

# Eukaryotic communities of freshwater bryozoans (Phylactolaemata: Plumatellidae) of the Baikal region

Peretolchina T.E.<sup>1\*</sup>, Shcherbakova A.A.<sup>1</sup>, Sitnikova T.Ya.<sup>1</sup>,  
Adelshin R.V.<sup>2</sup>, Bukin Yu.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

<sup>2</sup>Irkutsk State University, Sukhe-Bator str. 5, Irkutsk 664025, Russia

**ABSTRACT.** The diversity of eukaryotic communities associated with bryozoans was investigated using DNA metabarcoding based on the 18S rRNA gene. The results obtained indicate that each bryozoan species, coexisting in close proximity to one another, harbors a distinctive community of associated eukaryotes, the composition of which likely depends on the form of the colonies. The community associated with the “bushy” colony of *Plumatella* sp. was found to be more diverse and differed in species composition from the community formed on the “creeping” colony of *P. repens*. In the “bushy” bryozoans, diatoms (60%) and ciliates (22%) predominated, along with golden algae (4%), hydras (3%), chytridiomycetes (1.6%), and rotifers (1%). In contrast, unicellular algae (32%), dinoflagellates (27%), apicomplexans (10.6%), and other groups of protists (amoebas, euglenoids, and others) (4.6%) were more frequently associated with the “creeping” bryozoan. Among invertebrates, annelid worms (12.5%), tapeworms (4%), and mollusks (3%) predominated. Notably, the study revealed the presence of protostome animals belonging to the phylum Entoprocta, marking the first documentation of this taxon in the water bodies of the Baikal region.

**Keywords:** DNA metabarcoding, 18S pPHK, ITS1–5.8S–ITS2, COI, 16S rRNA

**For citation:** Peretolchina T.E., Shcherbakova A.A., Sitnikova T.Ya., Adelshin R.V., Bukin Yu.S. Eukaryotic communities of freshwater bryozoans (Phylactolaemata: Plumatellidae) of the Baikal region // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 3. - P. 268-283. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-3-268

## 1. Introduction

Bryozoans (phylum Bryozoa) are colonial animals that exhibit a sessile lifestyle, settling on any solid substrate including submerged wood, macrophytes, stones, plastic, polyethylene, and others. Some species are known to encrust the hulls of ships (Gontar, 2010).

The phylum Bryozoa comprises three classes: Phylactolaemata (freshwater bryozoans), Stenolaemata (exclusively marine bryozoans) и Gymnolaemata (mostly marine bryozoans). Phylactolaemata includes one order, seven families, and about 70 species that inhabit exclusively freshwater environments (Ryland, 2005). Members of this class are globally distributed, except in polar regions, and occur in both lentic and lotic ecosystems. Some species are considered cosmopolitan (Wood, 2002). Colonies of phylactolaemates consist of zooids divided into two parts: the soft polypide with its crown of ciliated tentacles, and the gelatinous or chitinous cystid, which functions as an exoskel-

eton into which the polypide can retract. The mouth, covered by an epistome, is situated within the tentacle crown.

Within the Phylactolaemata, the most diverse family is Plumatellidae Allman, 1856, comprising four genera and more than 20 valid species, most of which belong to the genus *Plumatella* Lamark, 1816. In Russian freshwater ecosystems, seven species of this genus have been recorded (Gontar, 2010), with three species occurring in the Baikal region (Vinogradov, 2008).

Phylactolaemates often dominate among aquatic organisms. As active water filterers, they play a significant role in the self-purification of water bodies, particularly during periods of abundant growth (Protasov, 1994). The size of their colonies varies from a few millimeters to several tens of centimeters, and their rapid growth can result in substantial benthic biomass. Consequently, bryozoans also contribute to nutrient cycling (Sørensen et al., 1986). Phylactolaemates can form associations with other bryozoans, sponges,

\*Corresponding author.

E-mail address: [tanya@lin.irk.ru](mailto:tanya@lin.irk.ru) (T.E. Peretolchina)

**Received:** December 17, 2024; **Accepted:** April 22, 2025;

**Available online:** June 11, 2025

© Author(s) 2025. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



hydroids, and caddisfly larvae (Ricciardi and Reisinger, 1994). Their colonies provide habitat for various small organisms, including rotifers, planarians, nematodes, annelids, mollusks, gastrotrichs, copepods, tardigrades, insect larvae, mites, and others (Raddum and Johnsen, 1983; Ricciardi and Reisinger, 1994).

Species of *Plumatella* differ in the morphology and size of their colonies, suggesting that their associated communities may vary depending on the structure of the colonies. To test this hypothesis, we employed the DNA metabarcoding, a method that enables identification of the community taxonomic composition through amplification and high-throughput sequencing of marker gene sequences. The metabarcoding of organism-associated communities also facilitates the identification of interaction mechanisms between different organismal groups and their potential ecological roles within the community.

DNA metabarcoding using the COI gene fragment has been successfully implemented to studies invertebrate communities in Bolshie Koty Bay and Listvennichny Bay of Lake Baikal (Kravtsova et al., 2021; Kravtsova et al., 2023). Furthermore, this method has proven to be effective for investigating the diversity of algae-associated organisms using the 18S rRNA gene fragment (Bukin et al., 2022) and for researching the microeukaryotic planktonic communities in Lake Baikal (Bukin et al., 2023).

This study aimed to investigate and compare the composition of eukaryotic communities associated with two sympatric bryozoan species exhibiting different colony morphologies.

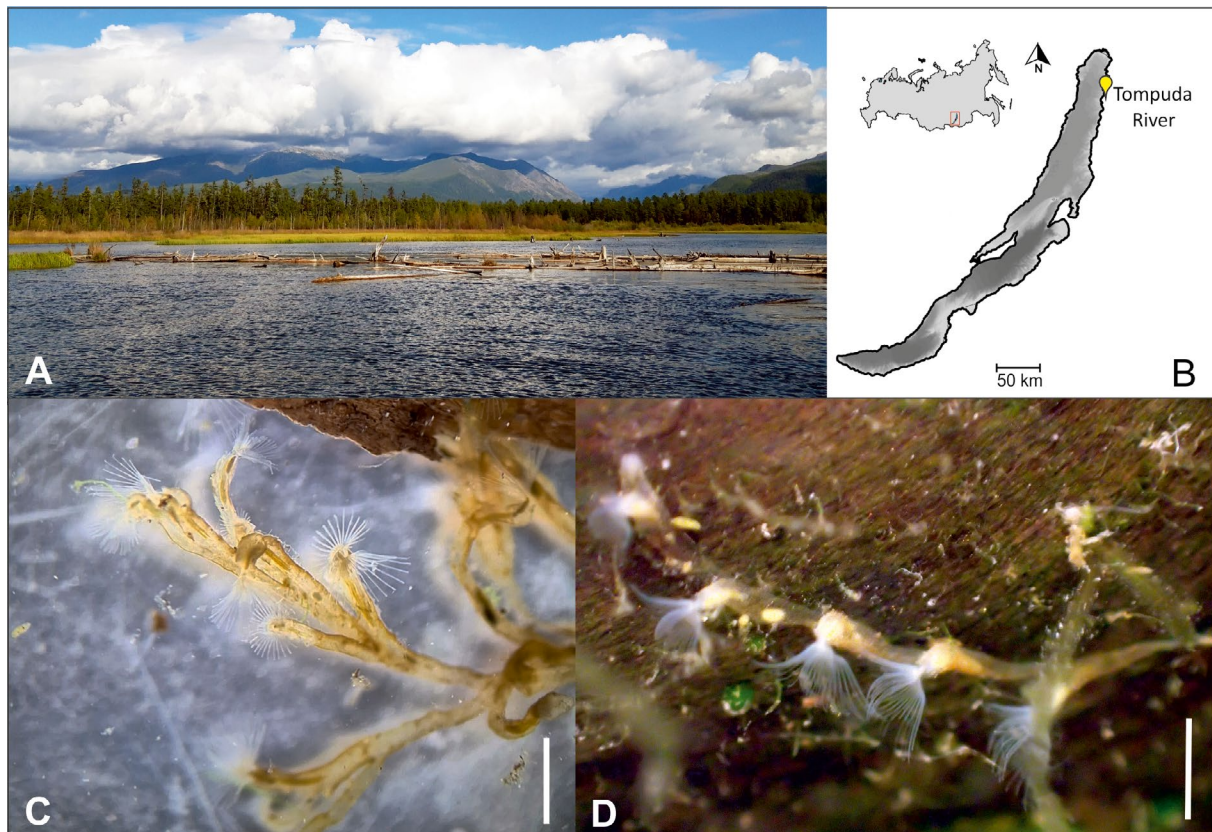
## 2. Materials and Methods

Bryozoan colonies were collected from submerged wood at the mouth of the Tompuda River (northern Lake Baikal, 55.12122° N, 109.753418° E) in 2022 (Fig. 1). The river mouth valley is characterized by a swampy plain intersected by numerous macrophyte-dominated channels with abundant submerged logs. Bryozoans were observed on the majority of logs. Colonies were collected from a single submerged log to eliminate habitat-associated influences on the taxonomic composition of the bryozoan associated organisms.

Living colony fragments were photographed using an MSP-1 stereomicroscope (“LOMO” JSC) equipped with a Levenhuk C800 digital camera (Fig. 1).

DNA was performed following the protocol described by Doyle and Dickson (Doyle and Dickson, 1987). For Sanger sequencing, DNA samples were obtained from small colony fragments that were carefully cleaned to prevent contamination from bryozoan-associated organisms. For metabarcoding analysis, DNA was extracted from larger colony fragments (five samples per species).

All DNA samples were amplified. Amplification was carried out using the BioMaster HS-*Taq* PCR Kit (Biolabmix, Russia) according to the manufacturer’s recommendations. Amplification conditions and primer sequences are detailed in Table 1. For metabarcoding, PCR products from each species were pooled into a single tube.



**Fig.1.** A – photo of Tompuda River valley; B – map of Lake Baikal with collection point indicated; C, D – photos of living colonies of bryozoans. C – *Plumatella* sp.; D – *P. repens*. Scale 1 mm.



**Table 1.** Amplification conditions and primers used in this study.

Gene	Amplification conditions, 30 cycles	Primers	References
COI	DNA denaturation at 95°C – 40 sec (5 minutes on the first cycle), primer annealing at 50°C – 60 sec, nucleotide chain elongation at 72°C – 60 sec (10 minutes on the last cycle)	LCO1490 (f) 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G -3' HCO2198 (r) 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'	Folmer et al., 1994
ITS1–5.8S–ITS2		ITS1 (f) 5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3' ITS4 (r): 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'	White et al., 1990
18S	DNA denaturation at 95°C – 60 sec (5 minutes on the first cycle), primer annealing at 55°C – 60 sec, nucleotide chain elongation at 72°C – 60 sec (10 minutes on the last cycle)	EukA (f) 5'-ACC TGG TTG ATC CTG CCA GT-3' EukB (r) 5'-TGA TCC TTC TGC AGG TTC ACC TAC-3'	Medlin et al., 1988
16S		ZX-1-F 5'-ACC CGC TGA ATT TAA GCA TAT-3' LSUD-R 5'-ACG GAA TGA ACT CAA ATC ATG TAA G-3'	Van der Auwera et al., 1994 Littlewood et al., 2000

PCR products were visualized through electrophoresis on 1% agarose gel. Enzymatic purification of the products was performed using the ExoSAP-IT express kit (Thermo Fisher Scientific, USA) according to the manufacturer's protocol.

The COI, 16S and the ITS1–5.8S–ITS2 markers were sequenced using a NANOFOR 05 genetic analyzer with the Brilliant Dye Terminator (v.3.1) Sequencing kit (NimaGene, Holland). The nucleotide sequences were edited and aligned using the BioEdit software (Hall, 2011).

The taxonomic identification of bryozoans was accomplished through DNA barcoding using COI, 16S mtDNA, and ITS1–5.8S–ITS2 rDNA markers. Taxa delimitation was performed using the web version of the ASAP program (available at: <https://bio-info.mnhn.fr/abi/public/asap/>), employing pairwise genetic distances (*p*-distances) as the genetic distance metric. Additionally, nucleotide sequences of various Plumatellidae species for COI, 16S and ITS1–5.8S–ITS2 markers were retrieved from GenBank (Table 2).

18S rRNA metabarcoding of bryozoan-associated eukaryotes was performed using portable nanopore DNA sequencer MinION (Oxford Nanopore Technologies). The quality of reads was assessed using FastQC; reads were filtered by quality using Trimmomatic-0.32 (Bolger et al., 2014). Sequences with an average quality score exceeding 12 were selected for further analysis. Sequence identification was conducted using the SILVA database version 138.2 (Quast et al., 2012), containing full-length 18S rRNA fragments. BLASTn (Altschul et al., 1990) was employed with parameters “word\_size = 25, gapopen = 2, gapextend = 1, reward = 1, penalty = -1” to compare sequenced amplicon library fragments with the SILVA database. These parameters allowed for the identification of amplicon sequences with low similarity to the reference database. An 18S rRNA amplicon sequence was considered identified if alignment parameters were E-value ≤ 0.00001 and bit score ≥ 50, indicating non-random matches. All 18S rRNA amplicon sequences mapping to the same SILVA database sequence in BLASTn alignment results were grouped into operational taxonomic units (OTUs). OTU

abundance was quantified by the number of 18S rRNA amplicon reads assigned to each unit.

The results were visualized as histogram where OTUs were grouped into high-rank taxa.

The statistical convergence of the results of taxonomic diversity assessment was characterized using rarefaction curves and the Chao1 index (the expected number of OTUs in samples). Community diversity comparisons were conducted using the Shannon index, as well as species abundance curves, where slower convergence to zero indicates higher community diversity. All statistical analyses and graphical visualizations were performed using the “Vegan” package (Dixon, 2003) and “ggplot2” (Wickham, 2011) in the R programming environment.

### 3. Results

The bryozoans studied were classified into two species of the genus *Plumatella*, based on the external morphology of zooids and colonies (Fig. 1). For each species, two nucleotide sequences for the COI (629 bp), 16S (439–440 bp), and ITS1–5.8S–ITS2 (738–742 bp) were obtained and submitted in the GenBank database under accession numbers: PQ766342–PQ766343, PQ771669–PQ771670 (COI); PQ770921–PQ770922, PQ772041–PQ772042 (ITS1–5.8S–ITS2); PQ774235–PQ774238 (16S).

Species delimitation analysis using three molecular genetic markers identified the bryozoan with a “creeping” colony type as *Plumatella repens* (Linnaeus, 1758), while the bryozoan with a “bushy” colony type (*Plumatella* sp.) could not be definitively identified to species level due to limited nucleotide sequences available in GenBank. 16S mtDNA fragment analysis revealed that the sister species for this bryozoan is *P. emarginata* Allman, 1844 (with a genetic distance of 2% nucleotide substitutions), while ITS1–5.8S–ITS2 analysis indicated close relation to *P. vaihirieae* (Hastings, 1929) (with a genetic distance of 0.4% substitutions). Species delimitation based on the COI gene fragment could not be performed due to the lack of nucleotide sequences for *P. emarginata* and *P. vaihirieae* in GenBank.

**Table 2.** List of taxa used for species delimitation analysis with GenBank accession numbers and references.

Species name	COI GB#	References	ITS1–5,8S–ITS2 GB#	References	16S GB#	References
<i>Plumatella fungosa</i> (Pallas, 1768)	KF805632	Dash and Vasemägi 2014, unpublished	GU733426	Rubini et al., 2011	AB365624	Hirose et al., 2011, unpublished
	MH286272	Klass et al., 2018	-	-	-	-
<i>Plumatella repens</i> (Linnaeus, 1758)	FJ196105	Fuchs et al., 2009	GU733417	Rubini et al., 2011	AB365622	Hirose et al., 2011, unpublished
	-	-	EU377576	Taticchi et al., 2010, unpublished	-	-
<i>Plumatella vaihiriae</i> (Hastings, 1929)	-	-	EU377577	Taticchi et al., 2010, unpublished	AB365625	Hirose et al., 2011, unpublished
<i>Plumatella casmiana</i> Oka, 1907	KJ024813	Koletic, 2014	EU377579	Taticchi et al., 2010, unpublished	GQ343297	Briski et al., 2011
	-	-	-	-	AB365629	Hirose et al., 2011, unpublished
<i>Plumatella rugosa</i> Wood, Wood, Geimer & Massard, 1998	-	-	GU733418	Rubini et al., 2011	AB365623	Hirose et al., 2011, unpublished
<i>Plumatella viganoi</i> Taticchi 2010	-	-	GU733422, GU733421, GU733420	Rubini et al., 2011	-	-
<i>Plumatella geimermas-sardi</i> Wood and Okamura, 2004	-	-	GU733423	Rubini et al., 2011	-	-
	-	-	EU377578	Taticchi et al., 2010, unpublished	-	-
<i>Plumatella emarginata</i> Allman, 1844	-	-	GU733424	Rubini et al., 2011	JN681057	Waeschenbach et al., 2012
	-	-	-	-	AB365623	Hirose et al., 2011, unpublished
	-	-	-	-	GQ343296, GQ343300, GQ343301	Briski et al., 2011
<i>Plumatella reticulata</i> Wood, 1988	-	-	GU733425	Rubini et al., 2011	-	-
<i>Plumatella vorstmani</i> Toriumi, 1952	-	-	-	-	AB365634	Hirose et al., 2011, unpublished
Plumatellidae sp.	KU720129	Jiang et al., 2017	-	-	-	-
	KX620051	Dong et al., 2020	-	-	-	-
<i>Hyalinella punctata</i> (Hancock, 1850)	KJ024814	Koletic, 2014	EU377580	Taticchi et al., 2010, unpublished	AB365631	Hirose et al., 2011, unpublished
	-	-	GU733427, GU733428	Rubini et al., 2011	DQ305342	Okuyama et al., 2006

The initial datasets after nanopore sequencing of the 18S rRNA gene included 44,771 sequences for *Plumatella* sp. and 51,057 for *P. repens*; after quality filtering, the datasets contained 19,027 and 21,762 sequences, respectively, from which OTUs (Operational Taxonomic Units) were formed. Single OTUs (representing fewer than 4 copies per sample) were excluded from analyses. The final analysis identified 299 OTUs for *Plumatella* sp., and 33 OTUs for *P. repens*.

Rarefaction curves and species abundance curves are presented in Fig. 2. The saturation curves for both species reached plateaus, confirming statistical signifi-

cance of the results. The expected number of taxa, calculated using the Chao1 index, corresponded with the actual number of identified OTUs.

The Shannon diversity index for the community associated with the “bushy” bryozoan *Plumatella* sp was 4.1, while for the “creeping” *P. repens* it was 2.8.

The taxonomic composition (in percentage) of both communities is illustrated in the histogram (Fig. 3). A total of 21 high-rank taxa were identified within the communities. The community associated with the “bushy” bryozoan was dominated by diatoms (60%) and ciliates (22%), with notable presence of

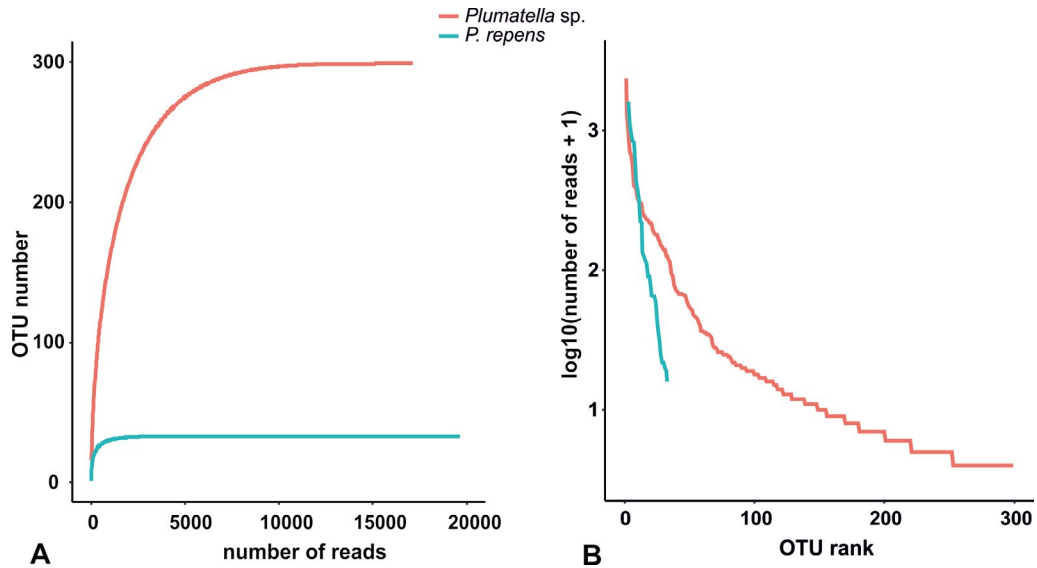


Fig.2. A – rarefaction curves; B – species abundance curves.

golden algae (4%) and hydras (3%), as well as chytridiomycetes (1.6%), which are parasites of algae and invertebrates. Rotifers were also observed (1%), likely attracted by an abundance of ciliates, unicellular algae, and bacteria.

The “creeping” bryozoan-associated community exhibited lower diversity, dominated by unicellular algae (32%) and dinoflagellates (27%). Significant proportions of apicomplexans (10.6%), which are invertebrate parasites, and other protozoan classes (including amoebas, euglena, etc.) (4.6%) were also observed. Among the invertebrates, annelid worms (12.5%), tapeworms (4%), and mollusks (3%) predominated. Additionally, nucleotide sequences of protostome animals belonging to the phylum Entoprocta were identified.

#### 4. Discussion

At the mouth of the River Tompuda, which flows into Baikal, two genetically distant species of the genus *Plumatella* (16% substitutions based on COI, 9% based on ITS1–5.8S–ITS2, and 4% based on 16S) were found living sympatrically. One of them, *P. repens*, is widely distributed in temperate water bodies. The other species, *Plumatella sp.* showed genetic similarity to *Plumatella vaihiriae* (Hastings, 1929) based on the ITS1–5.8S–ITS2 marker (0.4% divergence). *P. vaihiriae* was initially described from a lake on Tahiti and has been recorded in lakes in Hawaii, Argentina, Thailand, and the USA (Taticchi et al., 2008). According to the 16S marker (2% divergence) *Plumatella sp.* is closely related to *P. emarginata*, a species distributed in Eurasia,

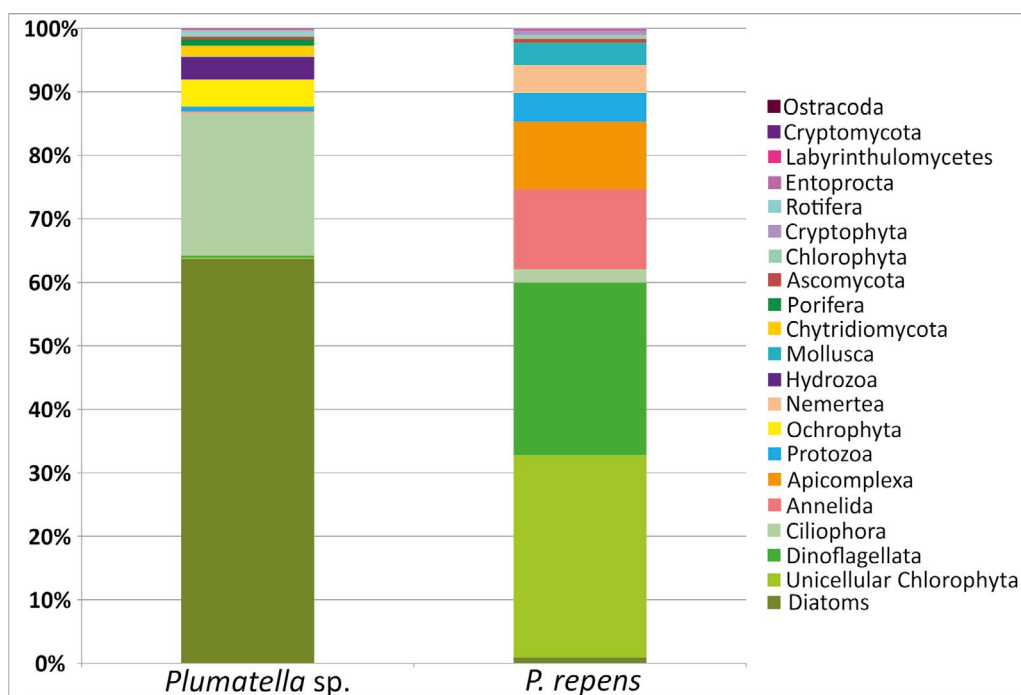


Fig.3. Histogram of OTU distribution across high-rank taxa for *Plumatella sp.* and *P. repens*.

North America, and New Zealand. It should be noted that the presence of *P. emarginata* in the Baikal region has been previously reported (Vinogradov, 2008), but the examined specimens likely represent a distinct species (potentially new to science) based on their level of genetic divergence. However, definitive species identification requires morphological analysis of statoblasts.

The sympatric occurrence of two bryozoan species on the same substrate is not unique to the Baikal region. For example, Taticchi et al. (2008) reported the cohabitation of *P. vaihiria* with *P. fungosa* (Pallas, 1768), and representatives of Victorellidae Hincks, 1880 in Italian lakes.

The studied bryozoans exhibit different colony morphologies: *P. repens* forms creeping or sprawling branching tubes that spread flat across the substrate, while *Plumatella* sp. develops tubular branched zooids that extend vertically from the substrate in a bush-like formation. We observed that each coexisting bryozoan species harbored a unique eukaryotic community, the composition of which depends on the colony morphology. The community associated with the “bushy” *Plumatella* sp., was much more diverse (Shannon index = 4.1) compared to that of the “creeping” *P. repens* (Shannon index = 2.8), considering both high-rank taxon composition and the number of dominant OTUs. This may be related to the structure of the “bushy” colony, which creates microhabitats within the spaces between zooids that are favorable for diverse epibionts. Various diatoms easily attach to the bryozoan zooids, as evidenced by the abundance of reads corresponding to these organisms. Conversely, “creeping” colony exhibited substantially lower biodiversity, hosting larger invertebrates that potentially feed on the bryozoan itself, along with protozoan Apicomplexa, which are parasites of invertebrates.

An interesting finding was the discovery of the phylum Entoprocta Nitsche, 1870 or Kamptozoa Cori, 1929, which have not previously been reported in the water bodies of the Baikal region. These animals, resembling hydroids and bryozoans, exhibit sessile lifestyles either solitarily or colonially, with individual organisms ranging from 1 to 5 mm in size. Entoprocts are often commensals of invertebrates, including sessile annelids, mollusk shells, and bryozoans (Brusca and Brusca, 2003; Emschermann, 1993; Kristensen, 1970; Wood, 2005). It is possible that the “creeping” colony of *P. repens* allows for the Entoprocta attachment, and the water flow generated by the bryozoan’s lophophores potentially facilitates their feeding. Due to limited studies of this phylum, nucleotide sequence data for them are nearly absent in databases, making it possible to identify them only to a high taxonomic level (Entoprocta: Barentsiidae Emschermann, 1972). Currently, approximately 200 species of Entoprocta are known, including sessile solitary species (Loxosomatidae) and colonial species (Loxokalyptodidae, Pedicellinidae, and Barentsiidae), most of which are marine. Only two species inhabit freshwater: *Loxosomatoides sirindhorne* Wood, 2005 (fam. Loxosomatidae) and *Urnatella gracilis* Leidy, 1851 (fam. Barentsiidae). It should be noted that area of *L. sirindhorne* is limited to Thailand (Wood,

2005; Schwaha et al., 2010), while *U. gracilis*, originally described as a North American species, is distributed on all continents except Antarctica (Brusca and Brusca, 2003), and has been found in the Don River (Sklyarova, 1969) and the Volga River (Vinogradov, 1997). It is possible that *U. gracilis* occurs in the water bodies of the Baikal region, although this assumption requires detailed morphological analysis.

DNA metabarcoding using the 18S rRNA gene proved to be an effective method for investigating the diversity of eukaryotic communities associated with bryozoans, as indicated by the wide range of identified taxa. Saturation and abundance graphs, as well as the expected species number indices (Chao1), confirm the statistical significance of the results. Nevertheless, it should be noted that nanopore sequencing may introduce errors in the form of insertions and deletions of nucleotides within the 18S rRNA sequences. Analysis of the results from BLASTn alignments of amplicon sequences with the SILVA database revealed that in some cases, sequence similarity (ranging from 97% to 99%) was only determined by single-nucleotide insertions and deletions rather than substitutions, a phenomenon not typically observed in short-read sequencing platforms, like Illumina. This limitation of the MinION portable DNA sequencer (Oxford Nanopore Technologies) should be considered in future software development for amplicon analysis in metabarcoding studies.

## 5. Conclusions

The results of DNA metabarcoding of the 18S rRNA gene revealed the specificity of the composition of eukaryotic communities associated with bryozoans. It was shown that the colony morphology plays a crucial role in shaping their species diversity. The community associated with *Plumatella* sp., which has a “bushy” colony form, is much more diverse and differs in species composition from the community formed on the “creeping” colony of *P. repens*.

The application of molecular-genetic methods allowed for the identification of representatives of protostome animals of the phylum Entoprocta among organisms associated with *P. repens*, which is significant for the study of aquatic biodiversity. New findings of Entoprocta in the fauna of water bodies of the Baikal region indicate that their distribution is broader than previously assumed.

## Acknowledgements

The research was supported by the state projects 121032300196-8 and 121032300180-7. The authors thank team of research vessel “Titov” (The Center for Collective Use «Research vessels Center of LIN SB RAS on Lake Baikal») for assistance in sampling. Sequencing of the samples was carried out at the Collective Use Instrument Center for Physicochemical Ultramicroanalysis of the LIN SB RAS (Center for Collective Use “Ultramicroanalysis”).

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Altschul S.F., Gish W., Miller W. et al. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology* 215(3): 403-410.
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114-2120.
- Briski E., Cristescu M.E., Bailey S.A. et al. 2011. Use of DNA barcoding to detect invertebrate invasive species from diapausing eggs. *Biological Invasions* 13: 1325-1340. DOI: [10.1007/s10530-010-9892-7](https://doi.org/10.1007/s10530-010-9892-7)
- Brusca R., Brusca G. 2003. *Invertebrates* (2nd Edition). Sunderland MA: Sinauer Associates.
- Bukin Y.S., Kravtsova L.S., Peretolchina T.E. et al. 2022. DNA metabarcoding of benthic algae and associated eukaryotes from Lake Baikal in the face of rapid environmental changes. *Vavilov Journal of Genetic and Breeding* 26(1): 86-95. DOI: [10.18699/VJGB-22-12](https://doi.org/10.18699/VJGB-22-12)
- Bukin Y.S., Mikhailov I.S., Petrova D.P. et al. 2023. The effect of metabarcoding 18S rRNA region choice on diversity of microeukaryotes including phytoplankton. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 39(229): 1-18. DOI: [10.1007/s11274-023-03678-1](https://doi.org/10.1007/s11274-023-03678-1)
- Dixon P. 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of vegetation science* 14(6): 927-930.
- Dong Y., Zheng X., Ma Y. et al. 2020. Diversity and community structure of zooplankton resting eggs in intertidal mudflats and creeks of an estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 532: 151446. DOI: [10.1016/j.jembe.2020.151446](https://doi.org/10.1016/j.jembe.2020.151446)
- Doyle J.J., Dickson E. 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon* 36: 715-722. DOI: [10.2307/1221122](https://doi.org/10.2307/1221122)
- Emschermann P. 1993. On Antarctic Entoprocta: Nematocyst-like Organs in a Loxosomatid, Adaptive Developmental Strategies, Host Specificity, and Bipolar Occurrence of Species. *The Biological Bulletin* 184(2): 153-185.
- Folmer O., Black M., Hoeh W. et al. 1994. DNA Primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
- Fuchs J., Obst M., Sundberg P. 2009. The first comprehensive molecular phylogeny of Bryozoa (Ectoprocta) based on combined analyses of nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52(1): 225-233.
- Gontar V.I. 2010. Bryozoans (Bryozoa, Polyzoa, Ectoprocta) of fresh water bodies of Russia. *Altaiskiy zoologicheskii zhurnal [Altai Zoological Journal]* 4: 52-63. (In Russian)
- Hall T. 2011. BioEdit: an important software for molecular biology. *Green Earth Research Foundation Bulletin of Bioscience* 2(1): 60-61.
- Jiang X., Xie J., Xu Y. et al. 2017. Increasing dominance of small zooplankton with toxic cyanobacteria. *Freshwater Biology* 62(2): 429-443. DOI: [10.1111/fwb.12877](https://doi.org/10.1111/fwb.12877)
- Klass A.L., Sokolova S.E., Kondakov A.V. et al. 2018. An example of a possible leech-bryozoan association in freshwater. *ZooKeys* 794: 23-30. DOI: [10.3897/zookeys.794.28088](https://doi.org/10.3897/zookeys.794.28088)
- Koletic N. 2014. Genetic diversity and gene identification of freshwater bryozoans in Croatia (Bryozoa: Gymnolaemata, Phylactolaemata). Graduation Thesis, Faculty of Science, University of Zagreb, Croatia.
- Kravtsova L.S., Peretolchina T.E., Triboy T.I. et al. 2021. Study of the diversity of aquatic organisms in the Listvenichniy Bay of Lake Baikal using DNA metabarcoding. *Genetika [Russian Journal of Genetics]* 57(4): 445-453. DOI: [10.31857/S0016675821040056](https://doi.org/10.31857/S0016675821040056) (In Russian)
- Kravtsova L.S., Peretolchina T.E., Triboy T.I. et al. 2023. A study of macroinvertebrate communities in Bolshiye Koty Bay of Lake Baikal using DNA metabarcoding. *Vavilov Journal of Genetic and Breeding* 27(6): 694-702. DOI: [10.18699/VJGB-23-80](https://doi.org/10.18699/VJGB-23-80)
- Kristensen J.H. 1970. Fauna associated with the sipunculid *Phascolion strombi* (Montagu), especially the parasitic gastropod *Menestho diaphana* (Jeffreys). *Ophelia* 7(2): 257-276.
- Littlewood D.T.J., Curini-Galletti M., Herniou E.A. 2000. The interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) tested with molecules and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16(3): 449-466.
- Medlin L., Elwood H.J., Stickel S. et al. 1988. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene* 71: 491-499. DOI: [10.1016/0378-1119\(88\)90066-2](https://doi.org/10.1016/0378-1119(88)90066-2)
- Okuyama M., Wada H., Ishii T. 2006. Phylogenetic relationships of freshwater bryozoans (Ectoprocta, Phylactolaemata) inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Zoologica Scripta* 35(3): 243-249. DOI: [10.1111/j.1463-6409.2006.00227.x](https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2006.00227.x)
- Protasov A.A. 1994. *Freshwater periphyton*. Kyiv: Naukova Dumka. (In Russian)
- Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. 2012. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research* 41(D1): D590-D596. DOI: [10.1093/nar/gks1219](https://doi.org/10.1093/nar/gks1219)
- Raddum G.G., Johnsen T.M. 1983. Growth and feeding of *Fredericella sultana* (Bryozoa) in the outlet of a humic acid lake. *Hydrobiologia* 101: 115-120.
- Ricciardi A., Reisinger H.M. 1994. Taxonomy, distribution and ecology of the freshwater bryozoans (Ectoprocta) of eastern Canada. *Canadian Journal of Zoology* 72: 339-359.
- Rubini A., Pieroni G., Elia A.C. et al. 2011. Novel morphological and genetic tools to discriminate species among the family Plumatellidae (Phylactolaemata, Bryozoa). *Hydrobiologia* 664: 81-93. DOI: [10.1007/s10750-010-0584-1](https://doi.org/10.1007/s10750-010-0584-1)
- Ryland J.S. 2005. Bryozoa: an introductory overview. In: Wöss E.R. (Ed.), *Moostiere (Bryozoa)*, pp. 9-20. (in German)
- Schwaha T., Wood T.S., Wanninger A. 2010. Trapped in freshwater: the internal anatomy of the entoproct *Loxosomatoides sirindhornae*. *Frontiers in Zoology* 7: 1-15.
- Sklyarova T.V. 1969. Distribution of *Urnatella gracilis* Leidy (Kamptozoa) in the Don River. *Gidrobiologicheskii zhurnal [Hydrobiological journal]* 5(4): 107-111. (in Russian)
- Sørensen J.P., Riber H.H., Kowalczyński A. 1986. Soluble reactive phosphorus release from bryozoan dominated periphyton. *Hydrobiologia* 132: 145-148.
- Taticchi M.I., Pieroni G., Elia A.C. 2008. First finding of *Plumatella valhiraiae* (Hastings, 1929) (Bryozoa, Phylactolaemata) in Europe. *Italian Journal of Zoology* 75(4): 411-416.
- Van der Auwera G., Chapelle S., De Wächter R. 1994. Structure of the large ribosomal subunit RNA of *Phytophthora megasperma*, and phylogeny of the oomycetes. *FEBS letters* 338(2): 133-136.
- Vinogradov A.V. 1997. Finding of *Urnatella gracilis* Leidy (Kamptozoa) in Volga River. *Byulleten' Samarskaya Luka [Samara Luka Bulletin]* 9: 203-205. (In Russian)
- Vinogradov A.V. 2008. Fauna of bryozoans Eurystomata and Phylactolaemata of Lake Baikal. *Vestnik Samarckogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta [Bulletin of the Samara State Pedagogical University]* 6(1): 19-31. (In Russian)

Waeschenbach A., Taylor P.D., Littlewood D.T.J. 2012. A molecular phylogeny of bryozoans. *Molecular phylogenetics and evolution* 62(2): 718–735. DOI: [10.1016/j.ympev.2011.11.011](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.011)

White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J. et al. (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. NY Acad. Press, pp. 315–322.

Wickham H. 2011. ggplot2. *Wiley interdisciplinary reviews: computational statistics* 3(2): 180-185. DOI: [10.3354/meps07322](https://doi.org/10.3354/meps07322)

Wood T. 2002. Freshwater bryozoans: a zoogeographical reassessment. In: Jackson P.N.W., Buttler C.J., Jones M.E.S. (Eds.). *Bryozoan studies 2001*. Lisse, Abington: A. A. Balkema Publishers, pp. 339–345.

Wood T.S. 2005. *Loxosomatoides sirindhornae*, new species, a freshwater kamptozoan from Thailand (Entoprocta). *Hydrobiologia* 544: 27-31. DOI: [10.1007/s10750-004-7909-x](https://doi.org/10.1007/s10750-004-7909-x)



# Эукариотические сообщества пресноводных мшанок (Phylactolaemata: Plumatellidae) Байкальского региона

Перетолчина Т.Е.<sup>1\*</sup>, Щербакова А.А.<sup>1</sup>, Ситникова Т.Я.<sup>1</sup>,  
Адельшин Р.В.<sup>2</sup>, Букин Ю.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Улан-Баторская, д. 3, Иркутск, 664033, Россия

<sup>2</sup> Иркутский государственный университет, ул. Сухэ-Батора, д. 5, Иркутск, 664025, Россия

**АННОТАЦИЯ.** Методом ДНК метабаркодинга на основе 18S рРНК исследовано разнообразие сообществ организмов, ассоциированных с мшанками. Полученные результаты свидетельствуют о том, что для каждого вида мшанок, сосуществующих в непосредственной близости друг от друга, свойственно своеобразное сообщество ассоциированных с ними эукариот, состав которого, вероятно, зависит от формы колоний. Сообщество, ассоциированное с «кустистой» колонией *Plumatella* sp. оказалось более разнообразным, и отличалось по видовому составу от сообщества, сформировавшегося на «стелющейся» колонии *P. repens*. На «кустистых» мшанках преобладали диатомовые водоросли (60%) и инфузории (22%), а также золотистые водоросли (4%), гидры (3%), хитридиомицеты (1,6%), коловратки (1%). На «стелющейся» мшанке обнаружены одноклеточные водоросли (32%), динофлагелляты (27%), апикомплексы (10,6%), другие классы простейших (амебы, эвглены и др.) (4,6%), из беспозвоночных животных преобладали кольчатые (12,5%) и ленточные (4%) черви, моллюски (3%); обнаружены представители первичноротых животных типа Entoprocta, которые ранее не были отмечены в водоемах Байкальского региона.

**Ключевые слова:** ДНК метабаркодинг, 18S рРНК, ITS1–5.8S–ITS2, COI, 16S рРНК

**Для цитирования:** Перетолчина Т.Е., Щербакова А.А., Ситникова Т.Я., Адельшин Р.В., Букин Ю.С. Эукариотические сообщества пресноводных мшанок (Phylactolaemata: Plumatellidae) Байкальского региона // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 3. - С. 268-283. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-3-268

## 1. Введение

Мшанки (тип Bryozoa) принадлежат колониальному животному, ведущим прикрепленный образ жизни. Селятся на любом твердом субстрате – затонувшей древесине, макрофитах, камнях, пластике, полиэтилене и др. Некоторые виды обрастают днища кораблей (Гонтарь, 2010).

В типе выделяют три класса: Phylactolaemata (Покрыторотые), Stenolaemata (Узкоротые) и Gymnolaemata (Голоротые). Phylactolaemata включает один отряд, семь семейств и около 70 видов, обитающих исключительно в пресных водах (Ryland, 2005). Представители этого класса широко распространены по всему миру, за исключением полярных областей, и населяют ленточеские и лоточеские экосистемы, некоторые виды считаются космополитами (Wood, 2002). Колонии филактолемат состоят

из зооидов, в которых выделяют два отдела – мягкий полипид с венчиком щупалец и желатинизированный (или хитинизированный) цистид, являющийся экзоскелетом, в него втягивается полипид. Внутри венчика щупалец находится ротовое отверстие, прикрытое эпистомом.

Среди филактолемат наиболее разнообразно сем. Plumatellidae Allman, 1856, насчитывающее 4 рода и более 20 валидных видов, из которых наибольшее число принадлежит роду *Plumatella* Lamarck, 1816. Для пресных вод России отмечено 7 видов рода (Гонтарь, 2010), три из них встречены в Байкальском регионе (Виноградов, 2008).

Филактолематы нередко доминируют среди гидробионтов. В ряде случаев, как активные фильтраторы, при обильном развитии играют огромную роль в самоочищении водоема (Протасов, 1994). Размер колоний варьирует от нескольких мил-

\*Автор для переписки.

Адрес e-mail: [tanya@lin.irk.ru](mailto:tanya@lin.irk.ru) (Т.Е. Перетолчина)

**Поступила:** 17 декабря 2024; **Принята:** 22 апреля 2025;  
**Опубликована online:** 11 июня 2025

© Автор(ы) 2025. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



лиметров до десятков сантиметров. Их быстрый рост может привести к высокой биомассе бентоса. Таким образом, мшанки также играют важную роль в круговороте питательных веществ (Sørensen et al., 1986). Пресноводные мшанки могут образовывать ассоциации с другими мшанками, губками, гидроидами и личинками ручейников (Ricciardi and Reiswig 1994). Их колонии обеспечивают среду обитания для различных мелких организмов, таких как коловратки, планарии, нематоды, аннелиды, моллюски, гастротрихи, копеподы, тардиграды, личинки насекомых, клещи и др. (Raddum and Johnsen, 1983; Ricciardi and Reiswig, 1994).

Виды *Plumatella* имеют разные по форме и размерам колонии, что позволяет предполагать существование различных по составу сообществ, ассоциированных с телом колоний. Для проверки этой гипотезы мы использовали современный молекулярно-генетический метод – ДНК метабаркодинг, который позволяет идентифицировать таксономический состав сообщества путем амплификации и высокопроизводительного секвенирования последовательностей маркерных генов. Метабаркодинг сообществ, ассоциированных с определенным организмом, позволяет также предполагать механизмы и типы взаимодействий между разными группами организмов и их возможную экологическую роль в сообществе.

ДНК метабаркодинг с использованием фрагмента гена COI успешно применяется при исследовании сообществ беспозвоночных животных в бухте большие Коты и Лиственничном заливе озера Байкал

(Кравцова и др., 2021; Кравцова и др., 2023). Кроме того, этот метод показал свою эффективность при исследовании разнообразия организмов, ассоциированных с зелеными водорослями на основе фрагмента гена 18S рРНК (Букин и др., 2022), а также применялся при исследовании микроэукариотических планктонных сообществ Байкала (Bukin et al., 2023).

Целью работы было исследовать и сравнить состав сообществ эукариотических организмов, ассоциированных с двумя видами мшанок, обитающих симпатрически и различающихся морфологией колоний.

## 2. Материалы и методы.

Колонии мшанок были собраны с затопленной древесины в устье р. Томпуда (север оз. Байкал, 55,12122° N 109,753418° E) в 2022 году (Рис. 1). Вблизи устья долина реки имеет характер заболоченной равнины, изрезанной многочисленными протоками, заросшими макрофитами и с большим количеством затопленных бревен. Почти на каждом из них встречались мшанки. Колонии собраны с одного затопленного бревна, чтобы исключить влияние местообитания на таксономический состав организмов, ассоциированных с ними.

Прижизненные фотографии фрагментов колоний (Рис. 1) сделаны под стереоскопическим микроскопом МСП-1 (ОАО «Ломо»), оснащенный цифровой фотокамерой Levenhuk C800.

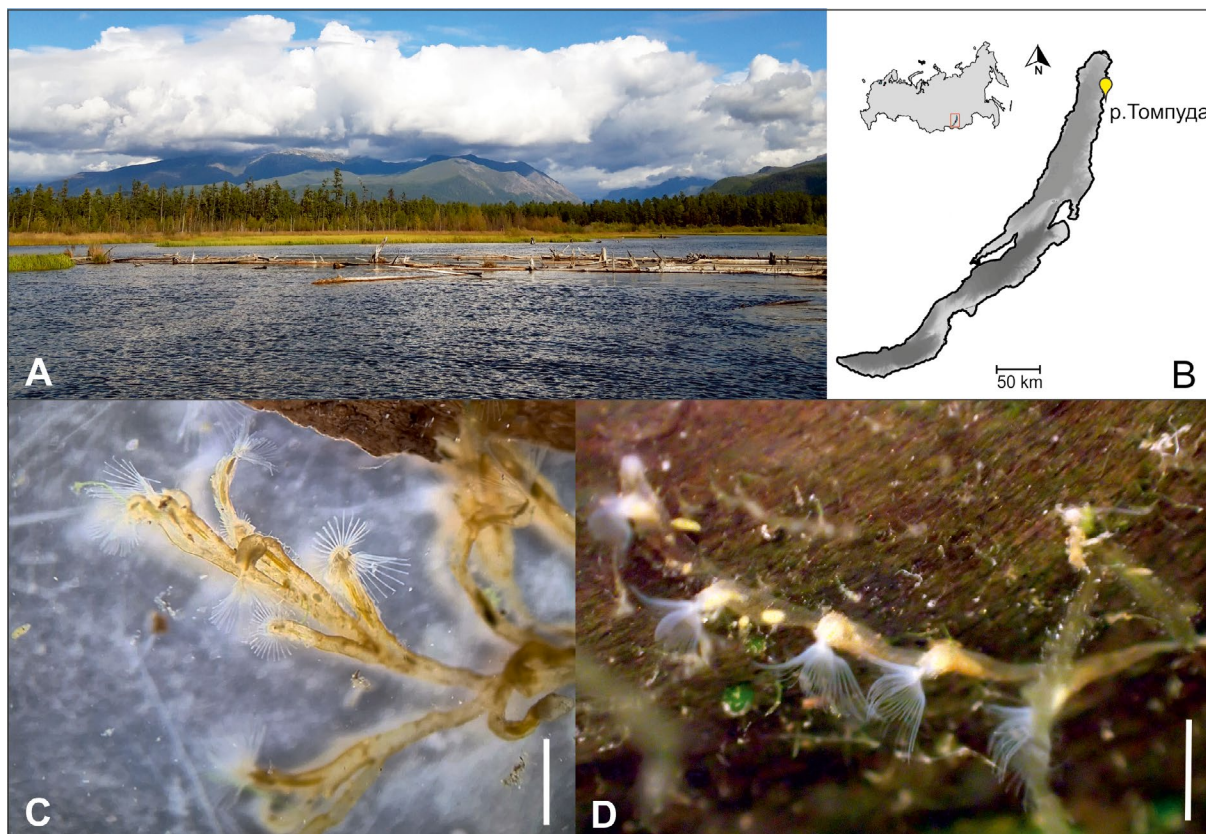


Рис.1. А – фото устья р. Томпуда; Карта оз. Байкал с указанной точкой сбора; С, D – прижизненное фото колоний мшанок. С – *Plumatella* sp.; D – *P. repens*. Масштаб – 1 мм.

ДНК экстрагирована по протоколу, описанному Дойлом и Диксон (Doyle and Dickson, 1987). Препараты ДНК для последующего секвенирования по Сэнгеру получены из небольших фрагментов колоний, которые предварительно тщательно очищали, чтобы избежать контаминации организмами, обитающими на мшанках. ДНК для метабаркодинга экстрагировали из больших фрагментов колоний (по пять для каждого вида).

Все полученные препараты ДНК были амплифицированы. Амплификация проведена с помощью набора реактивов BioMaster HS-Taq PCR Kit (Biolabmix, Россия), согласно рекомендациям производителя. Условия амплификации и структура праймеров приведены в таблице 1.

Продукты реакции проанализированы электрофоретически в 1%-ном агарозном геле. В случае метабаркодинга, ПЦР-продукты объединяли в одну пробирку для каждого вида.

Ферментативная очистка продуктов проведена с помощью коммерческого набора ExoSAP-IT express (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу, рекомендованному производителем.

Секвенирование маркеров COI и 16S мтДНК и ITS1–5.8S–ITS2 яДНК проведено на генетическом анализаторе «НАНОФОР 05» с помощью набора реагентов Brilliant Dye Terminator (v.3.1) Sequencing kit (NimaGene, Голландия). Нуклеотидные последовательности отредактированы и выровнены в программе BioEdit (Hall, 2011).

Таксономическую принадлежность исследуемых мшанок определяли методом ДНК баркодинга с помощью маркеров COI, 16S мтДНК и ITS1–5.8S–ITS2 яДНК. Делимитация таксонов проведена с помощью веб-версии программы ASAP, доступной по ссылке: <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/>. В качестве меры генетических расстояний использовали *p*-расстояния. Дополнительно из базы данных GenBank привлечены нуклеотидные последовательности разных видов сем. Plumatellidae по маркерам COI, 16S и ITS1–5.8S–ITS2 (Таблица 2).

ДНК метабаркодинг ассоциированных с мшанкой эукариот проведен по гену 18S рРНК с помощью нанопорового секвенирования с использованием портативного ДНК-секвенатора MinION (Oxford Nanopore Technologies). Качество полученных прочтений проверено с помощью программы FastQC. Последовательности отсортированы по качеству в Trimmomatic-0.32 (Bolger et al., 2014), для анализа выбраны последовательности со средним качеством прочтения более 12 баллов. Идентификация последовательностей проводилась по базе данных SILVA (Quast et al., 2012). В анализе использована версия базы 138.2, из которой были извлечены полноразмерные фрагменты 18S рРНК. Сравнение расшифрованных фрагментов ампликонной библиотеки с базой SILVA проводилась с помощью алгоритма BLASTn (Altschul et al., 1990) с параметрами word\_size = 25, gapopen = 2, gapextend = 1, reward = 1, penalty = -1. Выбранный диапазон параметров позволяет идентифицировать последовательности ампликонов с низкой степенью родства со сравнимой базой данных. Последовательность 18S рРНК ампликона считалась идентифицированной при параметрах выравниваний E-value ≤ 0,00001 и bit score ≥ 50, что характеризует неслучайное совпадение. Все последовательности 18S рРНК ампликона, картирующиеся по результатам BLASTn выравниваний на одну и ту же последовательность базы SILVA были сгруппированы в ОТЕ (операционная таксономическая единица). Представленность ОТЕ в пробе характеризовалась количеством приходившихся на него прочтений 18S рРНК ампликона.

Результаты визуализированы в виде гистограммы, на которой ОТЕ объединены в таксоны высокого ранга.

Статистическая сходимость результатов оценки таксономического разнообразия охарактеризована с помощью кривых насыщения и индекса Chao1 (индекс ожидаемого числа ОТЕ в пробах). Графическое сравнение разнообразия сообществ проводилось с помощью кривых таксономического

Таблица 1. Условия амплификации и структура праймеров.

Ген	Условия амплификации, 30 циклов	Структура праймеров	Ссылки
COI	денатурация ДНК: 95°C – 40с (5 минут на первом цикле), отжиг праймеров – 50°C - 60с, элонгация нуклеотидной цепи – 72°C – 60с (10 минут на последнем цикле)	LCO1490 (f) 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G -3' HCO2198 (r) 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'	Folmer et al., 1994
ITS1–5,8S–ITS2		ITS1 (f) 5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3' ITS4 (r): 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'	White et al., 1990
18S	денатурация ДНК: 95°C – 60с (5 минут на первом цикле), отжиг праймеров: 55°C - 60с, элонгация нуклеотидной цепи: 72°C – 60с (10 минут на последнем цикле)	EukA (f) 5'-ACC TGG TTG ATC CTG CCA GT-3' EukB (r) 5'-TGA TCC TTC TGC AGG TTC ACC TAC-3'	Medlin et al., 1988
16S		ZX-1-F 5'-ACC CGC TGA ATT TAA GCA TAT-3' LSUD-R 5'-ACG GAA TGA ACT CAA ATC ATG TAA G-3'	Van der Auwera et al., 1994 Littlewood et al., 2000



**Таблица 2.** Список таксонов, использованных для делимитации таксонов с номерами доступа в GenBank и ссылками.

Название вида	COI GB#	Ссылки	ITS1–5,8S–ITS2 GB#	Ссылки	16S GB#	Ссылки
<i>Plumatella fungosa</i> (Pallas, 1768)	KF805632	Dash and Vasemägi, 2014, неопубликовано	GU733426	Rubini et al., 2011	AB365624	Hirose et al., 2011, неопубликовано
	MH286272	Klass et al., 2018	-	-	-	-
<i>Plumatella repens</i> (Linnaeus, 1758)	FJ196105	Fuchs et al., 2009	GU733417	Rubini et al., 2011	AB365622	Hirose et al., 2011, неопубликовано
	-	-	EU377576	Taticchi et al., 2010, неопубликовано	-	-
<i>Plumatella vaihiriaie</i> (Hastings, 1929)	-	-	EU377577	Taticchi et al., 2010, неопубликовано	AB365625	Hirose et al., 2011, неопубликовано
<i>Plumatella casmiana</i> Oka, 1907	KJ024813	Koletic, 2014	EU377579	Taticchi et al., 2010, неопубликовано	GQ343297	Briski et al., 2011
	-	-	-	-	AB365629	Hirose et al., 2011, неопубликовано
<i>Plumatella rugosa</i> Wood, Wood, Geimer & Massard, 1998	-	-	GU733418	Rubini et al., 2011	AB365623	Hirose et al., 2011, неопубликовано
<i>Plumatella viganoi</i> Taticchi 2010	-	-	GU733422, GU733421, GU733420	Rubini et al., 2011	-	-
<i>Plumatella geimermassardi</i> Wood and Okamura, 2004	-	-	GU733423	Rubini et al., 2011	-	-
	-	-	EU377578	Taticchi et al., 2010, неопубликовано	-	-
<i>Plumatella emarginata</i> Allman, 1844	-	-	GU733424	Rubini et al., 2011	JN681057	Waeschenbach et al., 2012
	-	-	-	-	AB365623	Hirose et al., 2011, неопубликовано
	-	-	-	-	GQ343296, GQ343300, GQ343301	Briski et al., 2011
<i>Plumatella reticulata</i> Wood, 1988	-	-	GU733425	Rubini et al., 2011	-	-
<i>Plumatella vorstmani</i> Toriumi, 1952	-	-	-	-	AB365634	Hirose et al., 2011, неопубликовано
Plumatellidae sp.	KU720129	Jiang et al., 2017	-	-	-	-
	KX620051	Dong et al., 2020	-	-	-	-
<i>Hyalinella punctata</i> (Hancock, 1850)	KJ024814	Koletic, 2014	EU377580	Taticchi et al., 2010, неопубликовано	AB365631	Hirose et al., 2011, неопубликовано
	-	-	GU733427, GU733428	Rubini et al., 2011	DQ305342	Okuyama et al., 2006

обилия с учетом того, что чем медленнее кривая стремится к нулю, тем разнообразнее сообщество. Разнообразие исследуемых сообществ оценивали с помощью индекса Шеннона. Все статистические расчеты и графическая визуализация результатов проведены с использованием пакета «Vegan» (Dixon, 2003) и «ggplot2» (Wickham, 2011) для среды программирования R.

### 3. Результаты

По внешнему строению зоидов и колоний, исследуемые мшанки отнесены к двум видам рода

*Plumatella* (Рис. 1). Для каждого вида получено по две нуклеотидные последовательности для маркеров COI (629 п.н.), 16S (439–440 п.н.), ITS1–5.8S–ITS2 (738–742 п.н.) и депонировано в базу данных GenBank с номерами доступа: PQ766342–PQ766343, PQ771669–PQ771670 (COI); PQ770921–PQ770922, PQ772041–PQ772042 (ITS1–5.8S–ITS2); PQ774235–PQ774238 (16S).

По результатам делимитации таксонов с использованием трех молекулярно-генетических маркеров мшанку со «стелющимся» типом колонии отнесли к *Plumatella repens* (Linnaeus, 1758), в то время как мшанку с «кустистым» типом коло-



нии (*Plumatella* sp.) не удалось точно определить до вида, из-за отсутствия достаточного количества нуклеотидных последовательностей в GenBank. По фрагменту 16S мтДНК сестринским видом для этой мшанки является *P. emarginata* Allman, 1844 (генетическая дистанция составила 2% нуклеотидных замен), а по ITS1–5.8S–ITS2 она оказалась близка к *P. vaihiriae* (Hastings, 1929) (генетическая дистанция 0,4% замен). По фрагменту гена COI делимитацию таксонов провести не удалось из-за отсутствия нуклеотидных последовательностей *P. emarginata* и *P. vaihiriae* в GenBank.

Исходные наборы данных после нанопорового секвенирования гена 18S рРНК включали 44771 последовательностей для *Plumatella* sp. и 51057 – для *P. repens*, после фильтрации по качеству наборы включали 19027 и 21762 последовательностей, соответственно, из которых были сформированы ОТЕ. Одиночные ОТЕ (представленность меньше 4 копий на пробу) не принимались в расчет. В итоге, для *Plumatella* sp. идентифицировано 299 ОТЕ, для *P. repens* – 33 ОТЕ.

Графики с кривыми насыщения и таксономического обилия представлены на Рис. 2. Кривые насыщения для обоих видов выходят на плато, что подтверждает результат, как статистически достоверный. Ожидаемое число таксонов, рассчитанное с помощью индекса Chao1, совпадает с фактическим результатом выделенных ОТЕ.

Индекс биоразнообразия Шеннона для сообщества, ассоциированного с «кустистой» мшанкой *Plumatella* sp., составил 4,1, а со «стелющейся» *P. repens* – 2,8.

Таксономический состав (в процентном соотношении) обоих сообществ, представлен на диаграмме (Рис. 3). В составе сообществ отмечен 21 таксон высокого ранга. На «кустистых» мшанках преобладали диатомовые водоросли (60%), инфузории (22%), а также золотистые водоросли (4%) и гидры (3%). Кроме того, в этой пробе обнаружены хитридиомицеты (1,6%), являющиеся паразитами водорослей и беспозвоночных животных. Также среди организмов, ассоциированных с «кустистой» мшанкой, были коловратки (1%), возможно, при-

влекаемые большим количеством инфузорий, одноклеточных водорослей и бактерий, которыми они питаются.

На «стелющейся» мшанке биоразнообразие меньше. Преобладали одноклеточные водоросли (32%) и динофлагелляты (27%), встречались апикомплексы (10,6%), являющиеся паразитами беспозвоночных животных и другие классы простейших (амебы, эвглени и др.) (4,6%). Среди беспозвоночных животных преобладали кольчатые черви (12,5%), ленточные черви (4%) и моллюски (3%). Обнаружены также нуклеотидные последовательности первичноротых животных типа Entoprocta.

#### 4. Обсуждение

В устье реки Томпуда, впадающей в Байкал, выявлено симпатрическое обитание двух генетически далеких (16% замен по COI, 9% по ITS1–5.8S–ITS2, 4% по 16S) видов рода *Plumatella*. Один из них – *P. repens*, широко распространен в водоемах умеренной зоны. Другой вид – *Plumatella* sp. – по маркеру ITS1–5.8S–ITS2 оказался генетически сходным (0,4% замен) с *Plumatella vaihiriae* (Hastings, 1929), который был описан из озера на о. Таити и обнаружен в озерах Гавайев, Аргентины, Тайланда, США (Taticchi et al., 2008). По маркеру 16S (2% замен) *Plumatella* sp. является сестринским к *P. emarginata*, распространенному в Евразии, Северной Америке и Новой Зеландии. Следует отметить, что присутствие *P. emarginata* отмечалось ранее и в Байкальском регионе (Виноградов, 2008), однако обнаруженные нами мшанки по уровню генетических отличий, скорее всего, представляют собой самостоятельный вид (возможно, новый для науки), для точной таксономической идентификации которого необходим морфологический анализ статобластов.

Совместное обитание 2 видов мшанок на одном субстрате, не является уникальным для Байкальского региона, например Taticchi et al. (2008) показали совместное обитание *P. vaihiriae* с *P. fungosa* (Pallas, 1768), а также представителями Victorellidae Hincks, 1880 в озерах Италии.

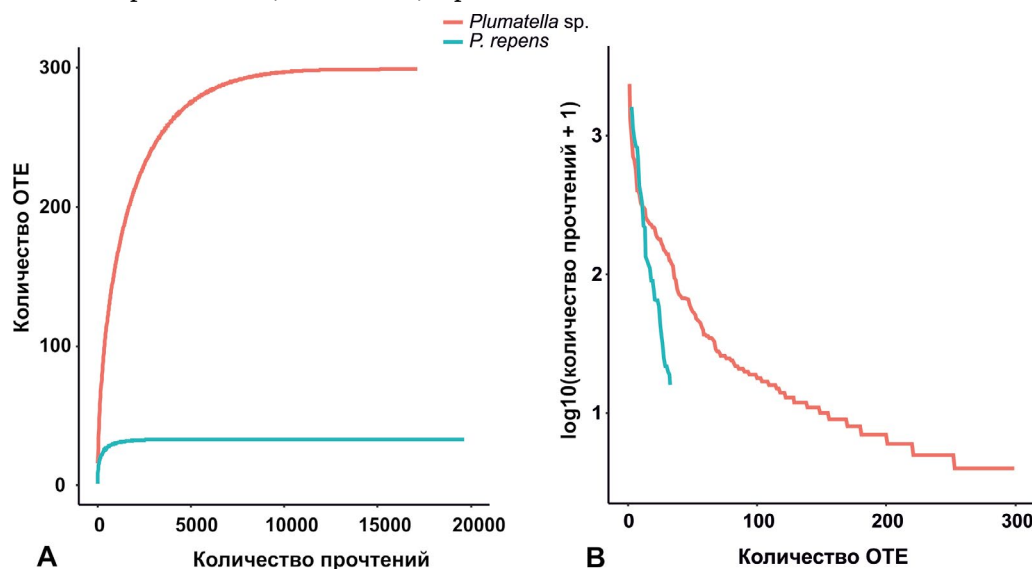


Рис.2. А – кривая насыщения; В – кривая обилия.

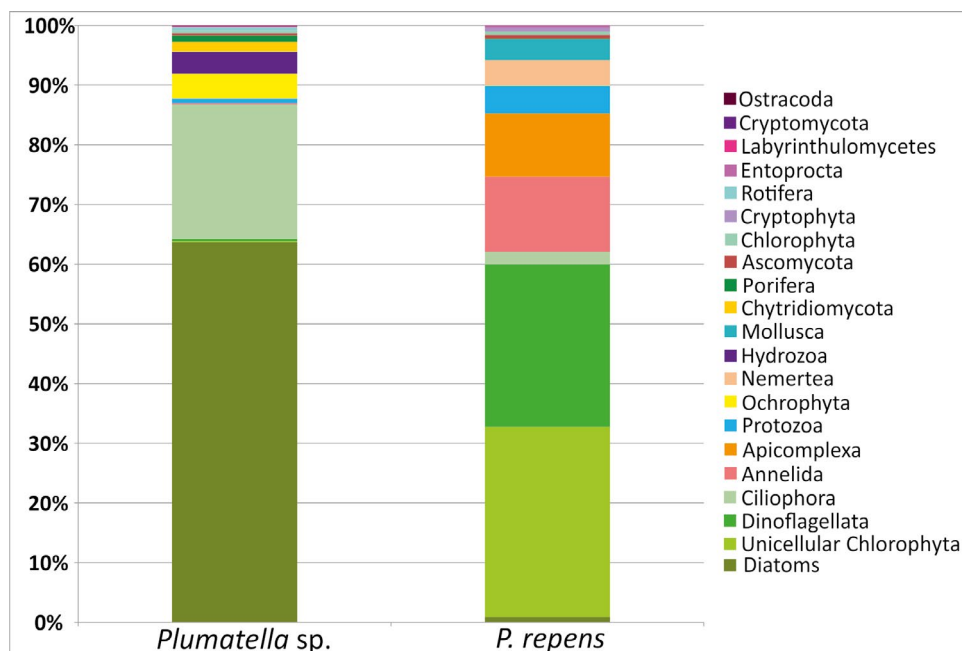


Рис.3. Гистограмма распределения ОТЕ по таксонам высокого ранга для *Plumatella sp.* и *P. repens*.

Исследованные мшанки имеют разные формы колоний: *P. repens*, в соответствии с названием, – ползучая или стелющаяся – образует ветвистые трубки, плоско стелющиеся по субстрату, *Plumatella sp.* имеет трубчатые разветвленные зооиды, высоко поднимающиеся над субстратом (по типу куста). Мы обнаружили, что для каждого вида сосуществующих мшанок свойственно своеобразное сообщество ассоциированных с ними эукариот, состав которого, вероятно, зависит от формы колоний. Сообщество организмов, ассоциированное с «кустистой» *Plumatella sp.*, оказалось намного разнообразнее (индекс Шеннона = 4,1) сообщества, ассоциированного с колонией «стелющейся» *P. repens* (индекс Шеннона = 2,8) как по составу таксонов высокого ранга, так и по числу доминирующих ОТЕ. Это может быть связано с тем, что структура «кустистой» колонии формирует пространства между зооидами с микросредой, благоприятной для обитания разнообразных эпобионтов. К зооидам мшанок легко крепятся различные диатомовые водоросли, о чем свидетельствует приходящееся на них большое количество прочтений. На стелющейся колонии, биоразнообразие значительно ниже. Встречаются крупные беспозвоночные, которые, возможно, питаются самой мшанкой, простейшие типа Apicomplexa, являющиеся паразитами беспозвоночных.

Интересной находкой стало обнаружение первичноротых животных типа Entoprocta Nitsche, 1870 или Kamptozoa Cori, 1929 (Внутрипорошицевые или Сгибающиеся), которые ранее не были отмечены в водоемах Байкальского региона. Эти животные внешне напоминают гидроидных и мшанок, ведут прикрепленный образ жизни, живут поодиночке или в колониях, размер одного организма 1–5 мм. Внутрипорошицевые чаще всего являются комменсалами на беспозвоночных, таких как губки, неподвижные кольчатые черви, раковины моллюсков и мшанки (Brusca and Brusca, 2003; Emschermann, 1993; Kristensen, 1970; Wood, 2005). Возможно, «сте-

люющаяся» форма колонии *P. repens* позволяет прикрепляться представителям Entoprocta, а ток воды, создаваемый лофофорами мшанки, облегчает их питание. Поскольку представители данного типа крайне мало изучены, в базах данных практически нет информации об их нуклеотидных последовательностях, поэтому идентификацию удалось провести только на уровне таксона высокого ранга (Entoprocta: Barentsiidae Emschermann, 1972). В настоящее время известно около 200 видов Entoprocta включающих сидячих, одиночных (сем. Loxosomatidae) или колониальных (сем. Loxokalypodidae, Pedicellinidae и Barentsiidae), в основном морских организмов. Известно всего два вида, которые обитают в пресных водах: *Loxosomatoides sirindhorne* Wood, 2005 (сем. Loxosomatidae) и *Umatella gracilis* Leidy, 1851 (сем. Barentsiidae). Причем ареал *L. sirindhorne* ограничен Таиландом (Wood, 2005; Schwaha et al., 2010), в то время как *U. gracilis*, изначально описанный как Североамериканский вид, распространен на всех континентах, кроме Антарктиды (Brusca and Brusca, 2003), обнаружен в реках Дон (Склярова, 1969) и Волга (Виноградов, 1997). Возможно, именно этот вид Entoprocta встречается в водоемах Байкальского региона, хотя это предположение требует проведения детального морфологического анализа.

ДНК метабаркодинг с использованием гена 18S рРНК оказался эффективным методом для исследования разнообразия ассоциированных с мшанками эукариотических сообществ, о чем свидетельствует широкий спектр выявленных таксонов. Графики насыщения и обилия, а также индекс ожидаемого числа видов в пробах *Chao1* подтверждают статистическую достоверность результата. Тем не менее, следует обратить внимание, что при нанопоровом секвенировании не исключены ошибки в виде вставок и делеций нуклеотидов в последовательностях 18S рРНК. Анализ результатов BLASTn выравниваний последовательностей ампликонов с базой данных SILVA показал, что в некоторых слу-

чаях степень сходства между последовательностями 18S рРНК, варьирующая в пределах от 99% до 97%, определялась только наличием однобуквенных вставок и делеций, а не нуклеотидными заменами, что исключено при секвенировании коротких фрагментов на платформах типа Illumina. Данную особенность портативного ДНК-секвенатора MinION (Oxford Nanopore Technologies) следует учитывать в дальнейшем разработчикам программного обеспечения для анализа ампликонов при метабаркодинговых исследованиях.

## 5. Выводы

Результаты ДНК метабаркодинга по гену 18S рРНК выявили специфичность состава ассоциированных с мшанками эукариотических сообществ. Показано, что форма колоний имеет критическое значение для формирования их видового богатства. Сообщество, ассоциированное с *Plumatella* sp., имеющего «кустистую» форму колонии, гораздо разнообразнее, и отличается по видовому составу от сообщества, сформировавшегося на «стелющейся» колонии *P. repens*.

Применение молекулярно-генетических методов позволило выявить среди организмов, ассоциированных с *P. repens* представителей первичноротых животных Entoprocta, что представляет интерес с точки зрения изучения биоразнообразия водоемов. Новые находки первичноротых Entoprocta в составе фауны водоемов Байкальского региона свидетельствуют о том, что их ареал шире, чем предполагалось ранее.

## Благодарности

Работа выполнена при поддержке бюджетных проектов 121032300196-8 и 121032300180-7. Авторы выражают благодарность команде НИС «Титов» (ЦКП «Центр комплексных судовых исследований Байкала») за помощь в отборе проб. Секвенирование образцов проведено в Приборном центре коллективного пользования физико-химического ультрамикрoанализа ЛИН СО РАН (ЦКП «Ультрамикрoанализ»).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы

Altschul S.F., Gish W., Miller W. et al. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology* 215(3): 403-410.

Briski E., Cristescu M.E., Bailey S.A. et al. 2011. Use of DNA barcoding to detect invertebrate invasive species from diapausing eggs. *Biological Invasions* 13: 1325-1340. DOI: [10.1007/s10530-010-9892-7](https://doi.org/10.1007/s10530-010-9892-7)

Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114-2120.

Brusca R., Brusca G. 2003. *Invertebrates* (2nd Edition). Sunderland MA: Sinauer Associates.

Bukin Y.S., Mikhailov I.S., Petrova D.P. et al. 2023. The effect of metabarcoding 18S rRNA region choice on diversity of microeukaryotes including phytoplankton. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 39(229): 1-18. DOI: [10.1007/s11274-023-03678-1](https://doi.org/10.1007/s11274-023-03678-1)

Dixon P. 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of vegetation science* 14(6): 927-930.

Dong Y., Zheng X., Ma Y. et al. 2020. Diversity and community structure of zooplankton resting eggs in intertidal mudflats and creeks of an estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 532: 151446. DOI: [10.1016/j.jembe.2020.151446](https://doi.org/10.1016/j.jembe.2020.151446)

Doyle J.J., Dickson E. 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon* 36: 715-722. DOI: [10.2307/1221122](https://doi.org/10.2307/1221122)

Emschermann P. 1993. On Antarctic Entoprocta: Nematocyst-like Organs in a Loxosomatid, Adaptive Developmental Strategies, Host Specificity, and Bipolar Occurrence of Species. *The Biological Bulletin* 184(2): 153-185.

Folmer O., Black M., Hoeh W. et al. 1994. DNA Primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.

Fuchs J., Obst M., Sundberg P. 2009. The first comprehensive molecular phylogeny of Bryozoa (Ectoprocta) based on combined analyses of nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52(1): 225-233.

Hall T. 2011. BioEdit: an important software for molecular biology. *Green Earth Research Foundation Bulletin of Bioscience* 2(1): 60-61

Jiang X., Xie J., Xu Y. et al. 2017. Increasing dominance of small zooplankton with toxic cyanobacteria. *Freshwater Biology* 62(2): 429-443. DOI: [10.1111/fwb.12877](https://doi.org/10.1111/fwb.12877)

Klass A.L., Sokolova S.E., Kondakov A.V. et al. 2018. An example of a possible leech-bryozoan association in freshwater. *ZooKeys* 794: 23-30. DOI: [10.3897/zookeys.794.28088](https://doi.org/10.3897/zookeys.794.28088)

Koletic N. 2014. Genetic diversity and gene identification of freshwater bryozoans in Croatia (Bryozoa: Gymnolaemata, Phylactolaemata). Graduation Thesis, Faculty of Science, University of Zagreb, Croatia.

Kristensen J.H. 1970. Fauna associated with the sipunculid *Phascolion strombi* (Montagu), especially the parasitic gastropod *Menestho diaphana* (Jeffreys). *Ophelia* 7(2): 257-276.

Littlewood D.T.J., Curini-Galletti M., Herniou E.A. 2000. The interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) tested with molecules and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16(3): 449-466.

Medlin L., Elwood H.J., Stickel S. et al. 1988. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene* 71: 491-499. DOI: [10.1016/0378-1119\(88\)90066-2](https://doi.org/10.1016/0378-1119(88)90066-2)

Okuyama M., Wada H., Ishii T. 2006. Phylogenetic relationships of freshwater bryozoans (Ectoprocta, Phylactolaemata) inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Zoologica Scripta* 35(3): 243-249. DOI: [10.1111/j.1463-6409.2006.00227.x](https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2006.00227.x)

Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. 2012. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research* 41(D1): D590-D596. DOI: [10.1093/nar/gks1219](https://doi.org/10.1093/nar/gks1219)

Raddum G.G., Johnsen T.M. 1983. Growth and feeding of *Fredericella sultana* (Bryozoa) in the outlet of a humic acid lake. *Hydrobiologia* 101: 115-120.

- Ricciardi A., Reisinger H.M. 1994. Taxonomy, distribution and ecology of the freshwater bryozoans (Ectoprocta) of eastern Canada. *Canadian Journal of Zoology* 72: 339–359.
- Rubini A., Pieroni G., Elia A.C. et al. 2011. Novel morphological and genetic tools to discriminate species among the family Plumatellidae (Phylactolaemata, Bryozoa). *Hydrobiologia* 664: 81–93. DOI: [10.1007/s10750-010-0584-1](https://doi.org/10.1007/s10750-010-0584-1)
- Ryland J.S. 2005. Bryozoa: an introductory overview. In: Wöss E.R. (Ed.), *Moostiere (Bryozoa)*, pp. 9–20. (in German)
- Schwaha T., Wood T.S., Wanninger A. 2010. Trapped in freshwater: the internal anatomy of the ectoproct *Loxosomatoides sirindhornae*. *Frontiers in Zoology* 7: 1–15.
- Sørensen J.P., Riber H.H., Kowalczewski A. 1986. Soluble reactive phosphorus release from bryozoan dominated periphyton. *Hydrobiologia* 132: 145–148.
- Taticchi M.I., Pieroni G., Elia A.C. 2008. First finding of *Plumatella vaihiria* (Hastings, 1929) (Bryozoa, Phylactolaemata) in Europe. *Italian Journal of Zoology* 75(4): 411–416.
- Van der Auwera G., Chapelle S., De Wächter R. 1994. Structure of the large ribosomal subunit RNA of *Phytophthora megasperma*, and phylogeny of the oomycetes. *FEBS letters* 338(2): 133–136.
- Waeschenbach A., Taylor P.D., Littlewood D.T.J. 2012. A molecular phylogeny of bryozoans. *Molecular phylogenetics and evolution* 62(2): 718–735. DOI: [10.1016/j.ympev.2011.11.011](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.011)
- White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J. et al. (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. NY Acad. Press, pp. 315–322.
- Wickham H. 2011. ggplot2. *Wiley interdisciplinary reviews: computational statistics* 3(2): 180–185. DOI: [10.3354/meps07322](https://doi.org/10.3354/meps07322)
- Wood T. 2002. Freshwater bryozoans: a zoogeographical reassessment. In: Jackson P.N.W., Buttler C.J., Jones M.E.S. (Eds.). *Bryozoan studies 2001*. Lisse, Abington: A. A. Balkema Publishers, pp. 339–345.
- Wood T.S. 2005. *Loxosomatoides sirindhornae*, new species, a freshwater kamptozoa from Thailand (Entoprocta) *Hydrobiologia* 544: 27–31. DOI: [10.1007/s10750-004-7909-x](https://doi.org/10.1007/s10750-004-7909-x)
- Букин Ю.С., Кравцова Л.С., Перетолчина Т.Е. и др. 2022. ДНК-метабаркодинг бентосных водорослей и ассоциированных с ними эукариот оз. Байкал в условиях быстрых экологических изменений. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 26(1): 86–95. DOI: [10.18699/VJGB-22-12](https://doi.org/10.18699/VJGB-22-12)
- Виноградов А.В. 1997. Нахождение *Urnatella gracilis* Leidy (Kamptozoa) в Волге. *Бюллетень Самарская Лука* 9: 203–205.
- Виноградов А.В. 2008. Фауна мшанок Eurystomata и Phylactolaemata озера Байкал. *Вестник Самарского государственного педагогического университета* 6(1): 19–31.
- Гонтарь В.И. 2010. Мшанки (Bryozoa, Polyzoa, Ectoprocta) пресных водоемов России. *Алтайский зоологический журнал* 4: 52–63.
- Кравцова Л.С., Перетолчина Т.Е., Трибой Т.И. и др. 2021. Исследование разнообразия гидробионтов Лиственничного залива озера Байкал с использованием ДНК-метабаркодинга. *Генетика* 57(4): 445–453. DOI: [10.31857/S0016675821040056](https://doi.org/10.31857/S0016675821040056)
- Кравцова Л.С., Перетолчина Т.Е., Трибой Т.И. и др. 2023. Исследование сообществ макробеспозвоночных животных в бухте Большие Коты озера Байкал с использованием ДНК метабаркодинга. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 27(6): 694–702. DOI: [10.18699/VJGB-23-80](https://doi.org/10.18699/VJGB-23-80)
- Протасов А.А. 1994. Пресноводный перифитон. Киев: Наукова думка.
- Склярова Т.В. 1969. Распространение *Urnatella gracilis* Leidy (Kamptozoa) в реке Дон. *Гидробиологический журнал*: 5(4): 107–111.