropism to the sponge body in the experiment of co-cultivation of cyanobacteria with primmorphs // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 1020-1025. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1020

1. Introduction

Cyanobacteria are the most ancient photosynthetic organisms on Earth, with an age of about 3.5 billion years (Schopf, 1993). During the evolution of the biosphere, cyanobacteria not only created the conditions necessary for the origin and life of eukaryotes – an oxygen atmosphere –but also were the ancestors of plant chloroplasts (Demoulin et al., 2019). The ability of cyanobacteria to adapt to a wide variety of environmental conditions, including extreme ones, has allowed them to capture almost all ecological niches. Benthic cyanobacteria form biofilms or bushy fouling on the bottom of water bodies, and can synthesize a variety of toxins dangerous to humans and animals (Quiblier et al., 2013). Cyanobacterial biofilms growing on sponges and corals cause disease and death of these marine animals (Rützler, 1988; Ford et al., 2018).

In Lake Baikal, benthic cyanobacteria are very diverse and recently their abundance has increased dramatically. They have started to use endemic sponges as a substrate, causing their destruction and death (Sorokovikova et al., 2020). Among the species that settle on sponges, the cyanobacterium *Tychonema* sp. stands out. Its bright red biofilms have long attracted the attention of researchers (Timoshkin et al., 2016).

The aim of this work is to conduct an experiment

on co-cultivation of cyanobacterium with *Baikalospongia* sp. primomorphs and to test the hypothesis about the tropism of Baikal *Tychonema* sp. to the sponge body.

2. Materials and methods

For the experiment we used the strain *Tychonema* sp. BBK16 from the collection of cyanobacterial cultures of the Laboratory of Aquatic Microbiology, LIN SB RAS, and the encrusting sponge *Baikalospongia* sp. raised by a diver from a depth of 5 m near Bolshiye Koty settlement and delivered to the laboratory in a container with Baikal water. Primmorphs were obtained using a mechanical dissociation method (Lavrov and Kosevich, 2014). Sponge cell suspension in Petri dishes with Baikal water was placed in a refrigerator (7°C) with a white fluorescent lamp and 24-hour illumination. The cups were visually inspected daily, and as soon as the primmorphs were formed, microscopic examination and photography were performed using an Axio Imager light microscope (Carl Zeiss, Germany). The number and size of the primomorphs were determined on microphotographs using the Image-Pro Plus program.

Pieces of biofilm of *Tychonema* sp. BBK16 of 3 mm² and 1 ml of Z-8 medium (Rippka, 1988) were added into the experimental dishes with primmorphs,

*Corresponding author.

E-mail address: naydanovay@bk.ru (Y.A. Naidanova)

Received: August 01, 2024; **Accepted:** August 12, 2024;

Available online: August 30, 2024

© Author(s) 2024. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



while only Z-8 medium was added to the control dish with primmorphs. During the experiment, microscopic examination and photographing of the samples were carried out.

3. Results and discussion

Reaggregation of sponge cells into primmorphs was noted on the 7th day of the experiment. In dish #1 297 primmorphs were formed, in dish #2 – 171, in dish #3 – 166. The average size of the primmorphs was 355 μm . *Tychonema* sp. biofilm was broken into fragments using a micropipette and added to Petri dishes #2 and #3 one fragment each.

On the 21st day of the experiment, the cyanobacterium *Tychonema* sp. attached to the primmorphs and the bottom of the Petri dishes, forming a visible biofilm. Microscopy of the samples showed complete intact primmorphs and sponge cells in the control (Fig. a-b). In the experimental dishes, the filaments of cyanobacteria braided and permeated the primmorphs,

destroying their globular structure and in places forming a thick biofilm (Fig. c-d).

On the 43rd day of the experiment, death of the primmorphs and overgrowth of the cyanobacterial biofilm were observed (Fig. e-f). The number of primmorphs not colonized by *Tychonema* cyanobacterium was 1-3 pcs, i.e. more than 99% of the primmorphs died. In the control dish the primmorphs retained bright green coloration and dense globular structure.

Thus, we visually confirmed the earlier hypothesis about the tropism of this cyanobacterium to the sponge body (Sorokovikova et al., 2020). Unlike other known species of the genus *Tychonema* (Komárek and Anagnostidis, 2005), *Tychonema* sp. BBK16 from Lake Baikal has creeping motility and actively occupies the surrounding environment. According to recent data, the disease of endemic Baikal sponges associated with the formation of *Tychonema* biofilms on their bodies was in the second place after the disease in the form of tissue necrosis (Maikova et al., 2023). The formation of biofilms on sponges indicates the invasive or

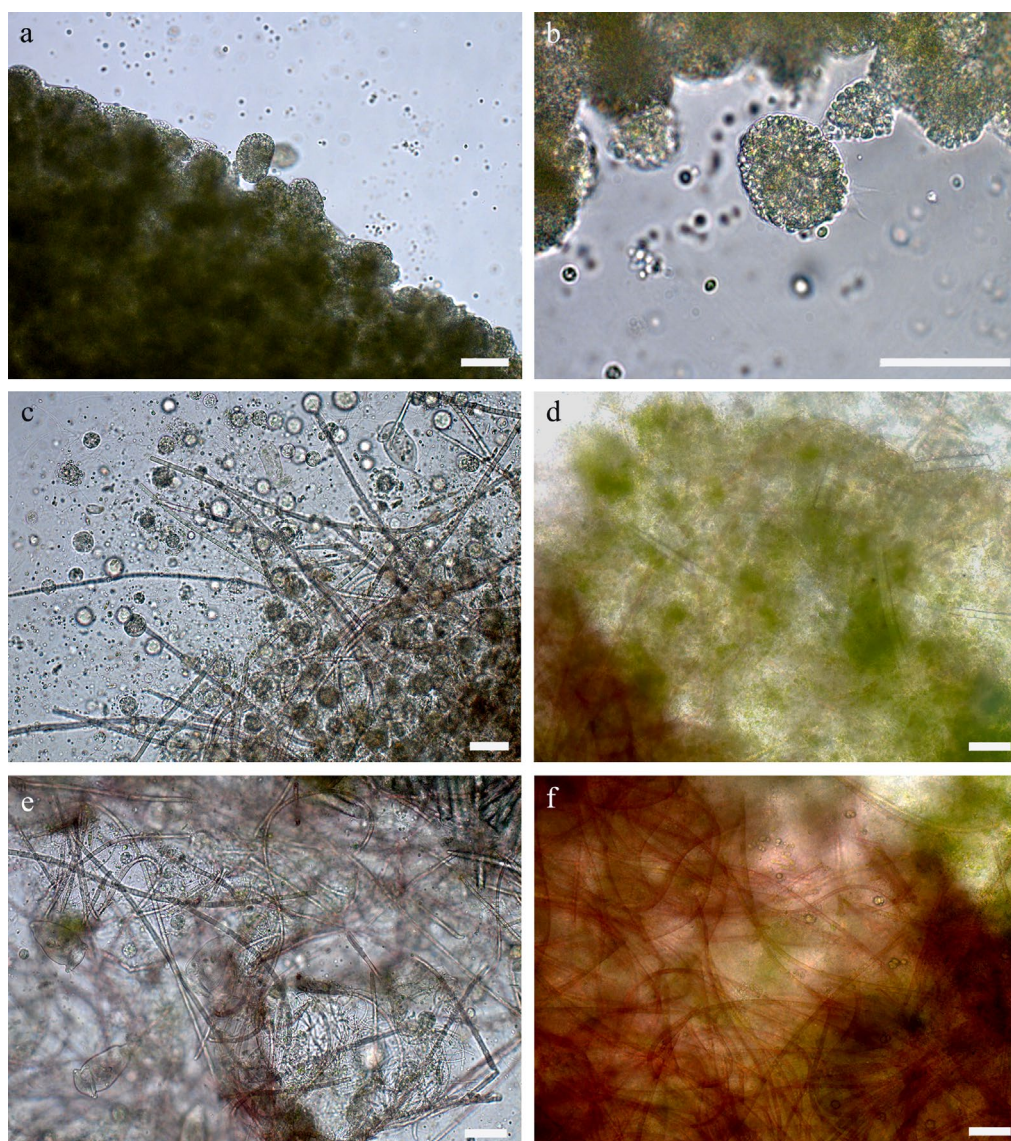


Fig. Light microscopy of the experiment on co-cultivation of *Tychonema* sp. and *Baikalospongia* sp. primmorphs. Control: a – edge of the primmorph, b – sponge cells and small globular cells of the symbiont green alga. Experiment: c – day 21, cyanobacterial filaments permeate the primmorph, destroying its structure, sponge cells separated from the primmorph are shown; d – a part of the primmorph with a thick biofilm (bottom left corner) and with separate *Tychonema* filaments; e, f – day 43, primmorph globules are destroyed, sponge cells are absent and replaced by *Tychonema* biofilm. Scale bar 50 μm .

harmful nature of the impact of cyanobacteria on animals. It was shown that biofilms of *Tychonema* sp. can cause serious damages – lesions on the body of sponges (Sorokovikova et al., 2020).

Presumably, the reason for the high tropism of *Tychonema* sp. BBK16 to sponges is the ability of this cyanobacterium to mixotrophy, which allows it to utilize organic substances released during the decomposition of the sponge body. Investigation of the genome of *Tychonema* sp. BBK16 revealed the presence of a number of mixotrophy genes: the *aapJQMP* locus encoding the amino acid transport system, the *PhnECD* locus encoding the phosphonate transport system, *glnQ*, a gene encoding the glutamine transport system, an ATP-binding protein, and homologs of the *proV* and *proW* genes encoding transporters involved in dimethylsulfoniopropionate (DMSP) uptake (Evseev et al., 2023). The ability to assimilate organic nutrients is associated with transporters required for the uptake of organic compounds (Muñoz-Marín et al., 2020). The uptake of sugars by cyanobacteria has been shown experimentally to be associated with the presence of GlcH permease, a high-affinity glucose transporter (Moreno-Cabezuelo et al., 2019), and GlcP permease (Zhang et al., 1989). Genes for these glucose transporters were found in the genome of *Tychonema* sp. BBK16, supporting its ability to assimilate sugars from the environment (Evseev et al., 2023).

4. Conclusions

In the experiment of culturing *Tychonema* sp. BBK16 with *Baikalospongia* sp. primmorphs, the tropism of the cyanobacterium to the sponge body was confirmed and the gradual destruction of the structure of the primmorphs and the death of sponge cells due to filament fouling by the cyanobacterium were recorded.

Acknowledgements

The work was carried out on the basis of “Experimental freshwater aquarium complex of Baikal hydrobionts” LIN SB RAS with the financial support of the state task № 0279-2021-0015. The authors are grateful to the crew of R/V “Titov” for their assistance in sampling.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Demoulin C.F., Lara Y.J., Cornet L. et al. 2019. Cyanobacteria evolution: Insight from the fossil record. *Free*

radical biology and medicine 140: 206-223. DOI: [10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.007](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.007)

Evseev P., Tikhonova I., Krasnopeeov A. et al. 2023. *Tychonema* sp. BBK16 characterisation: Lifestyle, phylogeny and related phages. *Viruses* 15: 442. DOI: [10.3390/v15020442](https://doi.org/10.3390/v15020442)

Ford A.K., Bejarano S., Nugues M.M. et al. 2018. Reefs under siege – the rise, putative drivers, and consequences of benthic cyanobacterial mats. *Frontiers in Marine Science* 5. DOI: [10.3389/fmars.2018.00018](https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00018)

Komárek J., Anagnostidis K. 2005. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd. 19 (2). Cyanoprokaryota 2. Teil/Part 2: Oscillatoriales. München, Germany: Springer. 759 p.

Lavrov A., Kosevich I. 2014. Sponge cell reaggregation: mechanisms and dynamics of the process. *Russian Journal of Developmental Biology* 45: 205-223. DOI: [10.1134/S1062360414040067](https://doi.org/10.1134/S1062360414040067)

Maikova O.O., Bukshuk N.A., Kravtsova L.S. et al. 2023. Sponge Fauna of Lake Baikal in the Monitoring System: Six Years of Observations. *Contemporary Problems of Ecology* 16: 8–18. DOI: [10.1134/S1995425523010043](https://doi.org/10.1134/S1995425523010043)

Moreno-Cabezuelo J.Á., López-Lozano A., Díez J. et al. 2019. Differential expression of the glucose transporter gene *glcH* in response to glucose and light in marine picocyanobacteria. *PeerJ* 6: e6248. DOI: [10.7717/peerj.6248](https://doi.org/10.7717/peerj.6248)

Muñoz-Marín M.C., Gómez-Baena G., López-Lozano A. et al. 2020. Mixotrophy in marine picocyanobacteria: use of organic compounds by *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *The ISME journal* 14: 1065-1073. DOI: [10.1038/s41396-020-0603-9](https://doi.org/10.1038/s41396-020-0603-9)

Quiblier C., Wood S., Echenique-Subiabre I. et al. 2013. A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria – Ecology, toxin production and risk management. *Water Research* 47: 5464-5479. DOI: [10.1016/j.watres.2013.06.042](https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.042)

Rippka R. 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods in Enzymology* 167: 3-27. DOI: [10.1016/0076-6879\(88\)67004-2](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)67004-2)

Rützler K. 1988. Mangrove sponge disease induced by cyanobacterial symbionts: failure of a primitive immune system? *Diseases of Aquatic Organisms* 5: 143-149

Schopf J.W. 1993. Microfossils of the early Archean apex chert: New evidence of the antiquity of life. *Science* 260: 640-646. DOI: [10.1126/science.260.5108.640](https://doi.org/10.1126/science.260.5108.640)

Sorokovikova E., Belykh O., Krasnopeeov A. et al. 2020. First data on cyanobacterial biodiversity in benthic biofilms during mass mortality of endemic sponges in Lake Baikal. *Journal of Great Lakes Research* 46: 75-84. DOI: [10.1016/j.jglr.2019.10.017](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.10.017)

Timoshkin O.A., Samsonov D.P., Yamamuro M. et al. 2016. Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world’s greatest freshwater biodiversity in danger? *Journal of Great Lakes Research* 42: 487–497. DOI: [10.1016/j.jglr.2016.02.011](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2016.02.011)

Zhang C.C., Durand M.C., Jeanjean R. et al. 1989. Molecular and genetical analysis of the fructose-glucose transport system in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803. *Molecular Microbiology* 3: 1221-1229

Исследование тропности *Tychoneta* sp. к телу губки в эксперименте по совместному культивированию цианобактерии с примморфами

Краткое сообщение

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Найданова Я.А.* , Сороковикова Е.Г., Тихонова И.В., Ханаев И.В., Белых О.И.

Лимнологический институт, Сибирское отделение Российской академии наук, Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. Массовая гибель эндемичных губок, сопровождаемая ростом на их телах цианобактериальных биопленок, регистрируется в последние годы в оз. Байкал. Эти биопленки формирует цианобактерия *Tychoneta* sp., которая развивается на различных типах субстратов в прибрежной зоне и часто встречается на губках. Целью исследования было провести эксперимент по совместному культивированию *Tychoneta* sp. с примморфами *Baikalospongia* sp. для проверки гипотезы о тропности байкальской цианобактерии к телу губок. В эксперименте зарегистрировано постепенное обрастание примморфов нитями цианобактерии, разрушение их структуры и гибель клеток губки. В контроле без добавления цианобактерии примморфы все время эксперимента оставались живыми.

Ключевые слова: заболевание губок, озеро Байкал, бентосные цианобактерии

Для цитирования: Найданова Я.А., Сороковикова Е.Г., Тихонова И.В., Ханаев И.В., Белых О.И. Исследование тропности *Tychoneta* sp. к телу губки в эксперименте по совместному культивированию цианобактерии с примморфами // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 1020-1025. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1020

1. Введение

Цианобактерии – древнейшие фотосинтезирующие организмы на Земле, их возраст насчитывает около 3.5 млрд лет (Schopf, 1993). В процессе эволюции биосферы цианобактерии не только создали условия, необходимые для возникновения и жизни эукариот – кислородную атмосферу, но также явились предками хлоропластов растений (Demoulin et al., 2019). Способность цианобактерий адаптироваться к самым разным условиям среды, в том числе и экстремальным, позволила им захватить практически все экологические ниши. Бентосные цианобактерии образуют биопленки или кустистые обрастания на дне водоемов, могут синтезировать разнообразные токсины, опасные для человека и животных (Quiblier et al., 2013). Цианобактериальные биопленки, выросшие на губках и кораллах, вызывают болезни и гибель этих морских животных (Rützler, 1988; Ford et al., 2018).

В озере Байкал бентосные цианобактерии очень разнообразны, а в последнее время их численность резко возросла. Они стали использоваться в качестве субстрата эндемичные губки, вызывая их разрушение и гибель (Sorokovikova et al., 2020). Среди видов, поселяющихся на губках, выделяется

цианобактерия *Tychoneta* sp. Ее ярко-красные биопленки давно привлекли внимание исследователей (Timoshkin et al., 2016).

Цель работы – провести эксперимент по совместному культивированию цианобактерии с примморфами *Baikalospongia* sp. и проверить гипотезу о тропности байкальской *Tychoneta* sp. к телу губок.

2. Материалы и методы

Для эксперимента использовали штамм *Tychoneta* sp. ВВК16 из коллекции культур цианобактерий лаборатории водной микробиологии ЛИИ СО РАН и корковую губку *Baikalospongia* sp., поднятую водолазом с глубины 5 м вблизи пос. Большие Коты и доставленную в лабораторию в контейнере с байкальской водой. Примморфы были получены с использованием механического метода диссоциации (Lavrov and Kosevich, 2014). Суспензию клеток губки в чашках Петри с байкальской водой помещали в холодильник (7°C) с белой люминесцентной лампой и круглосуточным освещением. Ежедневно проводили визуальный осмотр чашек, как только образовались примморфы проводили микроскопи-

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: naydanova_y@bk.ru (Я.А. Найданова)

Поступила: 01 августа 2024; Принята: 12 августа 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

© Автор(ы) 2024. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



ческое исследование и фотографирование с использованием светового микроскопа Axio Imager (Carl Zeiss, Германия). Количество и размер примморфов определяли на микрофотографиях с помощью программы Image-Pro Plus.

В экспериментальные чашки с примморфами добавили кусочки биопленки *Tychoneta* sp. BVK16 размером 3 мм² и 1 мл среды Z-8 (Rippka, 1988), в контрольную чашку с примморфами добавили только среду Z-8. В ходе эксперимента проводили микроскопическое исследование и фотографирование образцов.

3. Результаты и обсуждение

Реагрегация клеток губки в примморфы была отмечена на 7-й день эксперимента. В чашке №1 сформировалось 297 примморфов, в чашке № 2 – 171, в чашке № 3 – 166. Средний размер прим-

морфов составил 355 мкм. Биопленку *Tychoneta* sp. с помощью пипетки разбили на фрагменты и добавили в чашки Петри № 2 и № 3 по одному фрагменту.

На 21-й день эксперимента цианобактерия *Tychoneta* sp. прикрепилась к примморфам и дну чашек Петри, образовав видимую биопленку. Микроскопия образцов показала полную сохранность примморфов и клеток губки в контроле (Рис. а-б). В экспериментальных чашках нити цианобактерии оплетали и пронизывали примморфы, разрушая их глобулярную структуру, и, местами образуя сплошную биопленку (Рис. в-г).

На 43-й день эксперимента отмечали гибель примморфов и разрастание биопленки (Рис. д-е). Количество примморфов, не колонизированных цианобактерией, составило 1-3 шт., т.е. более 99% примморфов погибли. В контрольной чашке примморфы сохраняли ярко-зеленую окраску и плотную шаровидную структуру.

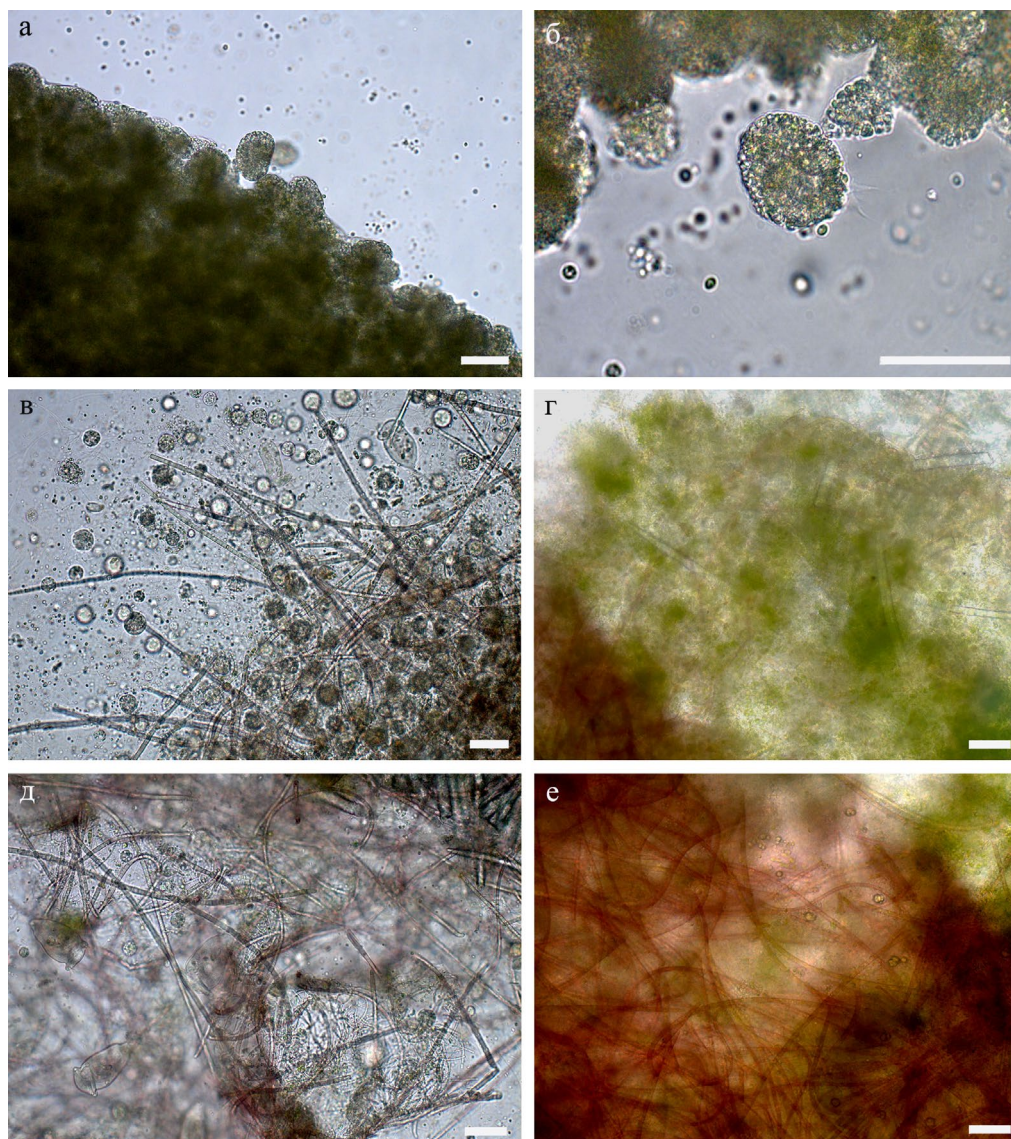


Рис. Световая микроскопия эксперимента по совместному культивированию *Tychoneta* sp. и примморфов *Baikalospongia* sp. Контроль: а – край примморфа, б – клетки губки и мелкие шаровидные клетки симбионтной зеленой водоросли. Эксперимент: в – 21 день, нити цианобактерии пронизывают примморф, разрушая его структуру, видны отделившиеся от примморфа клетки губки; г – участок примморфа со сплошной биопленкой (левый нижний угол) и с отдельными нитями *Tychoneta*; д, е – 43 день, глобулы примморфов разрушены, клетки губки отсутствуют и заместились на биопленку *Tychoneta*. Масштабная линейка 50 мкм.

Таким образом мы наглядно подтвердили высказанное ранее предположение о тропности данной цианобактерии к телу губки (Sorokovikova et al., 2020). В отличие от других известных видов рода *Tychonema* (Komárek and Anagnostidis, 2005), *Tychonema* sp. ВВК16 из оз. Байкал обладает ползающей подвижностью и активно осваивает окружающее пространство. По последним данным, заболевание эндемичных байкальских губок, связанное с формированием на их телах биопленок *Tychonema*, находилось на втором месте после заболевания в виде некроза тканей (Maikova et al., 2023). Формирование биопленок на губках свидетельствует об инвазивном или негативном характере воздействия цианобактерий на животных. Показано, что биопленки *Tychonema* sp. способны провоцировать возникновение серьезных повреждений – язв на теле губок (Sorokovikova et al., 2020).

Предположительно, причиной высокого тропизма *Tychonema* sp. ВВК16 к губкам является способность данной цианобактерии к миксотрофии, позволяющая использовать органические вещества, высвобождающиеся при разрушении тела губки. Исследование генома *Tychonema* sp. ВВК16 выявило наличие целого ряда генов миксотрофии: locus *aarJQMP*, кодирующий систему транспорта аминокислот, locus *PhnECD*, кодирующий систему транспорта фосфонатов, *glnQ* – ген, кодирующий систему транспорта глутамина, АТФ-связывающий белок и гомологи генов *proV* и *proW*, кодирующих транспортеры, участвующие в захвате диметилсульфониопропионата (ДМСП) (Evseev et al., 2023). Способность усваивать органические питательные вещества связана с транспортерами, необходимыми для поглощения органических соединений (Muñoz-Marín et al., 2020). Экспериментально было показано, что поглощение сахаров цианобактериями связано с присутствием пермеазы GlcH, высокоаффинного переносчика глюкозы (Moreno-Cabezuelo et al., 2019), и пермеазы GlcP (Zhang et al., 1989). Гены данных переносчиков глюкозы были обнаружены в геноме *Tychonema* sp. ВВК16, подтверждая ее способность усваивать сахара из окружающей среды (Evseev et al., 2023).

4. Выводы

В эксперименте по культивированию *Tychonema* sp. ВВК16 с примморфами *Baikalospongia* sp. был подтвержден тропизм цианобактерии к телу губки и зарегистрированы постепенное разрушение структуры примморфов и гибель клеток губки вследствие обрастания нитями цианобактерии.

Благодарности

Работа проводилась на базе «Экспериментального пресноводного аквариумного комплекса байкальских гидробионтов» ЛИН СО РАН при финансовой поддержке гос. задания № 0279-2021-0015. Авторы выражают благодарность экипажу НИС «Титов» за помощь в отборе проб.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Demoulin C.F., Lara Y.J., Cornet L. et al. 2019. Cyanobacteria evolution: Insight from the fossil record. *Free radical biology and medicine* 140: 206-223. DOI: [10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.007](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.007)
- Evseev P., Tikhonova I., Krasnopeev A. et al. 2023. *Tychonema* sp. ВВК16 characterisation: Lifestyle, phylogeny and related phages. *Viruses* 15: 442. DOI: [10.3390/v15020442](https://doi.org/10.3390/v15020442)
- Ford A.K., Bejarano S., Nugues M.M. et al. 2018. Reefs under Siege—the rise, putative drivers, and consequences of benthic cyanobacterial mats. *Frontiers in Marine Science* 5. DOI: [10.3389/fmars.2018.00018](https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00018)
- Komárek J., Anagnostidis K. 2005. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd. 19 (2). Cyanoprokaryota 2. Teil/Part 2: Oscillatoriales. München: Springer. 759 p.
- Lavrov A., Kosevich I. 2014. Sponge cell reaggregation: mechanisms and dynamics of the process. *Russian Journal of Developmental Biology* 45: 205-223. DOI: [10.1134/S1062360414040067](https://doi.org/10.1134/S1062360414040067)
- Maikova O.O., Bukshuk N.A., Kravtsova L.S. et al. 2023. Sponge fauna of Lake Baikal in the monitoring system: six years of observations. *Contemporary Problems of Ecology* 16: 8–18. DOI: [10.1134/S1995425523010043](https://doi.org/10.1134/S1995425523010043)
- Moreno-Cabezuelo J.Á., López-Lozano A., Díez J. et al. 2019. Differential expression of the glucose transporter gene *glcH* in response to glucose and light in marine picocyanobacteria. *PeerJ* 6: e6248. DOI: [10.7717/peerj.6248](https://doi.org/10.7717/peerj.6248)
- Muñoz-Marín M.C., Gómez-Baena G., López-Lozano A. et al. 2020. Mixotrophy in marine picocyanobacteria: use of organic compounds by *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *The ISME journal* 14: 1065-1073. DOI: [10.1038/s41396-020-0603-9](https://doi.org/10.1038/s41396-020-0603-9)
- Quiblier C., Wood S., Echenique-Subiabre I. et al. 2013. A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria – ecology, toxin production and risk management. *Water Research* 47: 5464-5479. DOI: [10.1016/j.watres.2013.06.042](https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.042)
- Rippka R. 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods in Enzymology* 167: 3-27. DOI: [10.1016/0076-6879\(88\)67004-2](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)67004-2)
- Rützler K. 1988. Mangrove sponge disease induced by cyanobacterial symbionts: failure of a primitive immune system? *Diseases of Aquatic Organisms* 5: 143-149
- Schopf J.W. 1993. Microfossils of the early archaean apex chert: new evidence of the antiquity of life. *Science* 260: 640-646. DOI: [10.1126/science.260.5108.640](https://doi.org/10.1126/science.260.5108.640)
- Sorokovikova E., Belykh O., Krasnopeev A. et al. 2020. First data on cyanobacterial biodiversity in benthic biofilms during mass mortality of endemic sponges in Lake Baikal. *Journal of Great Lakes Research* 46: 75-84. DOI: [10.1016/j.jglr.2019.10.017](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.10.017)
- Timoshkin O.A., Samsonov D.P., Yamamuro M. et al. 2016. Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world's greatest freshwater biodiversity in danger? *Journal of Great Lakes Research* 42: 487–497. DOI: [10.1016/j.jglr.2016.02.011](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2016.02.011)
- Zhang C.C., Durand M.C., Jeanjean R. et al. 1989. Molecular and genetical analysis of the fructose-glucose transport system in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803. *Molecular Microbiology* 3: 1221-1229.