

· 综述 ·

海绵动物原位移植的研究进展

陈 军¹, 王德祥^{1,2}, 欧徽龙¹, 丁少雄^{1*}

(1. 厦门大学海洋与地球学院海洋生物科学与技术系, 福建 厦门 361101;

2. 厦门大学海洋生物多样性与全球变化研究中心, 福建 厦门 361101)

摘要: 海绵拥有许多在结构上非常多样化的生物活性物质, 是最具药物开发潜力的海洋生物资源, 但是海绵资源的供给问题限制了海绵生物活性物质的开发。科研人员采取了多种策略以解决药源海绵的生物资源供给问题, 多年实践表明, 海区原位移植可能是短期内最具可行性的策略。本文对近 20 年来全球药源海绵的海区原位移植实践进行综述, 总结出包括移植方式、食物、移植块大小、水流和深度等海绵原位移植的要点: ①海绵块固着要牢固; ②滤食通道要通畅; ③海区具有较丰富的粒径小于 8 μm 的颗粒有机物; ④水流适中, 不能冲散海绵块; ⑤移植块大小适中; ⑥合适的光照强度; ⑦部分活性产物的积累对环境要求苛刻, 要做好前期调查。并指出了原位移植操作并不影响海绵中生物活性物质的含量。研究表明, 在我国开展大规模的海区原位移植来解决海绵资源供给问题是完全可行的, 并提出了在未来实践中要注意克服的 3 个问题: ①环境差异大的异地移植不易成功; ②可能出现的病害问题; ③有性繁殖后代的培植。

关键词: 海绵; 养殖; 原位移植; 无性繁殖

中图分类号: S 917.3

文献标志码: A

海绵动物隶属多孔动物门(Porifera), 被誉为最原始的多细胞动物, 其种类繁多, 营滤食生活, 对维持水环境生态系统稳定具有重要作用。人们对海绵的应用历史悠久, 西方国家对海绵的利用可以回溯到公元前 700 年, 荷马和亚里士多德都描述了海绵的医药应用^[1], 一直到 19 世纪末, 海绵曾广泛应用于外科手术, 例如蘸了鸦片的海绵用于手术前的麻醉^[2]。除了生物医药的应用, 浴用海绵也曾经具有很高的商业价值。1960 年以前, 在地中海、大西洋和太平洋沿岸浴用海绵的商业化养殖较为兴盛, 但自从浴用海绵的化工替代品推出后, 这个产业逐渐衰退, 目前仅在高端市场还有保留^[3]。随着近年来海绵活性产物药用价值的挖掘, 以生产海洋天然产物为目的的海绵养殖又将逐步繁盛。

海绵的药用价值体现在其拥有多种显著抗

菌、抗病毒、抗肿瘤、抗炎和抗 HIV 等生物活性的物质, 在目前发现的 20 000 多种海洋天然产物中, 有 7 000 多种来自海绵, 并以每年 200 余种新化合物的发现速度递增^[4]。但是海绵活性产物含量很低, 天然生长的海绵无法提供足够的生物量用于活性产物的提取, 严重制约了对海绵药用价值的开发^[5]。各国科学家尝试了多种策略以解决海绵生物量低的问题, 比如海绵细胞团(primmophs)的高密度发酵、海绵的室内移植(*ex situ explant*)和原位移植(*in situ explant*)等策略^[3-4, 6-9]。海绵细胞团发酵技术由于缺乏能稳定继代的细胞株而难以解决实际问题^[10]; 室内移植技术也没有突破, 现有的报道都表明海绵移植体在室内经常呈现生长停滞甚至消亡^[11-14], 因此, 室内养殖短期内同样无法形成产业前景; 原位移植技术由于便宜易行, 有多个成功案例, 很可

收稿日期:2015-05-01 修回日期:2015-07-24

资助项目:厦门南方海洋研究中心项目(13GYY002 NF07); 中国大洋矿产资源研究开发协会(DY125-22-QY-18)

通信作者:丁少雄, E-mail: sxding@xmu.edu.cn

能是解决海绵生物量瓶颈的突破点。本文将对近 20 年来全球药源海绵的原位移植案例进行综述,并结合已有的实践提出药源海绵原位移植的要点和未来要克服的难点。

1 药源海绵在天然海区原位移植实例

海绵的原位移植是指利用海绵强大的再生能力,将天然海绵小心切割为小块,然后通过绳子、网兜或笼子把这些移植体固定在人工设施上,放回本地海区后海绵移植体会迅速愈合伤口,再生出水沟系统,并利用海水中适合的饵料生长,获得更多的

海绵生物量。将海绵切成小块移植的概念始于 19 世纪,Voultsiadou^[1]报道了海绵的移植和浴用海绵在北亚得里亚海的养殖。尽管海绵原位移植的概念和实践有了很长的历史,但海绵养殖依然存在一些难题,比如敌害、污损、病害、恶劣天气和退化。表 1 总结了近 20 年来报道的海绵原位移植实例,其中,持续 1 年以上的实例有 12 个,这些实例的海绵年生长率在 -157% ~ 2437% (最高值和最低值均来自同一个研究小组);生长最快的实例是 *Mycale hentscheli* 在 250 d 后增长 34 倍。这些实例为可持续的海绵养殖提供了重要参考。

表 1 近 20 年来天然海区药源海绵的原位移植试验
Tab.1 *In situ* sponge aquaculture in the past 20 years

物种	挂养方式	海域,水深	生存率	生长率	文献
<i>Discodermia dissoluta</i>	网兜	加勒比海,18 m	6 个月 93%	6 个月 20% ~ 39%	[15]
<i>Dysidea avara</i>	塑料夹	爱琴海,渔排下,21 m	4 个月 100%	4 个月 137%	[16]
<i>Dysidea avara</i>	水平绳	爱琴海,渔排下,21 m	1 年 90% ~ 100%	1 年 100%	[16]
<i>Dysidea avara</i>	水平绳	爱琴海,18 m	1 年 90% ~ 100%	1 年 0	[16]
<i>Dysidea avara</i>	胶水固定	西地中海,8 m	10 个月 40%	10 个月 468.9%	[17]
<i>Dysidea avara</i>	水平绳	西地中海,8 m	10 个月 11%	10 个月 145.25%	[17]
<i>Dysidea avara</i>	塑料笼,网孔 1 cm 见方	西地中海,8 m	10 个月 70%	10 个月 166.75%	[17]
<i>Haliclona oculata</i>	绳子绑在水泥板上	荷兰沿海,13 m	2005.9 - 2006.7, 100%; 2006.8 - 9, 全部消亡,可能是自然现象	10 个月 10 ~ 14 倍	[18]
<i>Negombata magnifica</i>	用 0.5 mm 鱼线固定在 PVC 板上	红海,10 m,20 m	18 个月 56%	1 年 298% ~ 309%	[19]
<i>Amphimedon chloros</i>	用 0.5 mm 鱼线固定在 PVC 板上	红海,10 m,20 m	24 个月 18%	1 年 42% ~ 61%	[19]
<i>Theonella swinhoei</i>	用 0.5 mm 鱼线固定在 PVC 板上	红海,10 m,20 m	24 个月 11% ~ 22%	1 年 -36% ~ -19%	[19]
<i>Negombata magnifica</i>	用 0.5 mm 鱼线固定在 PVC 板上	红海,10 m,20 m	177 天 71.4%	177 天 211%	[20]
<i>Mycale cecilia</i>	固定在瓷砖上	墨西哥太平洋,3 ~ 6 m	60 天 95%	60 天 207%	[21]
<i>Mycale hentscheli</i>	水平绳, 2001—2002 年	新西兰 Pelorus Sound, 贻贝养殖场,5 ~ 10 m	操作意外损失 10%	1 年 2437%	[22 - 23]
<i>Mycale hentscheli</i>	水平绳, 2002—2003 年	新西兰 Pelorus Sound, 贻贝养殖场,5 ~ 10 m	95%	1 年 1877%	[22]
<i>Mycale hentscheli</i>	水平绳, 2004—2007 年, F ₀ 代移植体	新西兰 Pelorus Sound, 贻贝养殖场,5 ~ 10 m	无数据 n. d.	1 年 1355%	[22]
<i>Mycale hentscheli</i>	水平绳, 2004—2007 年, F ₁ 代移植体	新西兰 Pelorus Sound, 贻贝养殖场,5 ~ 10 m	无数据 n. d.	1 年 359%	[22]

续表 1

<i>Mycale hentcheli</i>	水平绳, 2004 - 2007, F ₂ 代移植体	新西兰 Pelorus Sound, 贻贝养殖场, 5 ~ 10 m	第一个月 95%, 第二个月开始发现大量捕食者	1 年 -157%	[22]
<i>Mycale hentcheli</i>	网兜阵	新西兰 Capsize Point, 7 m	250 天 100%	250 天 3365%	[24]
<i>Mycale hentcheli</i>	网兜阵	新西兰 Mahanga Bay, 7 m	214 天 90%	214 天 2749%	[24]
<i>Psammocinia hawere</i>	垂直网框	新西兰东北沿海, 5 ~ 10 m	夏季 82 天, 冬季 88 天, 77%	负增长	[25]
<i>Raspailia agminata</i>	网兜	新西兰东北沿海, 5 ~ 10 m	262 天 56% ~ 84%	262 天 -50% ~ 50%	[25]
<i>Raspailia topsenti</i>	垂直网框	新西兰东北沿海, 5 ~ 10 m	223 天 17.5%	负增长	[25]
<i>Latrunculia sp. nov</i>	筛网阵; 绳子	新西兰 Mahanga Bay, 10 m	85 天, 筛网 100%; 绳子 3%	85 天 -47% ~ 13%	[26]
<i>Polymastia crocea</i>	筛网阵; 绳子	新西兰 Mahanga Bay, 10 m	87 天, 筛网 98% ~ 100%	87 天 -19% ~ 13%	[26]
<i>Raspailia agminata</i>	筛网阵; 绳子	新西兰 Mahanga Bay, 10 m	103 天, 筛网 98%	103 天负增长	[26]
<i>Latrunculia wellingtonensis</i>	筛网阵; 垂直绳阵列	新西兰 Mahanga Bay, 12 m	285 天, 筛网 59%; 绳阵 23%	285 天最高 1000%	[27]
<i>Polymastia croceus</i>	筛网阵; 垂直绳阵列	新西兰 Mahanga Bay, 12 m	285 天, 筛网 96%; 绳阵 59%	285 天最高 684%	[27]
<i>Latrunculia wellingtonensis</i>	筛网阵	新西兰 Wellington Harbour 3 个地点, 5 m, 10 m	1 年, 最高冬天 78%; 最低夏天 24%	1 年 -50% ~ 30%	[28]
<i>Polymastia croceus</i>	筛网阵	新西兰 Wellington Harbour 3 个地点, 5 m, 10 m	1 年, 最高秋天 98%; 最低夏天 79%	1 年 -17% ~ 50%	[28]
<i>Rhopaloeides odorabile</i>	水平绳	澳大利亚北昆士兰, 11 m	78 天 60%	21 个月 146.0%	[29]
<i>Coscinoderma sp.</i>	水平绳	澳大利亚北昆士兰, 11 m	78 天 90%	21 个月 195.9%	[29]
<i>Mycale phyllophila</i>	垂直绳, 网片	中国东山湾, 2 ~ 6 m	60 天 100%	60 天 472.1%	[30]

2 影响海绵生长的因素

2.1 移植方式

良好的固着基底是海绵动物生长的前提, 研究者们使用了多样化的移植方式(表 1)。Duckworth 等^[27-28]曾使用绳子移植以及网兜移植对几种新西兰海绵进行移植实验, 结果显示这两种方式都适合海绵动物的移植, 但海绵块固定的牢固性和水流通畅度是决定产率的重要因素: 绳子上的螺纹可以提高海绵固着面积; 而大网孔可以保证水流顺畅, 利于海绵动物的滤食吸收营

养。de Caralt 等^[17]试验了水平绳、胶水固定和塑料笼养殖方式, 10 个月后水平绳、胶水固定和塑料笼方式的生存率分别为 11%、40% 和 70%, 前两者生存率较低的原因是湍流冲走了移植块。这 3 种方式 10 个月增长率分别为 145%、469% 和 142%, 胶水固定方式比其他 2 种方式提高 3 倍以上。生存率较高的塑料笼方式在 6 个月后生长几乎停滞, 其原因可能是附着基不足或其他附着生物将网孔堵塞, 限制了海绵的水流交换。而胶水固定方式为海绵提供了开放的附着空间和通畅的水流, 移植体度过前期湍流冲刷之后, 获得了非常

有利的生长环境。Page 等^[24]使用网兜阵的方式移植山海绵 *Mycale hentscheli*,即由一个垂直的网兜管分隔出来的连续的网兜结构,每个网兜放一个移植体,8 个月海绵增长了 33 倍,获得了所有实例中最高增长率。这一种网兜阵方式是在网兜移植基础上的改进,不仅保证了水流的顺畅,同时也合理地利用了移植空间。本课题组在中国福建沿岸对海绵动物也进行了原位移植的研究^[30],主要的移植方式除了使用绳子和网兜之外,还发明了专门的海绵移植块移植模具。通过长期的实验,发现这 3 种模式中,模具移植可以使海绵获得最好的生长。

2.2 食物

海绵动物获取营养物质的方式主要是通过水沟系统截留水中的有机颗粒物。室内养殖数据表明饵料的大小和浓度是影响摄食效率的主要因素。Osinga 等^[23]在室内使用两种不同大小的藻类作为海绵动物的饵料,结果显示颗粒大小为 5~8 μm 的藻类在浓度高于 4×10^5 个/mL 时,海绵动物的摄食效率明显降低;而颗粒大小为 1 μm 的藻类,浓度高达同样的数值时对海绵动物的摄食效率并没有产生影响。Duckworth 等^[31]在 2003 年使用细菌、微型藻类以及酵母组成的混合饵料对海绵的室内养殖进行实验,结果显示 3 倍天然浓度的饵料获得最佳生长,但 5 倍天然浓度抑制了海绵的生长,原因可能是长期的高浓度食物环境堵塞了海绵的水沟系统。在自然海区生长的海绵由于水流的复杂性很难检测其食物组成。Duckworth 等^[27]进行了长达一年的海绵 *Haliclona oculata* 自然海区生长与水体有机物的相关性研究,发现水中悬浮的颗粒有机碳(POC)和颗粒有机氮(PON)与海绵的生长呈现正相关的趋势,而水中的氨、硝酸盐、亚硝酸盐和磷酸盐与海绵的生长却显著负相关。Hadas 等^[32]则仔细测量了移植海绵 *Negombata magnifica* 对不同大小颗粒有机物的截留率和总吸收颗粒有机碳(POC)和颗粒有机氮(PON),获得了下列重要数据:①海绵对颗粒有机物的截留率从 99% (光合细菌)到 37% (真核微藻,直径 $> 8 \mu\text{m}$);②海水中的碎屑贡献了 54% 的 POC,浮游微生物则贡献了 84% 的 PON;③海绵吸收的 POC 满足了 85% 的代谢需求,但要提高生物量则要加大 POC 输入。

海绵动物对饵料的种类没有明显的选择性。海绵能摄食微型浮游生物($< 10 \mu\text{m}$)以及微型浮游植物($< 2 \mu\text{m}$),种类包括浮游自养植物、细菌、原生动物、浮游动物以及各种碎屑^[33]。海绵能够持续过滤海水,对水中的颗粒物最高达 99% 的清滤率^[34-35],这也说明海绵动物不能主动选择饵料的种类。Topcu 等^[36]采用流式细胞以及稳定同位素等技术对浴用海绵 *Spongia officinalis* 的饵料组成进行了研究,结果显示海绵动物更倾向滤食直径较小的有机物,如海洋细菌,但是在食物贫乏的海底,它们也会滤食纳米级颗粒有机物以补充 C、N 的摄入。虽然海绵对于饵料的种类没有明显的选择性,但是不同的饵料对于海绵的生长具有不同的影响。Duckworth 等^[37]研究了 4 种细菌、3 种微型藻类以及 1 种酵母对海绵 *Halichondria melanadocia* 生长的影响,结果显示混合饵料喂养海绵的生长速度比单种细菌喂养的快 40%,而单一饵料之间生长速度的差距不显著。以上研究结果提示,进行海绵自然海区的移植,应该选择饵料种类丰富,浮游颗粒粒径 $< 8 \mu\text{m}$ 且丰度在 10^4 个/mL 左右的海域,这种区域特别适宜海绵的生长。

2.3 移植块大小

海绵移植块的大小对于海绵的存活率以及生长率同样具有很大影响。Duckworth 等^[25]将海绵 *Psammocinia hawere* 切割成 4 种不同体积的移植块,分别为 8、27、64 和 125 cm^3 。结果显示,体积为 8 cm^3 的移植块具有最高的死亡率和最低的生长率,其他 3 种体积移植块的生长率和存活率不具有显著性的差异。对浴海绵 *Coscinoderma* sp. 切割成 3 种移植块体积,分别为 39、104 和 313 cm^3 。结果显示,104 cm^3 的移植块具有最高的存活率以及生长率。这表明海绵的移植块需要适宜的大小,偏小的移植块可能由于单位体积的创伤面更大,水沟系损伤更严重,导致显著降低滤食率、存活率以及生长率。当然,不同的海绵种类其适宜的挂养移植块大小不尽相同。由于人们能采集到的天然海绵数量有限,控制好移植块的合适体积不仅可以提高海绵移植的存活率,并且可以尽可能大的扩大养殖规模。

2.4 水流与深度

海绵动物的摄食方式主要是通过水流的作用带来食物,一般来说,较高的水流速度能带来较多

食物,这对海绵的摄食有利。Duckworth 等^[26-27]即认为,流速较高的移植位点的海绵生长速度要好于低流速位点,但水流速度并非越大越好,适合的水流速度因海绵种类而异。本课题组同样进行了水流对叶片山海绵原位移植效果影响的研究,结果显示水流较慢的场地,叶片山海绵具有较好的生长;而过快的水流则易导致叶片山海绵破碎而降低存活率和生长率,这可能是海绵把大部分能量消耗在提高支撑骨架的强度上^[30]。

移植深度对于海绵移植块的生长也具有一定的影响。Duckworth 等^[28]比较了水深 5 m 和 10 m 下的海绵 *Latrunculia wellingtonensis* 和 *Polymastia croceus* 生长率和存活率,结果表明水深 5 m 的海绵相对于水深 10 m 的海绵有更好的生长状况。由于海绵体内共生了大量的藻类和光合细菌,足够强度的光照可能对这些光合微生物有利,而较浅水域为海绵提供了相对较好的光照强度,从而促进了海绵的生长。本课题组的移植实验也表明,叶片山海绵和喘水苔海绵更适合移植在较浅的 (< 2 m) 海域中^[30]。

3 移植对活性物质含量的影响

养殖海绵的目的是为了提取其中的生物活性物质,人工干涉后生长出来的海绵是否保留了目标活性物质是科研人员非常关注的问题。多数研究表明移植行为不会影响海绵体内活性物质的含量。Duckworth 等^[27]检测了绳子和网兜移植 2 种方式下的两种海绵活性物质与天然海绵活性物质的差异性,结果显示,2 种移植条件下的海绵体内的活性物质含量相似,并且与天然生长的海绵体内活性物质含量不具有显著性差异。Carballo 等^[21]把 *Mycale cecilia* 移植在天然海区以及实验室的水族箱中,60 d 后分别检测这两种养殖方式下海绵体内 Mycalazal 类活性物质的含量,结果显示,2 种方式下都能够获得活性物质,其含量不具有显著性差异。Page 等^[24]将 *Mycale hentscheli* 移植在新西兰 2 个不同的地理区域,测定 3 种不同活性物质的表现。结果表明其活性产物 Mycalamide A 含量在不同地点不同个体中没有显著性变化;Pateamine 含量在不同个体中变化较大;而 Peloruside A 受环境条件影响较大,仅在本地环境下的移植体含有此活性产物,移植到另一个海区位点的移植体在 214 d 的试验周期后其

Peloruside A 含量完全消失。但在相同环境下,移植体与母体之间的 3 种活性物质含量都没有显著差异。这些实验表明,移植行为本身对活性物质的积累没有明显的相关性;而海区环境对某些活性产物的积累有影响,因而在确定移植地点之前要先调查活性产物的积累是否与环境有显著相关。

4 未来与展望

荷兰的 Wijffels 课题组从 1999 年开始对药源海绵生物量供给问题做了持续的综述^[1,13-14,16-17,38-39],从这些综述中可以看到海绵细胞高密度发酵和海绵室内养殖途径均存在很大的困难,而海区原位培养是最有可能成功的道路。近 20 年来国外的海区实验逐步建立了药源海绵原位移植的实验流程,并确认了影响海绵生长的一些重要因素。总体而言,良好的海绵动物原位培养需要符合以下条件:①海绵块固着牢固;②海绵滤食通畅;③海区具有较丰富的粒径 < 8 μm 的颗粒有机物;④水流适中,不能冲散海绵块;⑤移植块大小适中;⑥合适的光照强度;⑦部分活性产物的积累对环境要求苛刻,要做好前期调查。根据已有报道,此前国际上浴海绵的移植纪录可达到吨级,但移植的药源海绵产量的纪录仅为 180 kg^[22]。本课题组从 2011 年开始在福建东山湾开展了两种药源海绵的原位移植实验,不仅验证了以上条件,并总结出一些新的规律,原位移植药源海绵产量在 2013 年突破 1 t,在 2014 年突破 10 t,证明了在我国以原位移植方式解决海绵资源供给问题是可行的。

未来海绵的原位移植需要注意以下问题:①不同海绵有不同的环境要求,移植环境不能与原产地差别太大。本课题组曾将海南的海绵移植到福建的东山湾,结果表明移植个体成活率低、生长缓慢并无法越冬,可能原因是移植物种不适当当地水温环境。②高密度、连续时空的海绵养殖很可能将导致敌害肆虐。浴用海绵上百年的养殖历程中经常暴发毁灭性的病害^[3],未来的药源海绵大规模养殖同样需要正视这个问题。Page 等^[22]总结了对 *Mycale hentscheli* 连续 7 年 3 代养殖的经验教训,发现第一代移植体生长状况非常好;第二代(即从长大的第一代移植体再做切割移植)开始就发现了大量的海牛 *Hoplodoris*

nodulosa 摄食海绵;到第三代,海绵生物量开始呈现显著的负增长,在养殖海绵上 *H. nodulosa* 密度最高可达 2983 个/100 g 湿重,比野生海绵高几个数量级。这表明时空连续的养殖易为捕食者提供良好的生态位,而只有打断这种时空上的连续性才能减少敌害侵扰,因此药源海绵的大规模培养需要采取轮作方式来打破敌害的生态位连续性,降低灾害的发生。③有性繁殖问题,海绵体细胞不具有永生性,不能进行无限增殖^[10],因此连续的无性繁殖会导致后代个体呈现退化现象。要应对这个问题,就需要突破海绵的有性繁殖技术,实现海绵的全生活史培育,并保护当地的野生种质资源。只有天然群体或人工培育的有性繁殖群体才能为海区原位移植提供必需的种质延续与更新。

参考文献:

- [1] Voultziadou E. Sponges: An historical survey of their knowledge in Greek antiquity [J]. J Mar Biol Assoc UK, 2007, 87: 1757 - 1763.
- [2] Müller W E, Schroder H C, Wiens M, et al. Traditional and Modern Biomedical Prospecting: Part II - the Benefits: Approaches for a Sustainable Exploitation of Biodiversity (Secondary Metabolites and Biomaterials from Sponges) [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2004, 1(2): 133 - 144.
- [3] Duckworth A. Farming sponges to supply bioactive metabolites and bath sponges: a review [J]. Mar Biotechnol, 2009, 11(6): 669 - 679.
- [4] Schippers K J, Sipkema D, Osinga R, et al. Cultivation of sponges, sponge cells and symbionts: achievements and future prospects [J]. Adv Mar Biol, 2012, 62: 273 - 337.
- [5] Brummer F, Nickel M. Sustainable use of marine resources: cultivation of sponges [J]. Prog Mol Subcell Biol, 2003, 37: 143 - 162.
- [6] Osinga R, Tramper J, Wijffels R H. Cultivation of Marine Sponges [J]. Mar Biotechnol, 1999, 1(6): 509 - 532.
- [7] de Caralt S, Uriz M J, Wijffels R H. Cell culture from sponges: pluripotency and immortality [J]. Trends Biotechnol, 2007, 25(10): 467 - 471.
- [8] Koopmans M, Martens D, Wijffels R H. Towards commercial production of sponge medicines [J]. Mar Drugs, 2009, 7(4): 787 - 802.
- [9] Sipkema D, Osinga R, Schatton W, et al. Large-scale production of pharmaceuticals by marine sponges: sea, cell, or synthesis [J]? Biotechnol Bioeng, 2005, 90(2): 201 - 222.
- [10] Grasela J J, Pomponi S A, Rinkevich B, et al. Efforts to develop a cultured sponge cell line: revisiting an intractable problem [J]. In Vitro Cell Dev-An, 2012, 48(1): 12 - 20.
- [11] Sipkema D, Yosef N A, Adamczewski M, et al. Hypothesized kinetic models for describing the growth of globular and encrusting demosponges [J]. Mar Biotechnol, 2006, 8(1): 40 - 51.
- [12] Zang W, Xue L Y, Fu W T, et al. Cultivation rule of sponge *Hymeniacidon perleve* in bioreactors [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(4): 430 - 436. [张卫, 薛凌云, 付晚涛, 等. 繁茂膜海绵的实验室养殖. 中国水产科学, 2005, 12(4): 430 - 436.]
- [13] Xue L, Zhang W. Growth and survival of early juveniles of the marine sponge *Hymeniacidon perlevis* (Demospongiae) under controlled conditions [J]. Mar Biotechnol, 2009, 11(5): 640 - 649.
- [14] Hausmann R, Vitello M P, Leitermann F, et al. Advances in the production of sponge biomass *Aplysina aerophoba* - a model sponge for *ex situ* sponge biomass production [J]. J Biotechnol, 2006, 124(1): 117 - 127.
- [15] Zea S, Castellanos L, Valderrama K, et al. Potential of antitumoral (+)-discodermalide production by the Caribbean sponge *Discodermia dissoluta* [C]. Girona VIII World Sponge Conference, 2010.
- [16] Osinga R, Sidri M, Cerig E, et al. Sponge aquaculture trials in the East-Mediterranean sea: New approaches to earlier ideas [J]. Open Mar Biol J, 2010, 4: 74 - 81.
- [17] de Caralt S, Sanchez-Fontenla J, Uriz M J, et al. In situ aquaculture methods for *Dysidea avara* (Demospongiae, Porifera) in the northwestern Mediterranean [J]. Mar Drugs, 2010, 8(6): 1731 - 1742.
- [18] Koopmans M, Wijffels R H. Seasonal growth rate of the sponge *Haliclona oculata* (Demospongiae: Haplosclerida) [J]. Mar Biotechnol, 2008, 10(5): 502 - 510.
- [19] Bergman O, Haber M, Mayzel B, et al. Marine-based cultivation of diacarnus sponges and the bacterial community composition of wild and maricultured sponges and their larvae [J]. Mar Biotechnol, 2011, 13(6): 1169 - 1182.

- [20] Hadas E, Shpigel M, Ilan M. Sea ranching of the marine sponge *Negombata magnifica* (Demospongiae, Latrunculiidae) as a first step for latrunculin B mass production [J]. *Aquaculture*, 2005, 244(1-4): 159-169.
- [21] Carballo J L, Yanez B, Zubia E, *et al.* Culture of explants from the sponge *Mycale cecilia* to obtain bioactive mycalazal-type metabolites [J]. *Mar Biotechnol*, 2010, 12(5): 516-525.
- [22] Page M J, Handley S J, Northcote P T, *et al.* Successes and pitfalls of the aquaculture of the sponge *Mycale hentscheli* [J]. *Aquaculture*, 2011, 312(1-4): 52-61.
- [23] Osinga R, Kleijn R, Groenendijk E, *et al.* Development of in vivo sponge cultures; particle feeding by the tropical sponge *Pseudosuberites aff. andrewsi* [J]. *Mar Biotechnol*, 2001, 3(6): 544-554.
- [24] Page M J, Northcote P T, Webb V L, *et al.* Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae: Poecilosclerida) [J]. *Aquaculture*, 2005, 250(1-2): 256-269.
- [25] Duckworth A R, Battershill C N, Bergquist P R. Influence of explant procedures and environmental factors on culture success of three sponges [J]. *Aquaculture*, 1997, 156(3-4): 251-267.
- [26] Duckworth A R, Battershill C N. Developing farming structures for production of biologically active sponge metabolites [J]. *Aquaculture*, 2003, 217(1-4): 139-156.
- [27] Duckworth A R, Battershill C N. Sponge aquaculture for the production of biologically active metabolites; the influence of farming protocols and environment [J]. *Aquaculture*, 2003, 221(1-4): 311-329.
- [28] Duckworth A R, Battershill C N, Schiel D R. Effects of depth and water flow on growth, survival and bioactivity of two temperate sponges cultured in different seasons [J]. *Aquaculture*, 2004, 242(1-4): 237-250.
- [29] Loudon D, Whalan S, Evans-Illidge E, *et al.* An assessment of the aquaculture potential of the tropical sponges *Rhopaloeides odorabile* and *Coscinoderma* sp. [J]. *Aquaculture*, 2007, 270(1-4): 57-67.
- [30] Ou H L, Wang DX, Gong L, *et al.* The influence of environmental facts on growth rate of an explanted marine sponge *Mycale phyllophila* [J]. *Journal of Xiamen University: Natural Science*, 2013, 52(4): 574-578. [欧徽龙, 王德祥, 龚琳, 等. 3种环境因素对叶片山海绵原位移植效果的影响. 厦门大学学报: 自然科学版, 2013, 52(4): 574-578.]
- [31] Duckworth A R, Samples G A, Wright A E, *et al.* In vitro culture of the tropical sponge *Axinella corrugata* (Demospongiae): effect of food cell concentration on growth, clearance rate, and biosynthesis of stevensine [J]. *Mar Biotechnol*, 2003, 5(6): 519-527.
- [32] Hadas E, Shpigel M, Ilan M. Particulate organic matter as a food source for a coral reef sponge [J]. *J Exp Biol*, 2009, 212(Pt 22): 3643-3650.
- [33] Bell J J. The functional roles of marine sponges [J]. *Estuar Coast Shelf*, 2008, 79(3): 341-353.
- [34] Pile A J, Patterson M R, Witman J D. *In situ* grazing on plankton < 10 μ m by the boreal sponge *Mycale lingua* [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1996, 141(1-3): 95-102.
- [35] Pile A J, Patterson M R, Savarese M, *et al.* Trophic effects of sponge feeding within Lake Baikal's littoral zone. 2. Sponge abundance, diet, feeding efficiency, and carbon flux [J]. *Limnol Oceanogr*, 1997, 42(1): 178-184.
- [36] Topçu N E, Pérez T, Grégori G, *et al.* In situ investigation of *Spongia officinalis* (Demospongiae) particle feeding: Coupling flow cytometry and stable isotope analysis [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2010, 389(1-2): 61-69.
- [37] Duckworth A R, Pomponi S A. Relative importance of bacteria, microalgae and yeast for growth of the sponge *Halichondria melanadocia* (De Laubenfels, 1936): A laboratory study [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2005, 323(2): 151-159.
- [38] Sipkema D, Franssen M C, Osinga R, *et al.* Marine sponges as pharmacy [J]. *Mar Biotechnol*, 2005, 7(3): 142-162.
- [39] Wijffels R H. Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology [J]. *Trends Biotechnol*, 2008, 26(1): 26-31.

Progress on *in situ* aquaculture of marine sponges with medicine potential

CHEN Jun¹, WANG Dexiang^{1,2}, OU Huilong¹, DING Shaoxiong^{1*}

(1. Department of Marine Biological Sciences and Technology, College of Ocean and Earth Sciences,
Xiamen University, Xiamen 361101, China;

2. Marine Biodiversity and Global change Research Center, Xiamen University, Xiamen 361101, China)

Abstract: Marine sponges contain many structurally diverse bioactive compounds and are the best marine bio-resources for pharmaceutical development. But the “supply issue” of sponge material hampers their commercial production. Several strategies were proposed to resolve the supply issue. *In situ* sponge aquaculture was marked as one of the most reliable strategies after decades of studies. In this paper, we reviewed cases of *in situ* sponge aquaculture in the past 20 years and summarized important factors of the strategy, including the attaching methods, feeding, sizes of the explants, flow rates and suspending depths. The main points are: 1. explants should be securely fixed; 2. feeding canals should be unobstructed; 3. rich POC with size < 8 μm in farming areas; 4. water flow should be moderate; 5. explant size should be moderate; 6. appropriate light; 7. some bioactive products are sensitive to circumstance. Most of the cases showed that farming operations had little influence on the accumulation of bioactive compounds. Our progresses in this field suggested that it is feasible to scale up *in situ* sponge aquaculture in our country to resolve the supply issue. We also presented three problems that would be encountered in the future: 1. transplanting between areas with large environmental variations; 2. diseases and predators; 3. breeding of sexual propagated progenies.

Key words: marine sponge; aquaculture; *in situ* explant; asexual reproduction

Corresponding author: DING Shaoxiong. E-mail: sxding@xmu.edu.cn

Funding projects: Xiamen Southern Oceanographic Center Project (13GY002 NF07); China Ocean Mineral Resources R & D Association (DY125 - 22 - QY - 18)