

**Дополнение к фауне заднежаберных моллюсков
залива Петра Великого (Японское море):
Melanochlamys chabanae (Heterobranchia: Aglajidae)**

Е.М. Чабан¹, И.А. Екимова^{2, 3}, А.В. Чернышев^{2, 4}

¹Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург 199034, Россия
e-mail: echaban@zin.ru

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690600, Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва 119234, Россия
e-mail: irenekimova@gmail.com

⁴Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток 690041, Россия
e-mail: chernyshev.av@dyfu.ru

На основании сборов 2015 и 2016 гг. уточнена фауна раковинных заднежаберных моллюсков рода *Melanochlamys* Cheeseman, 1881 зал. Петра Великого Японского моря: *Melanochlamys chabanae* Breslau, Valdés et Chichvarkhin, 2016 впервые отмечен для зал. Петра Великого. Неполовозрелые особи были собраны в зал. Восток с глубины 5–9 м, один половозрелый экземпляр *M. chabanae* был собран в зал. Петра Великого с глубины 60 м. Определение подтверждено данными молекулярного анализа по фрагментам генов COI, 16S и H3. Приведены новые данные морфологии этого вида в сравнении с ранее выявленным здесь *M. ezoensis*.

Ключевые слова: Cephalaspidea, *Melanochlamys*, морфология, Японское море.

**Additional data on the opisthobranch fauna
of Peter the Great Bay (Sea of Japan):
Melanochlamys chabanae (Heterobranchia: Aglajidae)**

Elena M. Chaban¹, Irina A. Ekimova^{2, 3}, Alexei V. Chernyshev^{2, 4}

¹Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg 199034, Russia
e-mail: echaban@zin.ru

²Far Eastern Federal University, Vladivostok 690600, Russia

³Lomonosov Moscow State University, Moscow 119234, Russia
e-mail: irenekimova@gmail.com

⁴A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology,
Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia
e-mail: chernyshev.av@dyfu.ru

Melanochlamys chabanae Breslau, Valdés et Chichvarkhin, 2016 is reported for the first time from Peter the Great Bay, Sea of Japan. Subadult specimens were collected at a depth of 5–9 m in Vostok Bay. One adult specimen was collected in Peter the Great Bay at 60 m deep. The identification of this species is confirmed by molecular analysis based on COI, 16S and H3 markers. Additional data on the internal morphology of *M. chabanae* are presented.

Key words: Cephalaspidea, *Melanochlamys*, morphology, Sea of Japan.

Заднежаберные моллюски рода *Melanochlamys* Cheeseman, 1881 плохо различаются по признакам внешней и внутренней морфологии, поскольку лишены таких структур, как радула и пластинки гизарда. Однако применение молекулярно-генетических методов показало четкие различия нескольких видов, встречающихся в северной части Тихого океана [Cooke et al., 2014; Breslau et al., 2016]. У побережья Приморья были отмечены 2 вида, *M. ezoensis* (Baba, 1957) в зал. Петра Великого и б. Рудной [Чабан, Чернышев, 2017; Cooke et al., 2014; Chichvarkhin, 2016] и *M. chabanae* Breslau, Valdés et Chichvarkhin, 2016 в зал. Владимира (Приморский край) [Breslau et al., 2016]. В фауне зал. Восток наличие *M. ezoensis* было указано как достоверно подтвержденное, в том числе с помощью молекулярных методов [Чабан, Чернышев, 2017]; также было высказано предположение о возможном нахождении и *M. chabanae* в зал. Петра Великого (см. там же).

До настоящего времени молекулярно-филогенетический анализ был осуществлен преимущественно для половозрелых экземпляров, поскольку дифференциальный диагноз видов рода *Melanochlamys* основывается главным образом на основе морфологии головного копулятивного аппарата. Так как проведенный ранее анализ одного неполовозрелого экземпляра из зал. Восток выявил наличие в этой акватории *M. ezoensis* [Cooke et al., 2014], то априори все меланохлямысы, собранные в этом заливе, относили к этому виду [Чабан, Чернышев, 2017, фототабл. 2, фиг. Е–Г], что нашло подтверждение в анализе фрагмента гена COI. В августе 2016 г. в зал. Восток было собрано несколько неполовозрелых экземпляров рода *Melanochlamys*. Анализ молекулярного разделения видов свидетельствуют о принадлежности этих особей, а также половозрелого экземпляра *Melanochlamys* sp., собранного в зал. Петра Великого с глубины 60 м [Чабан, Чернышев, 2017, фототабл. 2, фиг. I, J] к *M. chabanae*. Изучение морфологии этого экземпляра позволило дополнить описание вида. Полученные филогенетические реконструкции подтверждают близкое родство этого вида с *M. diomedea* (Bergh, 1893) и *M. kohi* Cooke, Hanson, Hirano, Ornelas-Gatdula, Gosliner, Chernyshev et Valdés, 2014. Ниже приводим описание собранных экземпляров *M. chabanae* в сравнении с *M. ezoensis*, также собранного в зал. Восток [Чабан, Чернышев, 2017, фототабл. 2, фиг. С, D].

Материал и методика

Сбор материала. Материал собран в зал. Восток летом 2016 г. с помощью ручной драги, а также с борта катера в сентябре 2015 г. в открытой части зал. Петра Великого с помощью дночерпателя (лебедка с борта катера). Весь материал разбирался сразу, экземпляры содержались в холодильнике для дальнейшего изучения и фотографирования, затем фиксировались 96% этанолом. Морфология раковины и головного копулятивного аппарата изучались и фотографировались с помощью световых микроскопов Leica DME и МСП-1. Материал хранится в Зоологическом институте РАН (г. С.-Петербург).

Молекулярный анализ. Выделение ДНК из трех экземпляров, собранных в зал. Петра Великого (табл. 1) было осуществлено с помощью набора Diatom™ DNA Prep 100 (лаборатория Изоген), согласно протоколу производителя с небольшими изменениями. Для выделения были использованы мягкие ткани моллюска (1–2 мм³). Амплификация фрагментов генов I субъединицы оксидазы цитохрома *c* (COI), 16S рРНК и гистона H3 была проведена с использованием универсальных праймеров HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'), LCO1498 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') [Folmer et al., 1994], 16SarL (5'-CGCCTGTTTAACAAAAACAT-3') [Palumbi et al., 1991], 16SR (5'-CCGRTYTGAACCTCAGCTCACG-3') [Puslednik, Serb, 2008], H3AF (5'-ATGGC-TCGTACCAAGCAGACVGC-3'), H3AR (5'-ATATCCTTRGGCATRATRG TGAC-3') [Colgan et al., 1998] соответственно. Состав реакционной смеси для амплификации (общий объем 20 мкл): 4 мкл 5x Screen Mix-HS (Лаборатория Евроген), 0.3–0.5 мкл прямого и обратного праймеров (10 мкМ сток), 1 мкл геномной ДНК и 13.4–14 мкл деионизированной дистиллированной воды. Амплификация фрагментов генов производилась по следующей схеме: предварительное плавление ДНК – 95°C, 5 мин, синтез ПЦР-продуктов (35 циклов): плавление – 95°C, 15 с, отжиг праймеров – 45°C, 30 с, синтез ДНК – 72°C, 45 с. Окончательная достройка цепей – 72°C, 7 мин. Для амплификации фрагментов 16S температура отжига праймеров была увеличена до 52°C.

Продукты реакции были проанализированы с применением электрофореза в 1.5–2%-ном агарозном геле. При постановке реакции секвенирования участков генов были использованы те же праймеры в обоих направлениях. Секвенирование проведено на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3500 Genetic Analyzer (Life

Таблица 1

Список экземпляров рода *Melanochlamys* из залива Петра Великого, использованных в молекулярном анализе

Table 1

Specimens of *Melanochlamys* from Peter the Great Bay used in molecular analysis

Вид	Место сбора	Ваучер	COI	16S	H3
<i>M. ezoensis</i>	Зал. Восток	IE216*	KX683209	KX683211	KX683210
<i>M. chabanae</i>	Зал. Восток	EC53	MK012182	MK012185	MK012188
<i>M. chabanae</i>	Зал. Восток	EC51	MK012183	MK012186	MK012189
<i>M. chabanae</i>	42°46.911' с.ш., 132°39.284' в.д.	EC17	MK012181	MK012184	MK012187

* Фотография экземпляра содержится в статье Чабан и Чернышева [2017, табл. 2, рис. С, D].

* For photo of the alive specimen see Chaban and Chernyshev [2017, pl. 2, fig. С, D].

Technologies, США) на базе Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН с использованием наборов реактивов BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, США) согласно протоколу производителя.

Все полученные в результате чтения последовательности фрагментов исследуемых генов были проверены на принадлежность к роду *Melanochlamys* с помощью программы BLAST, с использованием базы данных GenBank (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Последовательности с прямых и обратных праймеров были сведены в единую последовательность с помощью программы Geneious 8.0.5. Для сравнения полученных нами фрагментов COI, 16S и H3 с таковыми других видов рода *Melanochlamys*, в пакете программ MEGA6.06 [Tamura et al., 2013] было сделано выравнивание с помощью алгоритма MUSCLE [Edgar, 2004] отдельно для каждого гена. За основу были взяты последовательности из последних работ по таксономии рода [Cooke et al., 2014; Breslau et al., 2016], депонированные в базу данных GenBank. Финальные выравнивания по каждому гену составили: 579 п.н. для COI, 329 п.н. для H3, 416 п.н. для 16S рРНК.

Реконструкция филогенетических деревьев была выполнена с помощью Байесовского анализа (Bayesian Inference, BI). Реконструкция была проведена по объединённым последовательностям всех исследуемых фрагментов. Наиболее оптимальная модель эволюции была определена с помощью программы пакета MEGA6.10 [Tamura et al., 2013] с использованием Байесовского информационного критерия (Bayesian information criterion, BIC). Байесовский анализ был проведен в программе MrBayes 3.1.2. [Ronquist, Huelsenbeck, 2003]. Каждый локус был проанализирован отдельно в соответствие с выбранными моделями их эволюции. Финальные филогенетические реконструкции были визуализированы в программе Fig Tree Drawing Tool v.1.4.0.

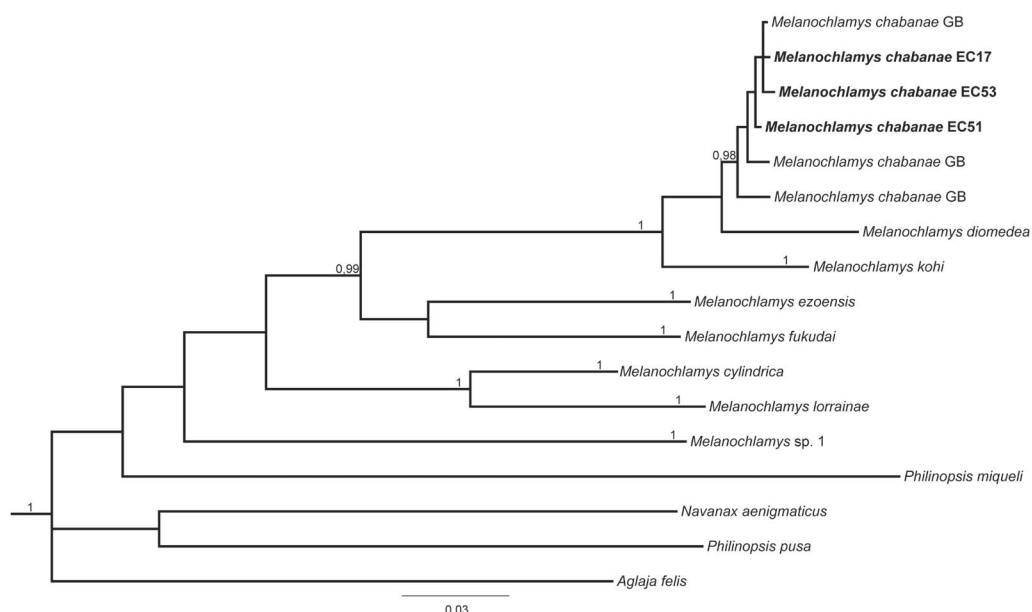
Тест делимитации видов при помощи метода Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) [Puillandre et al., 2012] по фрагменту COI был проведен с помощью программы ABGD Web (<http://www.abi.snv.jussieu.fr/public/abgd/abgdweb.html>) при использовании всех предложенных моделей и настроек по умолчанию.

Нескорректированные *p*-дистанции посчитаны в пакете программы MEGA6.10 [Tamura et al., 2013].

Результаты

Молекулярно-филогенетический анализ

Топология молекулярно-филогенетической реконструкции (см. рисунок) полностью соответствует деревьям, представленным в работах Кук с соавторами [Cooke et al., 2014] и Бреслау с соавторами [Breslau et al., 2016]. Все изученные в данной работе особи кластеризуются вместе с типовым материалом *M. chabanae* (апостериорная вероятность (PP)=0.98). Этот вид является сестринским



Байесовская (MCMC) филогенетическая гипотеза, основанная на анализе объединенных последовательностей (COI+16S+H3), клады видового уровня слиты, кроме клады *Melanochlamys chabanae*. Образцы из зал. Петра Великого выделены полужирным шрифтом. Над ветвями указаны апостериорные вероятности Байесовского анализа со значениями более 0.95.

Phylogenetic hypothesis based on combined molecular data (COI+16S+H3) represented by Bayesian inference, species-level branches collapsed except *Melanochlamys chabanae* clade. Specimens from Peter the Great Bay are highlighted in bold. Numbers above branches indicate posterior probabilities from Bayesian inference (>0.95).

видом *M. diomedea*, однако поддержка этой клады низка (PP=0.71). Еще один филогенетически близкий тихоокеанский вид, *M. koi*, располагается базально к ним (PP=1).

Анализ молекулярного разделения видов

По результатам ABGD анализа последовательностей COI с использованием всех предлагаемых моделей было выявлено 8 групп при значениях P_{max} от 0.001 до 0.012. Эти группы соответствуют кладам видового уровня рода *Melanochlamys*, реконструированным по результатам молекулярно-филогенетического анализа. Особи из зал. Петра Великого образовали единую группу с типовыми экземплярами *M. chabanae* из зал. Владимира (см. рисунок).

Внутривидовые и межвидовые нескорректированные p -дистанции по фрагментам COI, 16S и H3 представлены в таблице 2.

Исходя из результатов молекулярно-филогенетического анализа и анализа молекулярного разделения видов, особи из зал. Петра Великого консpezifичны особям из зал. Владимира и, следовательно, относятся к одному виду – *M. chabanae*.

Таблица 2

Нескорректированные внутривидовые *p*-дистанции *M. chabanae* и межвидовые дистанции *M. chabanae* от других видов рода *Melanochlamys* по фрагментам COI, 16S и H3 (в %).

Table 2

Uncorrected intra- and interspecific *p*-distances of COI, 16S and H3 loci between *Melanochlamys chabanae* and other *Melanochlamys* species (%)

Вид	COI	16S	H3
<i>M. chabanae</i> (внутривидовые)	0.5–2.7	0–0.3	0–0.7
<i>M. cylindrica</i>	22.4–23.3	4.6–5.1	n/a
<i>M. diomedea</i>	7.6–8.7	1.0–1.3	0.3–0.9
<i>M. ezoensis</i>	20.2–20.8	3.3–3.8	2.8–3.4
<i>M. fukudai</i>	18.8–19.5	3.6–4.1	1.2–1.8
<i>M. kohi</i>	7.6–8.7	2.5–2.8	0–0.7
<i>M. lorrainae</i>	22.0–22.4	5.1–5.3	n/a
<i>Melanochlamys</i> sp. 1	21.3–22.4	8.8	n/a

Систематическая часть

Отряд CEPHALASPIDEA

Семейство Aglajidae Pilsbry, 1895

Род *Melanochlamys* Cheeseman, 1881

Melanochlamys chabanae Breslau, Valdés et Chichvarkhin, 2016

Фототаблица 1, фиг. А–G; фототаблица 2, фиг. А–B

Plate 1, figs. A–G; Plate 2, figs. A–B

Melanochlamys diomedea (Bergh, 1893): Чабан, Мартынов, 1998, рис. 1D, E (non Bergh, 1894).

Melanochlamys sp.: Cooke et al., 2014, p. 365; Chichvarkhin, 2016, figs. 2C, 2D; Чабан, Чернышев, 2017, фототабл. 2, фиг. I, J.

Melanochlamys chabanae Breslau, Valdés et Chichvarkhin, 2016: p. 106, fig. 2.

Типовое местонахождение. Японское море, зал. Владимира, глубина 1–9 м.

Типовой материал. Голотип, MIMB 30354 (Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток), зал. Владимира; паратипы: MIMB 30355, зал. Владимира; LACM 3431 (Natural History Museum of Los Angeles County); CPIC 001267 (California State Polytechnic Invertebrate Collection); CPIC 001268.

М а т е р и а л. 12–16.08.2016 г., зал. Петра Великого, зал. Восток, глубина 5–9 м, ил. драга, сб. А.В. Чернышев, Е.М. Чабан – 9 экз.; зал. Петра Великого, 2015 г., 42°46.911' с.ш., 132°39.284' в.д., глубина 60 м, дночерпатель, сб. Н.В. Кашенко – 1 экз.

О п и с а н и е. Живой половозрелый экземпляр длиной 14 мм, бледно-коричневый с коричневыми пятнами [Чабан, Чернышев, 2017, фототабл. 2, фиг. I, J], удлинненной формы; ширина тела около 1/3 его длины, головной щит чуть короче задней части тела.

В процессе фиксации экземпляр сократился очень сильно и изогнулся так, что его длина не превышает 7 мм (фототабл. 1, фиг. А, В), тело стало относительно толще, его головной щит стал значительно короче задней части тела. Цвет тела фиксированного экземпляра – оливковый с небольшими участками белого в задней части тела и почти белый с многочисленными пятнами оливкового на головном щите. Выемка заднего края мантии хорошо видна как у живых, так и у фиксированных экземпляров. Раковина вскрытого экземпляра оказалась значительно разрушенной.

Неполовозрелые живые особи в сборах представлены экземплярами длиной 2–6 мм (фототабл. 1, фиг. Е, F), их головной щит составляет примерно 1/3 длины тела; окраска – на светлом фоне плотно расположенны оливковые мелкие пятнышки.

Глотка крупная, вздутая, мускулистая, длиной 0.8 мм и шириной около 0.5 мм (фототабл. 1, фиг. С, D). Она лишена челюстей и радулы и служит для всасывания пищевых объектов. Короткий пищевод ведет в крупный тонкостенный вздутый зоб (фототабл. 1, фиг. С, D); узкий желудок двумя протоками соединен с лопастями крупной пищеварительной железы (фототабл. 1, фиг. С); кишечник, делая дугу между лопастями пищеварительной железы, открывается в мантийную полость.

Гермафродитная часть половой системы занимает довольно большой объем висцерального мешка (фототабл. 1, фиг. С, D): крупная телесного цвета гонада, узкая извилистая и относительно короткая ампула, крупная прозрачная изогнутая слизистая с небольшой дополнительной лопастью, и небольшая непрозрачная белковая железы; ближе к переднему концу тела справа под пищеварительной железой лежит *gametolytic sac* (не показан), а слева – изогнутый *receptaculum seminis* (фототабл. 1, фиг. D). Головной копулятивный аппарат (фототабл. 1, фиг. G; фототабл. 2, фиг. А, В) состоит из мешка пениса, простаты и семенного пузырька. В мешке пениса хорошо видны вносящая семенная борозда (*incurrent sperm groove*), длинный изогнутый penis со стилетом, короткая широкая складка выносящей семенной борозды (*excurrent sperm groove*). Простата (*pr*) (фототабл. 2, фиг. А, В) недлинная, широкая, изогнутая почти под прямым углом, одним концом соединяется с основанием мешка пениса; семенной пузырек (*sb*) (фототабл. 2, фиг. А) узкий удлинненный извилистый с небольшим расширением к концу, он также присоединяется к основанию мешка пениса. Семенной пузырек короче простаты примерно в два раза. Все части головного копулятивного

аппарата многочисленными мышечными (?) волокнами присоединены к стенке тела; мышечный ретрактор присоединяется к середине простаты (фототабл. 2, фиг. А – *m*). Семенной пузырек также крепится к стенке тела мышечными волокнами и при вскрытии оказался оторванным от мешка пениса, но место их соединения (фототабл. 2, фиг. А, В – обозначено стрелкой) хорошо маркируется извилистым тонким непрозрачным семяизвергательным каналом, видимым с одной стороны в основании мешка пениса, а с другой – в семенном пузырьке (фототабл. 2, фиг. А).

Распространение. В зал. Восток достоверно встречены на глубине 5–9 м в августе, на илистом грунте. В открытой части зал. Петра Великого собран на глубине 60 м. В зал. Владимира в мае встречен на глубине 1–9 м частично зарывшимися в песчаный грунт [Breslau et al., 2016; Chichvarkhin, 2016]. Отмечен для Южной Кореи (Wando Island, South Jeolla Province) [Cooke et al., 2014].

З а м е ч а н и я. *M. chabanae* впервые был описан по нескольким экземплярам, собранным в зал. Владимира (Приморский край) с глубины 1–9 м с помощью водолазного снаряжения. В описании отмечено [Breslau et al., 2016], что головной копулятивный аппарат существенно отличается от всех типов копулятивных аппаратов, описанных ранее для видов рода *Melanochlamys* [Cooke et al., 2014], а именно: простата и семенной пузырек одинаковой длины, а мышечный ретрактор крепится к семенному пузырьку. К сожалению, авторы не расправили копулятивный аппарат, и на рисунке семенной пузырек наложен на простату, и непонятно, вся ли длина простаты видна, и к чему крепится мышечный ретрактор [Breslau et al., 2016, fig. 2В]. Единственная изученная нами половозрелая особь собрана в зал. Петра Великого с глубины 60 м. По размерам и внешней морфологии наш экземпляр не отличается от экземпляров из зал. Владимира, однако, у нашего экземпляра пигментация живого экземпляра коричневая, простата в два раза длиннее семенного пузырька, а мышечный ретрактор прикреплен к простате (фототабл. 2, фиг. А). Эти различия ставят вопрос о границах внутривидовой изменчивости окраски тела и морфологии половой системы *M. chabanae*. Морфология головного копулятивного аппарата *M. chabanae* имеет большое сходство с филогенетически близким видом *M. diomedea* (см.: Cooke et al. [2014, suppl. S1, fig. 2D]): головной копулятивный аппарат обоих видов включает довольно короткую толстую простату и маленький извитой семенной пузырек. На основании такой морфологии головного копулятивного аппарата *M. diomedea* был отмечен ранее для фауны российской части Японского моря от зал. Посыета до Татарского пролива [Чабан, Мартынов, 1998, фиг. 1Е], однако уточненный ареал этого вида включает теперь только тихоокеанское побережье Северной Америки [Cooke et al., 2014]. В связи с вышесказанным, экземпляры меланохламисов из российских вод Японского моря, указанные ранее как *M. diomedea*, с подобной морфологией головного копулятивного аппарата (см.: Чабан, Мартынов [1998, фиг. 1Е, D]) мы относим здесь к *M. chabanae*. Следует отметить, что, как в первоописании *M. chabanae*, так и у экземпляра с глубины 60 м, изучить морфологию раковины не представилось возможным, т.к. в обоих

случаях раковина оказалась разрушенной, а значит, рисунок раковины, приведенный в работе Чабан и Мартынова [1998] для *M. diomedea* [1998, фиг. 1D] является единственным на данный момент изображением раковины *M. chabanae*.

От *M. ezoensis* (фототабл. 2, фиг. С–F), также обитающего в Японском море (в том числе в зал. Петра Великого), *M. chabanae* отличается как меньшим количеством темного пигмента, так и морфологией головного копулятивного аппарата. Головной копулятивный аппарат *M. ezoensis* (фототабл. 2, фиг. D) образован пенисом (*p*) с клапаном, тонкой извитой простатой (*pr*) и тонким, очень длинным и сильно извитым семенным пузырьком (*sb*). Последний признак является хорошим диагностическим для различения половозрелых особей этих двух видов, в то время как раковины этих двух видов похожи.

Фотографии неполовозрелых особей, определенных как *M. ezoensis*, были опубликованы ранее [Чабан, Чернышев, 2017, фототабл. 2, фиг. F, G]. Можно отметить, что рисунок *F* [Чабан, Чернышев, 2017] соответствует фотографиям неполовозрелых особей *M. chabanae*, приведенных в настоящей работе (фототабл. 1, фиг. E, F): особи на этих фотографиях имеют очень плотный рисунок оливковых пятнышек и их головной щит составляет 1/3 длины тела. В то же время неполовозрелый экземпляр на рисунке *G* [Чабан, Чернышев, 2017] существенно отличается как пропорциями головного щита, так и более редкими оливковыми пятнышками. Можно предположить, что это действительно изображение неполовозрелого экземпляра *M. ezoensis*, однако для достоверного дифференциального диагноза неполовозрелых экземпляров этого вида необходимо подтверждение идентификации с помощью молекулярных методов.

Обсуждение

Аглаиды рода *Melanochlamys* часто встречаются в российских водах Японского моря. Так с 1925 по 1985 гг. они были встречены на 28 станциях в общем количестве 68 экз. [Чабан, Мартынов, 1998, как *M. diomedea*], причем в Дальневосточном государственном морском биосферном заповеднике они встречались с плотностью 6–7 экз./м² при частоте встречаемости 15.8% [Гульбин, 1990; как «*Aglaja gigliolii*» – см. Чабан, Мартынов [1998]]. Выборочный анализ нескольких экземпляров этого рода методами молекулярно-генетического анализа показал наличие двух видов в зал. Петра Великого – *M. ezoensis* и *M. chabanae* [Чабан, Чернышев, 2017; Cooke et al., 2014; Chichvarkhin, 2016; настоящая работа]. Эти виды хорошо различаются между собой по морфологии головного копулятивного аппарата. Однако можно предположить, что разнообразие видов этого рода в российских водах Японского моря не исчерпывается этими двумя видами, ведь из холодных и умеренных вод Японии от Хоккайдо до зал. Сагами был описан *Melanochlamys fukudai* Cooke, Hanson, Hirano, Ornelas-Gatdula, Gosliner, Chernyshev et Valdés, 2014, а *M. kohi* известен из одной точки в Южной Корее с *M. chabanae* [Cooke et al., 2014; Breslau et al., 2016].

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке по бюджетной теме АААА-А17-117030310207-3. Приносим благодарность Д.М. Щепетову (ИБР РАН) за помощь в постановке сиквенсовой реакции, Е.В. Солдатенко (ЗИН РАН) за фотографию *M. chabanae* (SEM), а также Н.В. Кашенко (НИЦМБ ДВО РАН) за помощь в сборе материала. Авторы благодарны анонимным рецензентам за высказанные замечания к рукописи. Проведение молекулярно-генетического анализа было осуществлено при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00034).

Литература

- Гульбин В.В. 1990. Брюхоногие моллюски мягких грунтов сублиторали Дальневосточного морского заповедника // Систематика и экология гидробионтов Дальневосточного морского заповедника. Владивосток: ДВО АН СССР. С. 105–123.
- Чабан Е.М., Мартынов, А.В. 1998. *Melanochlamys diomedea* (Bergh, 1893) (Opisthobranchia: Aglajidae), новый для фауны России род и вид // Ruthenica (Russian Malacological Journal). Т. 8. С. 147–152.
- Чабан Е.М., Чернышев А.В. 2017. Заднежаберные моллюски отряда Cephalaspidea (Gastropoda: Opisthobranchia) залива Восток Японского моря. Часть 2 // Бюллетень Дальневосточного малакологического общества. Вып. 21. С. 39–53.
- Breslau E., Valdés Á., Chichvarkhin A. 2016. A new cryptic species of *Melanochlamys* (Gastropoda: Heterobranchia: Cephalaspidea) from the Northwestern Pacific // American Malacological Bulletin. V. 34, N 2. P. 103–108.
- Chichvarkhin A. 2016. Shallow water sea slugs (Gastropoda: Heterobranchia) from the northwestern coast of the Sea of Japan, north of Peter the Great Bay, Russia // PeerJ. N 4: e2774; DOI 10.7717/peerj.2774.
- Colgan D., Macaranas J., Cassis G., Gray M.R. 1998. Histone H3 and U2 snRNA DNA sequences and arthropod molecular evolution // Australian Journal of Zoology. V. 46. P. 419–437.
- Cooke S., Hanson D., Hirano Y., Ornelas-Gatdula E., Gosliner T.M., Chernyshev A.V., Valdés Á. 2014. Cryptic diversity of *Melanochlamys* sea slugs (Gastropoda, Aglajidae) in the North Pacific // Zoologica Scripta. V. 43. P. 351–369.
- Edgar R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // Nucleic Acids Research. V. 32, N 5. P. 1792–1797.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates // Molecular Marine Biology and Biotechnology. V. 3. P. 294–299.
- Palumbi S.R., Martin A., Romano S., McMillan W.O., Stice L., Grabowski G. 1991. The Simple Fool's Guide to PCR, Version 2 Edition. Honolulu: Department of Zoology, University of Hawaii. 12 p.
- Puillandre N., Lambert A., Brouillet S., Achaz G. 2012 ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation // Molecular Ecology. V. 21. P. 1864–1877.
- Puslednik L., Serb J.M. 2008. Molecular phylogenetics of the Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) and effect of increased taxon sampling and outgroup selection on tree topology // Molecular Phylogenetics and Evolution. V. 48. P. 1178–1188.
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // Bioinformatics. V. 19. P. 1572–1574.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // Molecular Biology and Evolution. V. 30. P. 2725–2729.

Подписи к фототаблицам Explanations of Plates

Фототаблица 1 Plate 1

Melanochlamys chabanae: фиксированный экземпляр, собранный в зал. Петра Великого с глубины 60 м, дорсально (A), латерально (B) (фотографию живого экземпляра см.: Чабан, Чернышев [2017, фототаблица 2, фиг. I, J]); вскрытый экземпляр (C, D); неполовозрелые экземпляры, собранные в зал. Восток с глубины 5–9 м (E, F); penis экземпляра из зал. Восток, определенного ранее как *M. diomedea* (см. Чабан, Мартынов, 1998), SEM, фото Е.В. Солдатенко (G). Обозначения: *a.gl* – белковая железа, *ch.t* – хитиновый стилет, *cr* – зоб, *dgl.d* – проток пищеварительной железы, *dgl.l* – лопасть пищеварительной железы, *ex* – семяизвергательный канал, *f* – нога, *go* – гонада, *hsh* – головной щит, *in* – канал внутренней семенной борозды, *m* – ретрактор пениса, *m.gl* – слизистая железа, *p* – penis, *ph* – глотка, *pr* – простата, *psh* – мешок пениса, *r.s* – семяприемник, *sb* – семенной пузырек, *st* – желудок. Масштаб: A, B C, D, E, F – 2 мм; G – 100 мкм.

Melanochlamys chabanae: fixed specimen which was collected at 60 m deep in Peter the Great Bay, dorsal view (A), lateral view (B) (for photo of the alive specimen see Chaban and Chernyshev [2017, pl. 2, figs. I, J]); prepared specimen (C, D); subadult specimens which were collected at 5–9 m deep in Vostok Bay, Peter the Great Bay (E, F); penis of specimen collected in Peter the Great Bay and identified as *M. diomedea* previously (see Chaban and Martynov [1998]), SEM, photo by E.V. Soldatenko (G). Abbreviations: *a.gl* – albumine gland, *ch.t* – chitinous tip, *cr* – crop, *dgl.d* – duct of digestive gland, *dgl.l* – lobe of digestive gland, *ex* – excurrent sperm groove, *f* – foot, *go* – gonade, *hsh* – headshield, *in* – incurrent sperm groove, *m* – retractor muscle, *m.gl* – mucous gland, *p* – penial papilla, *ph* – pharinx, *pr* – prostate, *psh* – penial sheath, *r.s* – receptaculum seminis, *sb* – spermatoc bulb vesicle, *st* – stomach. Scale bar: A, B C, D, E, F – 2 mm; G – 100 µm.

Фототаблица 2 Plate 2

Melanochlamys chabanae (A, B): головной копулятивный аппарат, полный комплект с семенным пузырьком (лежит рядом) (A); увеличено, без семенного пузырька (B). *M. ezoensis* (C–F): половозрелый фиксированный экземпляр, собран в зал. Восток среди *Corallina* sp. на глубине 1 м (фотографию живого экземпляра см. Чабан, Чернышев [2017, фототабл. 2, фиг. C, D]) (C); головной копулятивный аппарат (D); раковина дорсально (E), вентрально (F). Обозначения: *ch.t* – хитиновый стилет, *ex* – семяизвергательный канал, *in* – канал внутренней семенной борозды, *m* – ретрактор пениса, *p* – penis, *pr* – простата, *psh* – мешок пениса, *sb* – семенной пузырек. Масштаб: A, B – 1 мм; C, E, F – 2 мм.

Melanochlamys chabanae (A, B): male copulatory system, full set, spermatoc bulb included (A); enlarged, spermatoc bulb not included (B). *M. ezoensis* (C–F): adult specimen which was collected in Vostok Bay, Peter the Great Bay, between *Corallina* sp. at 1 m deep (for photo of the alive specimen see Chaban and Chernyshev [2017, pl. 2, figs. C, D]) (C); male copulatory system (D); shell, dorswal view (E), ventral view (F). Abbreviations: *ch.t* – chitinous tip, *ex* – excurrent sperm groove, *in* – incurrent sperm groove, *m* – retractor muscle, *p* – penial papilla, *pr* – prostate, *psh* – penial sheath, *sb* – spermatoc bulb. Scale bar: A, B – 1 mm; C, E, F – 2 mm.

