

## Σύγχρονες μέθοδοι καλλιέργειας σπόγγων: μια ανασκόπηση

Ελένη Λαγουτάρη, Ελένη Βουλτσιάδου

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

E-mail: [elvoults@bio.auth.gr](mailto:elvoults@bio.auth.gr)

### ABSTRACT

**Eleni Lagoutari, Eleni Voultsiadou: Modern methods of sponge cultivation: a review.**

Sponge cultivation is presently recognized as the most efficient and sustainable alternative for both the production of pharmaceuticals from marine sponges and the production of bath sponges. The latter has been considered necessary after the decrease in sponge population density of the Mediterranean sponge fishing beds, due to overfishing and mass-mortality phenomena. Moreover, sponges can be used as bioremediators to remove pathogenic bacteria in integrated aquaculture systems. In recent years, great efforts have been made to set up sponge cultivation systems. *In situ* cultivation has been attempted both for the production of bath sponges, and for the production of sponge metabolites from different Mediterranean and Pacific species, by fixing sponge pieces on nylon lines, grids or cages, with satisfactory results. *Ex situ* cultivation in closed or semi-closed systems needs improvements in the state-of-the-art before it could be realized. Recently, two new methods of *in vitro* sponge cultivation, the primmorphs and fragmorphs, have been developed for the production of sponge metabolites and the study of various aspects of sponge biology, with promising results.

**Keywords:** Porifera, cultivation methods, bioactive compounds, bath sponges, bioremediation

### ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ-ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

Τις δύο τελευταίες δεκαετίες η έρευνα της βιολογίας των σπόγγων έχει βρεθεί στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος μιας πλειάδας επιστημονικών ειδικοτήτων καθώς έχει διαπιστωθεί ότι, μεταξύ όλων των θαλάσσιων ζωικών οργανισμών, αποτελούν την πλουσιότερη πηγή βιοδραστικών ουσιών. Τα φυσικά αυτά προϊόντα έχουν αντιβιοτικές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιεπιβιωτικές κ.ά. ιδιότητες και μετά τις απαραίτητες κλινικές δοκιμές, μπορούν να διατεθούν στην αγορά ως φάρμακα (Sipkema *et al.* 2005). Ένα από τα βασικότερα εμπόδια στη χρήση αυτών των ουσιών σε ευρεία κλίμακα είναι το πρόβλημα της διαθεσιμότητας, δηλαδή της εξασφάλισης επαρκών ποσοτήτων, μιας και οι συγκεντρώσεις τους στους σπόγγους είναι συνήθως ελάχιστες (Brümmer & Nickel 2003). Η χημική σύνθεση των βιοδραστικών ουσιών είναι προς το παρόν ασύμφορη λόγω της εξαιρετικά πολύπλοκης δομής των μορίων τους, ενώ η συλλογή των σπόγγων που τις παράγουν θα οδηγούσε σύντομα στην εξάντληση των φυσικών τους αποθεμάτων (Hausmann *et al.* 2006). Έτσι, η καλλιέργεια των σπόγγων στο εργαστήριο ή στο πεδίο φαίνεται να είναι ο καλύτερος τρόπος για να ξεπεραστούν αυτά τα προβλήματα (Brümmer & Nickel 2003). Ακόμη, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μεγάλη μείωση των αποθεμάτων των εμπορικών σπόγγων του μπάνιου στη Μεσόγειο και σε άλλες περιοχές λόγω της υπεραλίευσης αλλά και των επιδημιών που πλήττουν κατά καιρούς τα σπογγαλιευτικά πεδία, δίνοντας έτσι έναυσμα για την έναρξη νέων προσπαθειών για σπογγοκαλλιέργεια (Pronzato *et al.* 1999). Τέλος, εξετάζεται από διάφορους ερευνητές η εφαρμογή της καλλιέργειας των σπόγγων στη δημιουργία ολοκληρωμένων συστημάτων υδατοκαλλιέργειας. Η ανάπτυξή της κοντά σε ιχθυοκαλλιέργειες μπορεί να συμβάλει στον περιορισμό της ρύπανσης λόγω της ιδιότητας των σπόγγων να κατακρατούν λεπτό αιωρούμενο υλικό και παθογόνους μικροοργανισμούς (βακτήρια, μύκητες) φιλτράροντας το θαλασσινό νερό (Fu *et al.* 2006).

### ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΠΟΓΓΩΝ ΣΤΟ ΠΕΔΙΟ

Καταλληλότερες από τις σύγχρονες μεθόδους που έχουν εφαρμοστεί στο πεδίο (Πίνακας I) για μεγάλης κλίμακας σπογγοκαλλιέργεια έχουν αποδειχτεί οι μέθοδοι που περιλαμβάνουν ανάρτηση σπόγγων σε κάθετα ή οριζόντια σχοινιά. Στις καλλιέργειες με σκοπό την παραγωγή σπόγγων του μπάνιου (είδη της οικογένειας Spongiidae) παρατηρήθηκε

επιβίωση των κομματιών, που έφτασαν σε εμπορικό μέγεθος μετά από 3 χρόνια, σε ποσοστό μέχρι 75%. Στις καλλιέργειες για παραγωγή βιοδραστικών ουσιών καταγράφηκε επιβίωση των καλλιεργούμενων κομματιών της τάξης του 100% μετά από δύο μήνες (Pronzato *et al.* 1999), ενώ ο ρυθμός αύξησης έφτασε μέχρι και 200% του αρχικού μεγέθους σε 12 μήνες (van Treeck *et al.* 2003). Οι περισσότερες από τις καλλιέργειες που επιχειρήθηκαν στο πεδίο έγιναν σε μικρή απόσταση από τον τόπο ανάπτυξης των αντίστοιχων φυσικών πληθυσμών. Σπογγοκαλλιέργειες με παραγωγή που διατίθεται στο εμπόριο υπάρχουν εδώ και περίπου μια δεκαετία σε περιοχές της Μικρονησίας, με πολλά οικονομικά και οικολογικά πλεονεκτήματα για τις τοπικές κοινωνίες (Anonymous 2004).

Πίνακας I. Καλλιέργεια σπόγγων στο πεδίο.

Table I. *In situ* sponge cultivation.

| ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ                      | ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΑ ΕΙΔΗ   | ΠΕΡΙΟΧΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ | ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ | ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ            |
|---|---|----------------------|---------------------|---------------------------------|
| Παραλλαγές ανάρτησης κομματιών σε σχοινιά | <i>Spongia officinalis</i> ,<br><i>S. agaricina</i> , <i>S. nitens</i>                                      | Γαλλία               | Σπόγγοι μπάνιου     | Verdenal & Vacelet (1990)       |
|   | Είδη της οικογένειας Spongiidae   | Μικρονησία           | Σπόγγοι μπάνιου     | Croft (1996)                    |
|   | 8 Μεσογειακά είδη   | Ιταλία               | Βιοδραστικές ουσίες | Pronzato <i>et al.</i> (1999)   |
|   | <i>Spongia officinalis</i> ,<br><i>Hippospongia communis</i>  | Ελλάδα (Κάλυμνος)    | Σπόγγοι μπάνιου     | Pronzato <i>et al.</i> (1999)   |
|   | <i>Spongia officinalis</i>  | Ιταλία               | Σπόγγοι μπάνιου     | Corriero <i>et al.</i> (2004)   |
| Προσάρτηση κομματιών σε διχτυωτά πλέγματα | <i>Latrunculia sp.</i> ,<br><i>Polymastia croceus</i> ,<br><i>Raspailia agminata</i>                        | Νέα Ζηλανδία         | Βιοδραστικές ουσίες | Duckworth & Battershill (2003)  |
|   | <i>Axinella damicornis</i> , <i>A. verrucosa</i> , <i>Chondrosia reniformis</i> , <i>Ircinia variabilis</i> | Κορσική              | Βιοδραστικές ουσίες | van Treeck <i>et al.</i> (2003) |
|   | <i>Mycale hentscheli</i>  | Νέα Ζηλανδία         | Βιοδραστικές ουσίες | Page <i>et al.</i> (2005)       |
| Προσάρτηση κομματιών σε υποβρύχια φανάρια | <i>Spongia manipulatus</i>  | Νέα Ζηλανδία         | Σπόγγοι μπάνιου     | Kelly <i>et al.</i> (2004)      |
| Συνδυαστικές μέθοδοι                      | <i>R. topsenti</i> <i>Latrunculia wellingtonensis</i> ,<br><i>Polymastia croceus</i>                        | Νέα Ζηλανδία         | Βιοδραστικές ουσίες | Duckworth <i>et al.</i> (2004)  |
|   | <i>Negombata magnifica</i>  | Ισραήλ               | Βιοδραστικές ουσίες | Hadas <i>et al.</i> (2005)      |

## ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΠΟΓΓΩΝ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

Στον τομέα αυτό έχει σημειωθεί αλματώδης πρόοδος τα τελευταία χρόνια. Οι προσπάθειες που γίνονται (Πίνακας II) αφορούν είτε στη μελέτη διάφορων ζητημάτων της βιολογίας των καλλιεργούμενων σπόγγων, όπως η μορφογένεση, η γήρανση, οι μηχανισμοί του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, ή στην παραγωγή βιοδραστικών ουσιών με φαρμακευτικές εφαρμογές. Η *ex situ* καλλιέργεια σπόγγων από κομμάτια γίνεται σε ενυδρεία ή βιοαντιδραστήρες, αλλά χρειάζεται ακόμη πολλές βελτιώσεις, κυρίως όσον αφορά τον καθορισμό κατάλληλης τροφής για τα καλλιεργούμενα άτομα. Η έρευνα στον τομέα αυτό επικεντρώνεται κυρίως στη διερεύνηση των συνθηκών που θα επιτρέψουν μακροχρόνια διατήρηση και συνεχή αύξηση των σπόγγων σε συνθήκες εργαστηρίου. Πρόσφατα έχουν ξεκινήσει εντατικές προσπάθειες για τη διατήρηση αξενικών κυτταρικών σειρών από σπόγγους και έχει αποδειχτεί ότι τα πολυδυναμικά αρχαιοκύτταρα τους είναι τα πιο κατάλληλα για τη δημιουργία συνεχών κυτταρικών σειρών (Sun *et al.* 2007). Η ανακάλυψη νέων πρωτοποριακών συστημάτων καλλιέργειας ανοίγει νέες προοπτικές στην *in vitro* καλλιέργεια: τα primmorphs (τρισδιάστατες οργανωμένες αρχικές κυτταρικές συναθροίσεις που δεν έχουν ακόμη αποκτήσει ικανότητα άντλησης νερού) και τα fragmorphs (πολύ μικρά κομμάτια σπόγγων που αναπτύσσονται σε δισκία καλλιέργειας) δοκιμάζονται με επιτυχία σε διάφορα είδη σπόγγων.

Πίνακας II. Σπογγοκαλλιέργεια στο εργαστήριο.  
Table II. *Ex situ* and *in vitro* sponge cultivation.

| ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ   | ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΑ ΕΙΔΗ   | ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ    |
|--|---|-------------------------|
| <b>Ex situ</b><br>Καλλιέργεια σε κλειστά ή ημίκλειστα συστήματα, με προσάρτηση σπόγγων σε σχοινιά ή από αυγά και προνύμφες | <i>Crambe crambe</i>  | Belarbi et al. (2003)   |
|  | <i>Corticium candelabrum</i>                                | De Caralt et al. (2003) |
|  | <i>Aplysina aerophoba</i>                                   | Hausmann et al. (2006)  |
|  | <i>Acanthella cavernosa</i>                                 | Mendola (2003)          |
|  | <i>Pseudosuberites andrewsi</i>                             | Osinga et al. (2003)    |
|  | 22 Μεσογειακά είδη  | Brümmer & Nickel (2003) |
|  | 10 Μεσογειακά είδη  | Nickel et al. (2001)    |
|  | <i>Ircinia muscarum, Dysidea avara, Suberites domuncula</i> | De Rosa et al. (2003)   |
|  | <i>Hymeniacidon perleve</i>                                 | Sun et al. (2007)       |
|  | <b>In vitro</b><br>Κυτταροκαλλιέργεια                       | 7 Μεσογειακά είδη       |
| <i>Stylotella agminata, Hymeniacidon perleve</i>   |   | Zhang et al. (2003)     |
| 13 Μεσογειακά είδη   |   | Valisano et al. (2006)  |
| <i>Chondrosia reniformis</i>   |   | Nickel & Brümmer (2003) |
| <i>Geodia barretti</i>   |   | Hoffmann et al. (2003)  |
| Καλλιέργεια Primmorphs   |   |                         |
| Καλλιέργεια Fraggmorphs  |   |                         |

### ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΩΝ

Οι μέχρι σήμερα προσπάθειες για καλλιέργεια σπόγγων *in situ* θεωρούνται γενικά επιτυχείς αν και δεν βασίζονται σε εμπειριστατωμένη επιστημονική γνώση της βιολογίας των καλλιεργούμενων ειδών, αλλά κυρίως σε πρακτικές τεχνικές. Η ενδελεχής μελέτη των αβιοτικών και βιοτικών παραγόντων από τους οποίους εξαρτάται η επιτυχία της εκάστοτε καλλιέργειας επιδιώκεται από τους ερευνητές και έχει γίνει δυνατή η παραγωγή σπόγγων του μπάνιου για εμπορικούς σκοπούς σε περιοχές του Ειρηνικού. Η *ex situ* καλλιέργεια σπόγγων βρίσκεται ακόμη σε πειραματικό επίπεδο. Τέλος, η ανάπτυξη της *in vitro* σπογγοκαλλιέργειας, με τις προσπάθειες για διατήρηση συνεχών κυτταρικών σειρών και την ανακάλυψη των πρωτοποριακών συστημάτων primmorphs και fraggmorphs, φαίνεται να ανοίγει νέες προοπτικές για τη βιοτεχνολογία και τη βασική έρευνα.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous, 2004. Aquaculture profile for Pohnpei Federated States of Micronesia. *The Pohnpei State Division of Marine Development, Office of Economic Affairs and the Conservation Society of Pohnpei*. No 1. pp. 30.
- Belarbi E.H., M.R. Domínguez, M.C.C. García, A.C. Gómez, F.G. Camacho & E.M. Grima, 2003. Cultivation of explants of the marine sponge *Crambe crambe* in closed systems. *Biomolecular Engineering*, 20: 333-337.
- Brümmer F. & M. Nickel, 2003. Sustainable use of marine resources: Cultivation of sponges. In: Müller W.E.G., editor. *Marine Molecular Biotechnology*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 143-162.
- Corriero G., C. Longo, M. Mercurio, C. Marzano, G. Lembo & M. Spedicato, 2004. Rearing performance of *Spongia officinalis* on suspended ropes off the southern Italian coast (Central Mediterranean Sea). *Aquaculture*, 238: 195-205.
- Croft R., 1996. Commercial sponge survey in Kiribati and sponge farming development in the South Pacific. *FAO Field Technical Paper* No. 2. pp. 21.
- De Caralt S., G. Agell & M. Uriz, 2003. Long-term culture of sponge explants: conditions enhancing survival and growth, and assessment of bioactivity. *Biomolecular Engineering*, 20: 339-347.
- De Rosa S., S. De Caro, C. Iodice, G. Tommonaro, K. Stefanov & S. Popov, 2003. Development in primary cell culture of demosponges. *Journal of Biotechnology*, 100: 119-125.
- Duckworth A. & C. Battershill, 2003. Developing farming structures for production of biologically active sponge metabolites. *Aquaculture*, 217: 139-156.

- Duckworth A., C. Battershill & D. Schiel, 2004. Effects of depth and water flow on growth, survival and bioactivity of two temperate sponges cultured in different seasons. *Aquaculture*, 242: 237-250.
- Fu W., L. Sun, X. Zhang & W. Zhang, 2006. Potential of the marine sponge *Hymeniacidon perleve* as a bioremediator of pathogenic bacteria in integrated aquaculture ecosystems. *Biotechnology and Bioengineering*, 93: 1113-1122.
- Hadas E., M. Shpigel & M. Ilan, 2005. Sea ranching of the marine sponge *Negombata magnifica* (Demospongiae, Latrunculiidae) as a first step for latrunculin B mass production. *Aquaculture*, 244: 159-169.
- Hausmann R., M.P. Vitello, F. Leitermann & C. Syldatk, 2006. Advances in the production of sponge biomass. *Aplysina aerophoba* – a model sponge for ex situ sponge biomass production. *Journal of Biotechnology*, 124: 117-127.
- Hoffmann F., H. T. Rapp, T. Zöllner & J. Reitner, 2003. Growth and regeneration in cultivated fragments of the boreal deep water sponge *Geodia barretti* Bowerbank, 1858 (Geodiidae, Tetractinellida, Demospongiae). *Journal of Biotechnology*, 100: 109-118.
- Kelly M., S. Handley, M. Page, P. Butterfield, B. Hartill & S. Kelly, 2004. Aquaculture trials of the New Zealand bath-sponge *Spongia (Heterofibria) manipulator* using lanterns. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 38: 231-241.
- Mendola D., 2003. Aquaculture of three phyla of marine invertebrates to yield bioactive metabolites: process, developments and economics. *Biomolecular Engineering*, 20: 441-458.
- Nickel M. & F. Brümmer, 2003. In vitro sponge fragment culture of *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1847). *Journal of Biotechnology*, 100: 147-159.
- Nickel M., S. Leininger, G. Proll & F. Brümmer, 2001. Comparative studies on two potential methods for the biotechnological production of sponge biomass. *Journal of Biotechnology*, 92: 169-178.
- Osinga R., E.H. Belarbi, E.M. Grima, J. Tramper & R.H. Wijffels, 2003. Progress towards a controlled culture of the marine sponge *Pseudosuberites andrewsi* in a bioreactor. *Journal of Biotechnology*, 100: 141-146.
- Page M., P. Northcote, V. Webb, S. Mackey & S. Handley, 2005. Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae: Poecilosclerida). *Aquaculture*, 250: 256-269.
- Pronzato R., G. Bavestrello, C. Cerrano, G. Magnino, R. Manconi, J. Pantelis, A. Sara & M. Sidri, 1999. Sponge farming in the Mediterranean Sea: New perspectives. *Memoirs of the Queensland Museum*, 44: 485-491
- Sipkema D., R. van Wielink, A.A.M. van Lammeren, J. Tramper, R. Osinga & R.H. Wijffels, 2003. Primmorphs from seven marine sponges: formation and structure. *Journal of Biotechnology*, 100: 127-139.
- Sipkema D., R. Osinga, W. Schatton, D. Mendola, J. Tramper & R.H. Wijffels, 2005. Large-scale production of pharmaceuticals by marine sponges: sea, cell, or synthesis? *Biotechnology and Bioengineering*, 90: 201-222.
- Sun L., Y. Song, Y. Qu, X. Yu & W. Zhang, 2007. Purification and in vitro cultivation of archaeocytes (stem cells) of the marine sponge *Hymeniacidon perleve* (Demospongiae). *Cell Tissue Research*, 328: 223-237.
- van Treeck P., M. Eisinger, J. Müller, M. Paster & H. Schuhmacher, 2003. Mariculture trials with Mediterranean sponge species. The exploitation of an old natural resource with sustainable and novel methods. *Aquaculture*, 218: 439-455.
- Valisano L., G. Bavestrello, M. Giovine & C. Cerrano, 2006. Primmorphs formation dynamics: a screening among Mediterranean sponges. *Marine Biology*, 149: 1037-1046.
- Verdenal B. & J. Vacelet, 1990. Sponge culture on vertical ropes in the Northwestern Mediterranean Sea. In: Rützler, editor. *New perspectives in Sponge Biology. 3rd International Sponge Conference, Woods Hole*, pp. 416-424.
- Zhang X., X. Cao, W. Zhang, X. Yu & M. Jin, 2003. Primmorphs from archaeocytes-dominant cell population of the Sponge *Hymeniacidon perleve*: Improved cell proliferation and spiculogenesis. *Biotechnology and Bioengineering*, 84: 583-590.