

Мутагенное действие биотоксина рапаны *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) (Gastropoda, Muricidae)

А.В. ПИРКОВА¹, Л.В. ЛАДЫГИНА²

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр "Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН", пр. Нахимова, 2, 299011 Севастополь, РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ. E-mail: ¹apirkova@ukr.net; ²lvladygina@yandex.ru

РЕЗЮМЕ. Вселение хищного брюхоногого моллюска *Rapana venosa* в Чёрное море и распространение его во многие регионы Мирового океана привело к сложным структурным изменениям в сообществах двустворчатых моллюсков. При захвате добычи взрослые рапаны выделяют биотоксин, секретиремый в гипобранхиальной железе, вызывая сильный паралич мускулатуры двустворчатых моллюсков. В экспериментальных условиях было установлено, что биотоксин рапаны после кратковременного воздействия на оплодотворённые яйцеклетки мидии *Mytilus galloprovincialis*, обладает мутагенным действием, вызывая хромосомные aberrации в эмбрионах. Ацентрические группы хромосом, единичные и множественные хромосомные мосты, отставание хромосом и полиплоидия указывают на изменение или разрушение нитей ахроматинового веретена деления в анафазе митоза. Фрагментация хромосом, кольцевые хромосомы в метафазе и анафазе митоза эмбрионов мидии – результат разрушения структуры участков хроматина. Недоразвитая раковина, аномальное развитие велума D-велигеров, а также изменённая форма «глазка» и гепатопанкреаса личинок на стадии великонхи – следствие хромосомных мутаций в эмбриональном развитии. Обсуждается механизм воздействия биотоксина рапаны на хромосомный аппарат эмбрионов мидии.

Mutagenic impact of the biotoxin of veined rapa whelk *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) (Gastropoda, Muricidae)

A.V. PIRKOVA¹, L.V. LADYGINA²

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, 2 Nakhimov av., 299011 Sevastopol, RUSSIAN FEDERATION. E-mail: ¹apirkova@ukr.net; ²lvladygina@yandex.ru

ABSTRACT. The invasion of the predatory gastropod mollusk *Rapana venosa*, known as veined rapa whelk, in the Black Sea and its outspread in many regions of the World Ocean have led to complex structural changes in the communities of bivalve mollusks. When capturing a prey, the adult rapa whelk excretes a biotoxin from the hypobranchial gland that causes severe paralysis of the musculature of bivalve mollusks. Under experimental conditions, it was established that the biotoxin, after the short-term exposure of the fertilized eggs of the mussels *Mytilus galloprovincialis* to it, has a mutagenic effect, causing chromosomal aberrations in the embryos. The acentric groups of chromosomes, single and multiple chromosome bridges, chromosome lags and polyploidy indicate transformation or destruction of threads of the achromatin spindle in the mitosis anaphase. The chromosome fragmentation and emergence of ring chromosomes in the metaphase and anaphase of mitosis of mussel embryos are the consequence of the partial destruction of chromatin. The

underdeveloped shell, anomalous development of D-veligers' velum, and the changed form of the 'eye spots' and hepatopancreas of the larvae at the veliconcha stage result from chromosomal mutations during the embryo development. The mechanism of the rapa whelk biotoxin action on the chromosomal apparatus of mussel embryos is discussed.

Введение

Хищный брюхоногий моллюск рапана *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) впервые был обнаружен в Новороссийской бухте Чёрного моря в 1947 г. [Drapkin, 1953]. За несколько десятилетий он распространился по всему морю за исключением наиболее опреснённых участков северо-западной части моря [Ivanov, 1961]. Высокая плодовитость рапаны [Chukhchin, 1961a; Saglan, Duzgunes, 2007] и наличие планктонной личиночной стадии, продолжительность которой, в зависимости от экологических условий, может составлять от двух до шести недель [Harding, Mann, 1999], способствовали расселению этого моллюска. Обладая высокой репродуктивной способностью и быстрым темпом роста [Chukhchin, 1961a; Chung *et al.*, 1993], рапана в некоторых районах моря достигала высоких биомасс [Chukhchin, 1961b; Ivanov, 1961; Zolotarev,

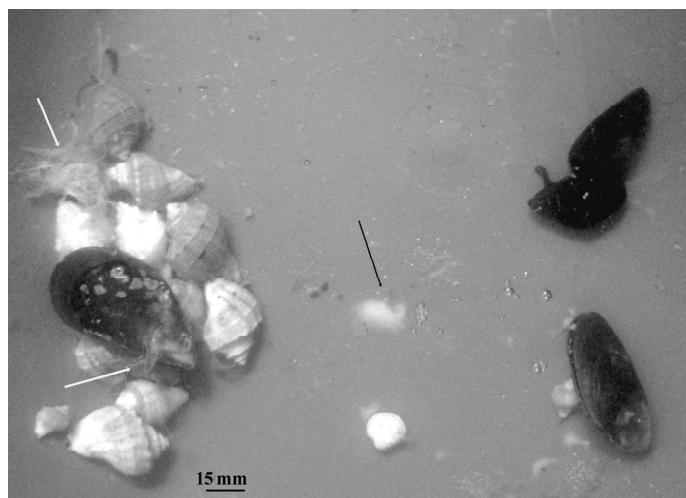


РИС. 1. Нерест мидии *Mytilus galloprovincialis* и выделение биотоксина рапанами *Rapana venosa*. Обозначение стрелками: чёрным цветом – оплодотворённые яйцеклетки мидии (в правом нижнем углу – нерестящаяся самка мидии), белым цветом – биотоксин, выделенный рапанами.

FIG. 1. Spawning of mussels *Mytilus galloprovincialis* and excretion of the biotoxin by *Rapana venosa*. The black arrow point at the fertilized mussel eggs, with the spawning female mussel being in the lower right corner, and the white arrows point at the biotoxin excreted by rapa whelks.

Terentyev, 2012]. Будучи эвритермным и эвригаллиным видом [Mann, Harding, 2003; Harding *et al.*, 2008; Zolotarev, Terentyev, 2012] и устойчивым к пониженной концентрации кислорода в воде из-за высокого содержания гемоцианина в гемолимфе [Chukhchin, 1984; Cesari, Mizzan, 1993], рапана впоследствии расселилась во многих регионах Мирового океана [Ghisotti, 1974; Koutsoubas, Voultziadou-Koukoura, 1991; Zibrowius, 1991; Kantor, 1998; Harding, Mann, 1999; Mann, Harding, 2000; Gouletquer, 2000; Pastorino *et al.*, 2000; Bouget *et al.*, 2001; Joly *et al.*, 2002; Savini *et al.*, 2004], благодаря активному судоходству и торговле объектами марикультуры [Savini, Occhipinti-Ambrogi, 2006].

Вселение рапаны в Чёрное море привело к структурным изменениям в сообществах двустворчатых моллюсков: изменилось доминирование и соотношение видов [Zolotarev, Terentyev, 2012; Bondarev, Revkov, 2018]. В.Д. Чухчин ещё в 1961 г. писал: “Рапана обладает тенденцией к полному уничтожению своих пищевых объектов, устриц, мидий, как можно наблюдать на Гудаутской устричной банке. Устрицам в Чёрном море, вероятно, грозит полное уничтожение, так как места обитания устриц в основном совпадают с местообитанием рапан” [Chukhchin, 1961c]. Впоследствии устрица *Ostrea edulis* L. была занесена в Красную книгу [Revkov, Pirkova, 2018].

Известно, что рапана проявляет видовую и размерную избирательность к пищевым объектам [Chukhchin, 1984; Savini, Occhipinti-Ambrogi, 2006]. Для рапаны, обитающей в Чёрном море, основным пищевым объектом являются мидии [Chukhchin, 1984]. Интенсивность питания в значительной степени зависит от температуры воды: при температуре воды ниже 10°C рапана прекращает питаться [Chukhchin, 1984]. Весной, при повышении температуры воды, интенсивность

питания моллюсков резко возрастает, что может совпадать с периодом массового нереста мидий [Kholodov *et al.*, 2017].

Взрослые особи при нападении парализуют жертву, выделяя биотоксин сложного состава, синтезируемый в гипобранхиальной железе [Chukhchin, 1984; Cesari, Mizzan, 1993]. Парализующее вещество, воздействующее на мускулатуру *M. edulis*, обнаружено не только в гипобранхиальной железе рапаны, но и в комплексе слюнных желез [Roseghini *et al.*, 1996]. Известно, что у Gastropoda имеется сложная секреция слюны, которая может содержать различные токсины, в том числе нейротоксины и цитолитические-гемолитические эхотоксины [Ponte, Modica, 2017]. Однако в литературе отсутствуют сведения о генотоксичности этих веществ.

Цель работы – изучение воздействия биотоксина рапаны *R. venosa* на эмбриональное и личиночное развитие мидии *M. galloprovincialis* Lamarck, 1819.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили эмбрионы и личинки мидий, развитие которых проходило после кратковременного воздействия биотоксина рапаны на оплодотворённые яйцеклетки. Для этого рапаны возрастом более двух лет, высотой раковины от 40,0 до 64,0 мм, выращенные из личинок в лабораторных условиях, содержались в ёмкостях с морской водой (18°C) при постоянной аэрации и плотности посадки 0,5 экз./л. Смену воды проводили ежедневно. В качестве корма были использованы половозрелые мидии, размерами от 38,0 до 65,0 мм, выращенные на морской ферме. В одну из ёмкостей корм подавали ежедневно, в другую – через трое суток. В конце марта, при очередной подаче корма, мидии отнерестились в ёмкостях с рапанами. Во

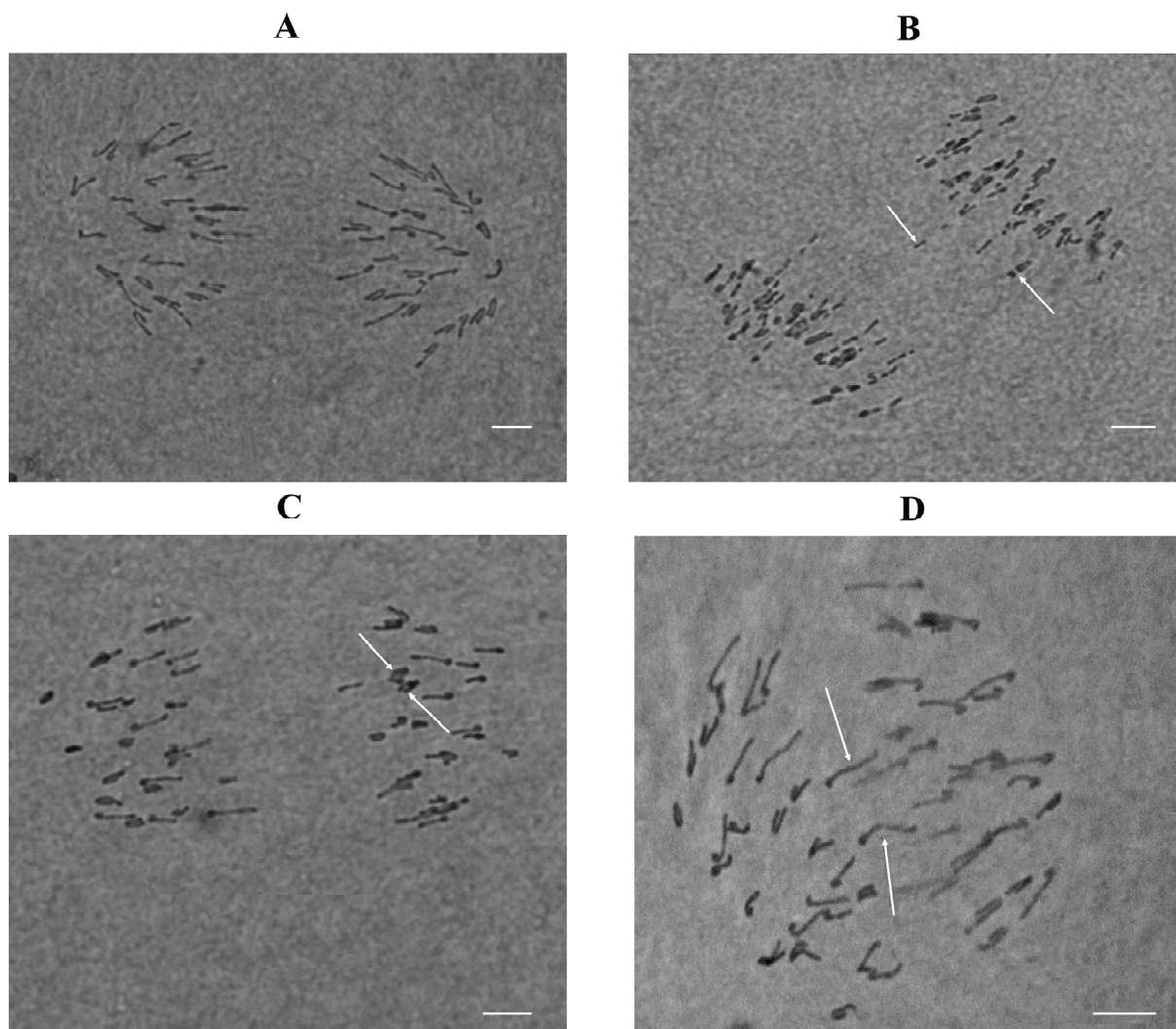


РИС. 2. Анафаза митоза в эмбриональных клетках мидии *Mytilus galloprovincialis*. А. Средняя анафаза (контроль). В, D. Единичные и множественные мосты (опыт); В. Фрагментация хромосом. С. Кольцевые хромосомы и отставание хромосом. Стрелками обозначены хромосомные aberrации. Масштаб 5 мкм.

FIG. 2. Anaphase of mitosis in embryonic cells of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. A. Mean anaphase (control); B, D. Single and multiple bridges (experiment). В. Chromosome fragmentation. C. Ring chromosomes and chromosome lag. The arrows point at the chromosomal aberrations. Scale bars – 5 mm.

второй ёмкости две рапаны выделили биотоксин одновременно с нерестом мидий (Рис. 1).

Через 5 мин после нереста из первой (контроль) и второй (опыт) ёмкостей были отобраны оплодотворённые яйцеклетки мидий, промыты фильтрованной морской водой, используя газ-сито (диаметр ячеек 56 мкм) и перенесены в чистую профильтрованную воду. Личинок выращивали при оптимальных условиях до метаморфоза, соответственно описанной методике [Kholodov *et al.*, 2017].

Эмбрионы мидий на стадиях двух и четырёх бластомеров и личинки на стадии трохофоры были зафиксированы в охлаждённом этанол-уксусном фиксаторе (3:1) [Thiriou-Quievreux, 1982]. Смену

фиксатора проводили через 1 час и 1 сутки. Фиксированный материал хранили при температуре +4°C. Временные давленные препараты готовили, окрашивая объекты 2% ацетоорсеином [Darlington, La Cour, 1980] при комнатной температуре в течение двух часов. С помощью микроскопа Axioskop 40 С. ZEISS (увеличение 10x100), фотокамеры Canon PowerShot A640 и программного обеспечения AxiVision Rel. 4,6 анализировали все метафазы и анафазы митоза личинок (стадия трохофоры), среди которых были отмечены aberrантные. Частоту хромосомных aberrаций рассчитывали как отношение суммы клеток на стадиях метафазы и анафазы, в которых были зарегистрированы нарушения, к общему числу

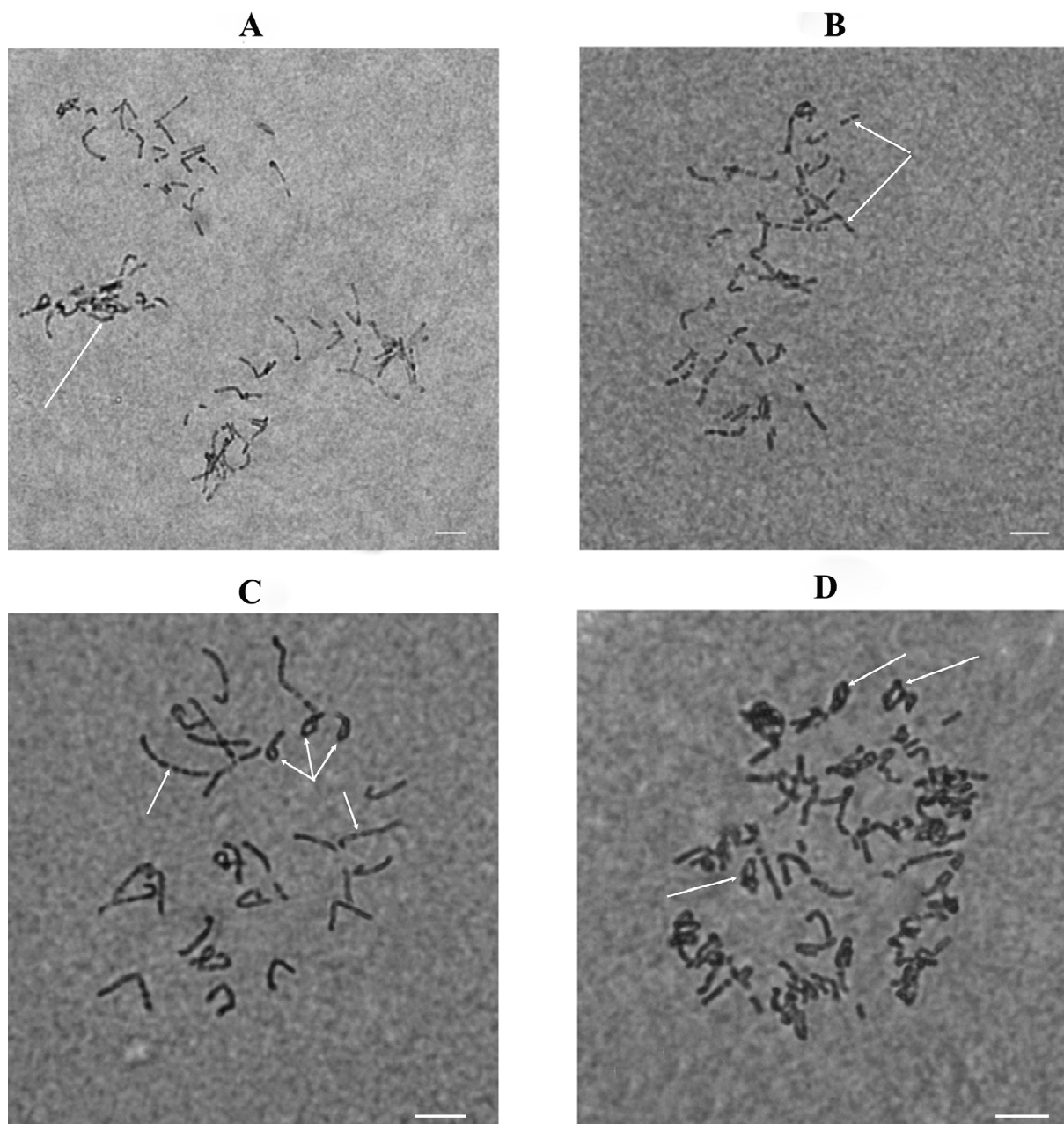


РИС. 3. Метафаза митоза в эмбрионах мидии *Mytilus galloprovincialis* (опыт). **А.** Ацентрические группы хромосом. **В.** Фрагментация хромосом. **С, D.** Кольцевые и петлевидные хромосомы. **D.** Полиплоидия. Стрелками обозначены хромосомные aberrации. Масштаб 5 мкм.

FIG. 3. Metaphase of mitosis in embryos of the mussel *Mytilus galloprovincialis* (experiment). **A.** Acentric groups of chromosomes. **B.** Chromosome fragmentation. **C, D.** Circular and looped chromosomes. **D.** Polyploidy. The arrows point at the chromosomal aberrations. Scale bars – 5 mm.

проанализированных стадий [Kalaev, Каррова, 2004]. Всего проанализировано 100 объектов.

Фотографии метафаз и анафаз митоза были обработаны в Adobe Photoshop (версия 3), используя контраст, оптимизацию цвета и фильтр.

Результаты

У мидий, используемых в качестве корма для рапаны, при температуре 18°C произошла стиму-

ляция нереста и оплодотворение яйцеклеток. Одновременно с нерестом мидий во второй ёмкости две рапаны выделили биотоксин, наблюдаемый в виде облака (Рис. 1), которое вскоре растворилось в воде.

Кариологические исследования эмбрионов мидий (стадии 2 и 4 бластомеров), развитие которых проходило в профильтрованной морской воде после кратковременного воздействия биотоксина рапаны на оплодотворённые яйцеклетки,

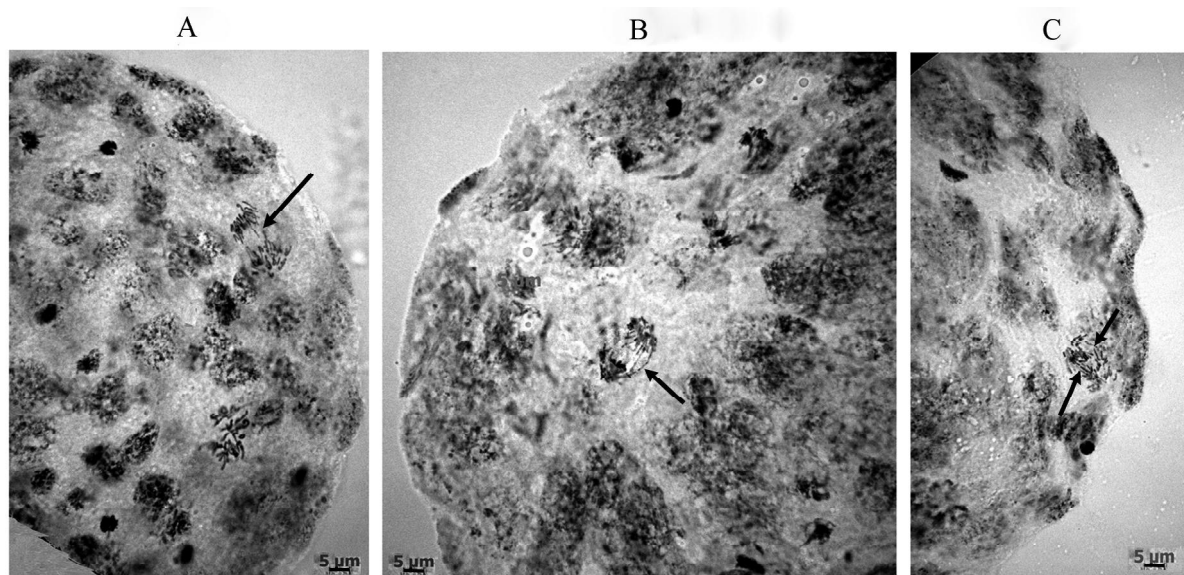


РИС. 4. Хромосомные aberrации в анафазе митоза личинок мидии *Mytilus galloprovincialis* на стадии трохофоры (опыт). Обозначение стрелками: А. Один мост. В. Единичные мосты. С. Множественные мосты.

FIG. 4. Chromosomal aberrations in anaphase of mitosis of the mussel *Mytilus galloprovincialis* larvae at the trochophore stage (experiment). The arrows point at one bridge (A), solitary (B) and multiple bridges (C).

показали наличие хромосомных aberrаций. На стадии анафазы митоза были выявлены единичные и множественные хромосомные мосты (Рис. 2 В–D), фрагментация хромосом (Рис. 2В), кольцевые (Рис. 2С) и отставшие хромосомы (Рис. 2С). На стадии метафазы митоза встречались ацентрические группы хромосом (Рис. 3А), фрагментация хромосом (Рис. 3В), кольцевые и петлевидные хромосомы (Рис. 3 С–D) и полиплоидия (Рис. 3D).

Личиночную стадию трохофоры наблюдали через сутки от момента оплодотворения. На хромосомных препаратах личинок при количестве метафаз и/или анафаз от 1 до 3 на объект, частота хромосомных aberrаций составила 63,4% и 59,6% соответственно на стадиях метафазы и анафазы. В большинстве aberrантных метафазах число хромосом было больше или меньше 28. Суммарная доля анафаз с единичными или множественными хромосомными мостами (Рис. 4) составила 42,1% от всех хромосомных нарушений на этой стадии. Как в метафазе, так и в анафазе встречались кольцевые хромосомы.

Через трое суток после оплодотворения личинки мидий перешли в стадию D-велигера (Рис. 5). По сравнению с контролем (Рис. 5А), в опыте наблюдались личинки с явными морфологическими аномалиями велума или раковины. Аномалии проявились в отсутствии ресничек на велуме (Рис. 5В), наличии рудиментарных ресничек, характерных для стерробластулы (Рис. 5С) или в морфологически изменённой форме велума (Рис. 5F). Большинство личинок было с аномальной

формой раковины и недоразвитой раковинной (Рис. 5 D, F). Часто встречались личинки с нарушениями в развитии и велума, и раковины. Отход личинок на стадии велигера составил около 90%.

На 21 сутки выращивания при длине раковины около 260 мкм у личинок на стадии великонхи появилось овальное пигментное пятно – “глазок”, расположенный в мантии примерно посредине раковины (Рис. 6А) [Zakhvatkina, 1972]. У всех выживших личинок в опыте форма “глазка” отличалась от нормы. “Глазок” имел вытянутую форму (Рис. 6 В–С), вытянутую с сателлитами (Рис. 6 D–E), или серповидную (Рис. 6F). Его местоположение было сдвинуто в переднюю или заднюю часть раковины по сравнению с нормой. Гепатопанкреас – орган пищеварительной системы, у личинок из опыта был крупнее, чем в контроле и не имел чёткого очертания. На 27 сутки личинки перешли в стадию педивелигера, а их оседание, как и в контроле, закончилось на 33 сутки.

Обсуждение

В литературе описаны разные способы нападения рапаны на двустворчатых моллюсков: взрослые особи ломают край створок; могут растягивать створки, используя силу ноги или охватывать их ногой, не давая моллюску открыться и вызвать удушье. Нападение заканчивается выделением биотоксина, который проникает внутрь раковины жертвы [Chukhchin, 1970; Chukhchin, 1984; Savini *et al.*, 2006].

Когда створки раскрываются, рапана вводит

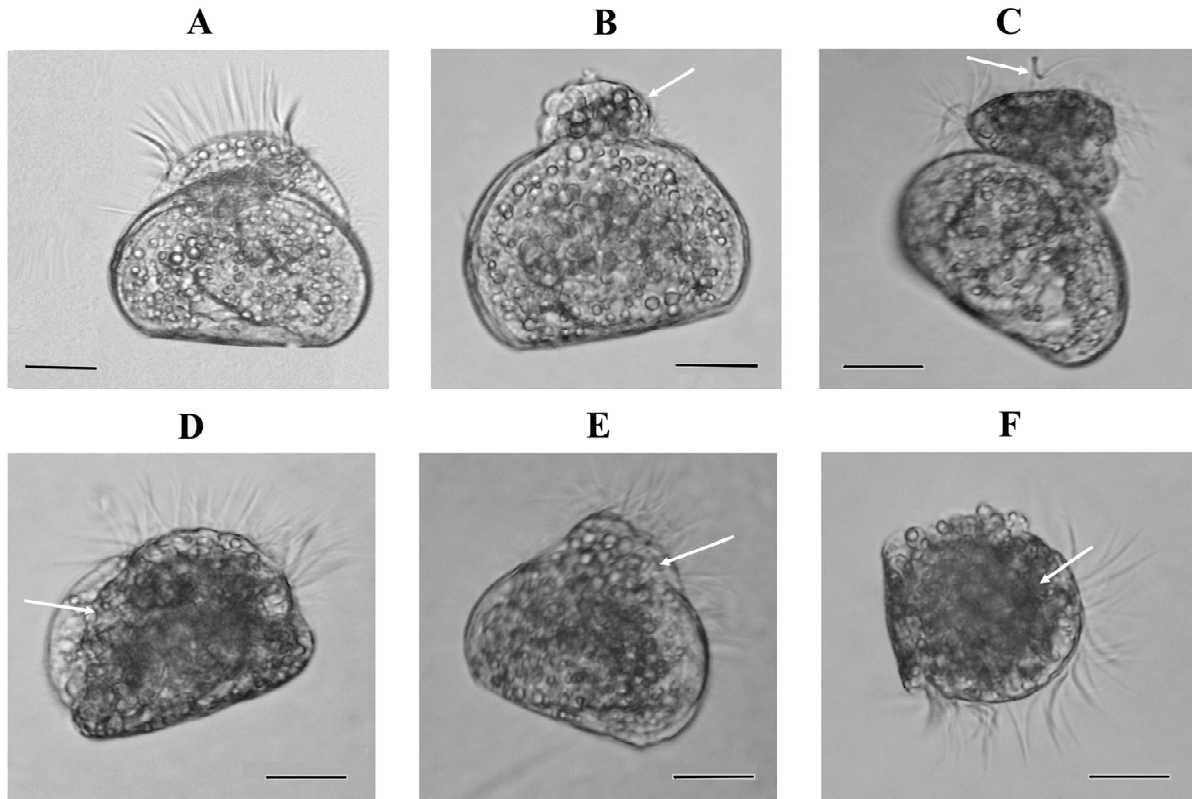


РИС. 5. Личинки мидии *Mytilus galloprovincialis* на стадии D–велигера. А. Нормальное развитие (контроль). В–F. Аномальное развитие личинок (опыт). Обозначение стрелками: аномальное развитие велума (В, С, Е), наличие рудиментальных ресничек велума (С), недоразвитая раковина (D, F). Масштаб: А – 30 мкм; В–F – 34 мкм.

FIG. 5. Larvae of the mussel *Mytilus galloprovincialis* at the D-veliger stage. A. Normal development (control). B–F. Anomalous larvae development (experiment). Arrows: abnormal development of velum (B, C, and E), presence of rudimentary cilia of velum (C), underdeveloped shell (D and F). Scale: 30 mm (A) and 34 mm (B–F).

внутри раковины хобот и выедаёт мягкие ткани моллюска [Chukhchin, 1970]. Выделение биотоксина рапанами без предварительного механического воздействия на мидий, как показано в опыте, может происходить в небольшом объёме воды при наличии доступной жертвы, т.к. хищные моллюски используют наименее энергетически затратный способ нападения [Savini, Occhipinti-Ambrogi, 2006].

Сигналом для выделения биотоксина рапаной является физиологическая потребность в пище и наличие корма [Chukhchin, 1984]. Наиболее точное описание нервного контроля секреции биотоксина у брюхоногих моллюсков предоставлено в обзоре [House, 1980]. Биотоксин вырабатывается в гипобранхиальной железе, которая у рапаны разделяется на три отдела: два боковых, выделяющих слизь, и средний, окрашенный в молочно-белый цвет, секретирующий пурпур [Chukhchin, 1970; Ponte, Modica, 2017].

Известно, что у всех моллюсков, принадлежащих к надсемейству Muricoidea, очень высо-

кое содержание сложных эфиров, строго локализованных в средней области гипобранхиальной железы, секретирующей краситель [Andrews, 1991]. Сложные эфиры холина были представлены мурексином, дигидромурексином и сенсиоилхолином. Так, у *R. bezaor* (Linnaeus, 1767), близкого вида *R. venosa*, содержание мурексина и сенсиоилхолина составило соответственно 400 и 100 мг/г свежих мягких тканей [Roseghini *et al.*, 1996]. Авторами установлено, что все соединения обладали сильным нервно-мышечным блокирующим действием, вызывая паралич мускулатуры беспозвоночных, в том числе паралич замыкательных мышц двустворчатых моллюсков.

Молекулы мурексина и сенсиоилхолина содержат гидрофильные и гидрофобные группы [Roseghini *et al.*, 1996], благодаря которым они легко проникают сквозь поры клеточных мембран. В зависимости от стадии мейоза, на которой произошло проникновение биотоксина в оплодотворённую яйцеклетку и продолжительности

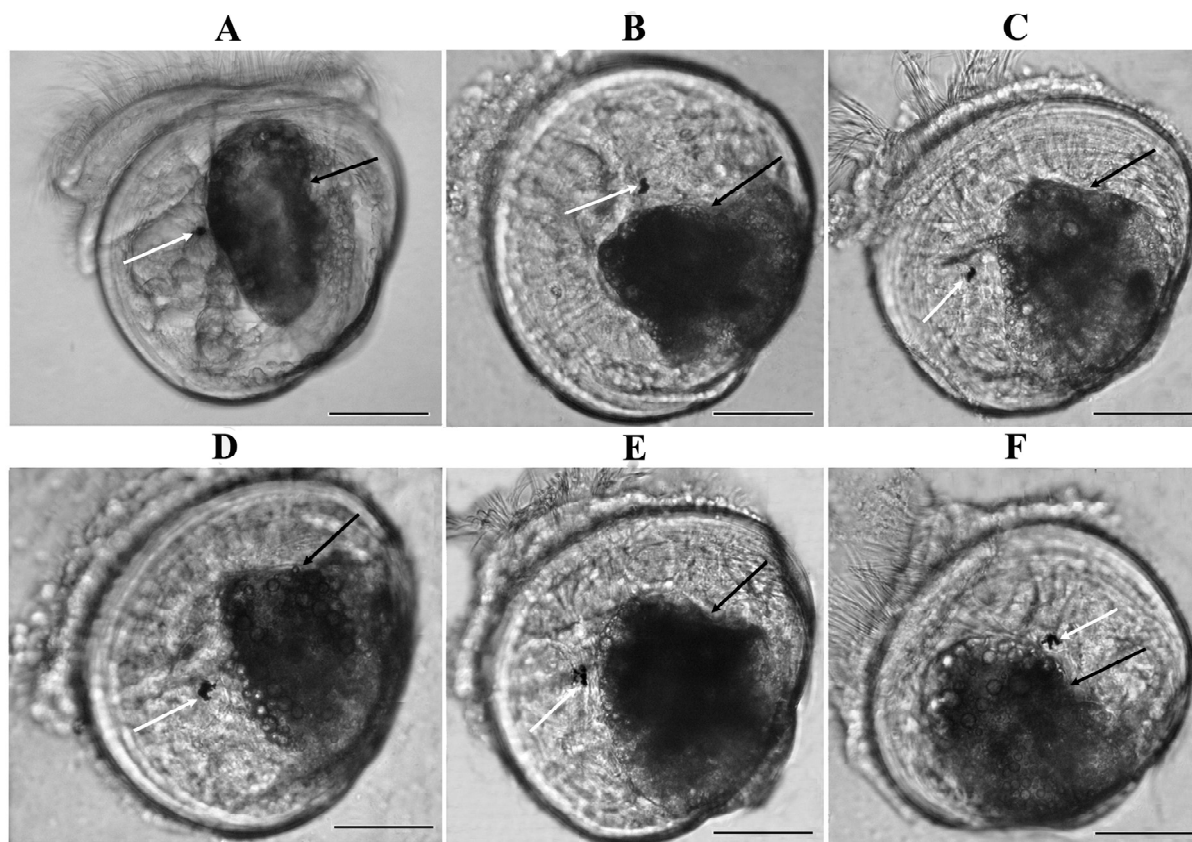


РИС. 6. Личинки мидии *Mytilus galloprovincialis* на стадии великонхи с “глазком”. А. Нормальное развитие (контроль). В–F. Аномальная форма “глазка” (обозначение белыми стрелками) и гепатопанкреаса (обозначение чёрными стрелками). Масштаб: А – 78 мкм; В–F – 88 мкм.

FIG. 6. Larvae of the mussel *Mytilus galloprovincialis* at the veliconcha stage with an “eye spot”. A. Normal development (control). В–F. Anomalous shape of the “eye spot” (white arrows) and hepatopancreas (black arrows). Scale: 78 mm (A) and 88 mm (B–F).

воздействия, так как нерест мидий был растянут во времени, в разных эмбрионах были поражены белковые структуры ахроматинового веретена и/или хроматина. Известно, что до 25-40% сухого веса хроматина составляют гистоновые белки [Appel *et al.*, 2013]. Гистоны проявляют сильно основные свойства из-за высокого содержания лизина и аргинина. Состав сложных эфиров холина, наоборот, имеет кислую реакцию: рН между 3,8 и 4,5 [Roseghini *et al.*, 1996]. Мурексин, входящий в состав биотоксина рапаны, содержит четырехзамещённую аммониевую группу и проявляет себя как четвертичное аммониевое основание, способное вступать в обменные реакции со щелочами [Savoskin *et al.*, 2015], в том числе с некоторыми основными белками клеточных структур.

Хромосомные aberrации: отставание хромосом, единичные и множественные мосты, наблюдаемые в анафазе митоза эмбрионов после воздействия биотоксина рапаны, указывают на изменение или разрушение нитей ахроматиново-

го веретена деления. В результате в дочерних клетках количество хромосом будет меньше или больше нормы. Известно, что кариотип мидии состоит из 28 хромосом [Thiriот-Quievreux, 1982]. Фрагментация хромосом – это результат полного разрушения структуры хроматина в некоторых участках хромосом. Кольцевые или петлевидные хромосомы возникают вследствие нарушения процесса расхождения хромосом в анафазе или соединения повреждённых концов хромосомы [Pernot *et al.*, 2012].

Аномальное развитие велума и раковины личинок мидии на стадии D-велигера явилось следствием хромосомных aberrаций в эмбриональном развитии. Личинки с аномальным развитием велума и раковины, как правило, в дальнейшем не выживают [Kholodov *et al.*, 2017].

Кроме явных хромосомных мутаций, вероятно биотоксин рапаны вызывает точечные мутации хромосом, не влияющие на жизнеспособность личинок мидии. У личинок на стадии великонхи форма и месторасположения “глазка”, а

также форма и размеры гепатопанкреаса, отличались от нормы. Однако указанные отклонения в развитии не повлияли на их метаморфоз.

Выводы

1. В экспериментальных условиях было установлено, что биотоксин рапаны *R. venosa* после кратковременного воздействия на оплодотворенные яйцеклетки обладает мутагенным действием, вызывая хромосомные aberrации в эмбрионах мидии *M. galloprovincialis*, а впоследствии – морфологические аномалии личинок.

2. Хромосомные aberrации: ацентрические группы хромосом, единичные и множественные хромосомные мосты, отставшие хромосомы и полиплоидия, указывают на изменения или разрушение нитей ахроматинового веретена деления в анафазе митоза.

3. Фрагментация хромосом, кольцевые и петлевидные хромосомы в метафазе и анафазе митоза – результат разрушения структуры хроматина.

Благодарности

Выражаем благодарность ООО “Марикультура” за предоставленные мидии в качестве корма для *R. venosa*.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (гос.пер. № АААА-А18-118021350003-6).

Литература

- Andrews E.B. 1991. The fine structure and function of the salivary glands of *Nucella lapillus* (Gastropoda: Muricidae). *Journal of Molluscan Studies*, 57(1): 111–26.
- Appel B., Beneke B.-I., Benenson I. 2013. *Nucleic acids: A to Z = Nucleic acids (encyclopedia)*. In: Bystritsky A.A. and Grigorieva E.G. (Eds.). М.: BIN-OM. Laboratorija znaniy, 424 p. [In Russian].
- Bondarev I.P., Revkov N.K. 2018. Consorts of gastropod *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) in the northern Black Sea. Part III: Mollusca (Gastropoda). *Morskoy biologicheskiy zhurnal*, 3(1): 23–34 [In Russian].
- Bouget J.-F., Camus P., Joly J.-P. 2001. *Ocenebrellus inormatus* (Recluz, 1851) et *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846), deux nouveaux gastropods introduits en Bai de Quiberon. Contract SRC Bretagne Sud / IFREMER n° 01/2/210 261. Rapport du laboratoire DVR-RA-LCB/01-01. 22 p. Available online at <https://archimer.ifremer.fr/doc/00092/20360/18021.pdf>. [Accessed on 16.08.2019.]
- Cesari P., Mizzan L. 1993. Osservazioni su *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) in cattivita (Gastropoda: Muricidae, Thaidinae). *Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia*, 42: 9–21.
- Chukhchin V.D. 1961a. Reproduction of rapana (*Rapana bezoar* L.) in the Black Sea. *Trudy Sevastopol'skoy biologicheskoy stantsii*, 14: 163–168 [In Russian].
- Chukhchin V.D. 1961b. Growth of rapana (*Rapana bezoar* L.) in the Sevastopol Bay. *Trudy Sevastopol'skoy biologicheskoy stantsii*, 19: 169–177 [In Russian].
- Chukhchin V.D. 1961c. Rapana (*Rapana bezoar* L.) in the Gudauta Oyster Bank. *Trudy Sevastopol'skoy biologicheskoy stantsii*, 19: 178–187 [In Russian].
- Chukhchin V.D. 1970. *Functional morphology of rapana*. Vodyanitsky V.A. (Ed.). Kiev, Naukova Dumka, 138 p. [In Russian].
- Chukhchin V.D. 1984. *Ecology of gastropods of the Black Sea*. Kiseleva M.I. (Ed.). Kiev, Naukova Dumka, 176 p. [In Russian].
- Chung E.-Y., Kim S.-Y., Kim, Y.G. 1993. Reproductive ecology of the purple shell *Rapana venosa* (Gastropoda: Muricidae), with special reference to the reproductive cycle, depositions of egg capsules and hatchings of larvae. *Korean Journal of Malacology*, 9: 1–15.
- Darlington S.D., La Cour L.F. 1980. *Chromosomes. Working methods*. Vorontsov N.N. (Ed.). М.: Atomizdat, 182 p. [In Russian].
- Drapkin E.I. 1953. New mollusc in the Black Sea. *Priroda*, No. 9: 92–95 [In Russian].
- Ghisotti F. 1974. *Rapana venosa* (Valenciennes), nuova ospite Adriatica? *Conchiglie Milano*, 10(5–6): 125–126.
- Gouletquer P. 2000. Rapport d'activité 1999 du Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes de La Tremblade. Available online at <https://archimer.ifremer.fr/doc/00074/18537/16084.pdf>. [Accessed on 16.08.2019.]
- Harding J.M., Mann R. 1999. Observations on the biology of the veined rapa whelk, *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) in the Chesapeake Bay. *Journal of Shellfish Research*, 18(1): 9–17.
- Harding J.M., Mann R., Kilduff C.W. 2008. Influence of environmental factors and female size on reproductive output in an invasive temperate marine gastropod *Rapana venosa* (Muricidae). *Marine Biology*, 155(6): 571–581.
- House C. 1980. Physiology of invertebrate salivary glands. *Biological Reviews*, 55: 417–473.
- Ivanov A.I. 1961. Expansion of the range of rapana (*Rapana bezoar* L.) and its infiltration into the northwestern part of the Black Sea. *Doklady Akademii Nauk SSSR*, 141(4): 991–993 [In Russian].
- Joly J.-P., Bouget J.-F., Hirata T. 2002. Le gastéropode prédateur *Rapana venosa*: point sur les connaissances et expérimentations au laboratoire. DRV/RST/RA-2002-14. Available online at <https://archimer.ifremer.fr/doc/00016/12699/9620/>. [Accessed on 16.08.2019.]
- Kalaev V.N., Karpova S.S. 2004. *Cytogenetic monitoring: methods for assessing both environment pollution and the state of organism's genetic apparatus*. Study guide. Voronezh, Izdatelstvo VGU, 80 p. [In Russian].
- Kantor Yu.I. 1998. On the finding of *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) near the east coast of the USA. *Ruthenica, Russian Malacological Journal*, 8(2): 90 [In Russian].
- Kholodov V.I., Pirkova A.V., Ladygina L.V. 2017. *Cultivating mussels and oysters in the Black Sea*. 2nd

- edition, expanded. Ryabushko V.I. (Ed.). Voronezh: ООО «Izdat-Print», 508 p. [In Russian].
- Koutsoubas D., Voultziadou-Koukoura E. 1991. The occurrence of *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) (Gastropoda, Thaididae) in the Aegean Sea. *Bollettino Malacologico*, 26(10"12): 201–204.
- Mann R., Harding J.M. 2000. Invasion of the North American Atlantic coast by a large predatory Asian mollusk. *Biological Invasions*, 2: 7–22.
- Mann R., Harding J.M. 2003. Salinity tolerance of larval *Rapana venosa*: implications for dispersal and establishment of an invading predatory gastropod on the North American Atlantic coast. *Biological Bulletin*, 204: 96–103.
- Pastorino G., Penchaszadeh P.E., Schejter L., Bremec C. 2000. *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) (Mollusca: Muricidae): a new gastropod in south Atlantic waters. *Journal of Shellfish Research*, 19: 897–899.
- Pernot E., Hall J., Baatout S. 2012. Ionizing radiation biomarkers for potential use in epidemiological studies. *Mutation Research / Reviews in Mutation Research*, 751(2): 258–286.
- Ponte G., Modica M.V. 2017. Glands in predatory mollusks: evolutionary considerations. *Frontiers in Physiology*, 8: 1–8.
- Revkov R.K., Pirkova A.V. 2018. European oyster *Ostrea edulis* Linnaeus, 1758 [*O. lamellosa* Brocchi, 1814; *O. taurica* Krynicki, 1837]. In: Dovgal I.V., Korzhenevskiy V.V. (Eds.). *Krasnaya kniga goroda Sevastopolya*. Kaliningrad; Sevastopol', ООО Izdat. dom "ROST-DOAFKL": 346 [In Russian].
- Roseghini M., Severini C., Erspamer G.F., Erspamer V. 1996. Choline esters and biogenic. *Toxicon*, 34(1): 33–55.
- Saglam H., Duzgunes E. 2007. Deposition of egg capsule and larval development of *Rapana venosa* (Gastropoda: Muricidae) from the south-eastern Black Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.*, 87: 953–957.
- Savini D.M., Castellazzi M.F., Ambrogi A.O. 2004. The alien mollusk *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846; Gastropoda, Muricidae) in the northern Adriatic Sea: population structure and shell morphology. *Chemistry and Ecology*, 20: 411–424.
- Savini D., Harding J.M., Mann, R. 2006. Rapa whelk *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) predation rates on hard clams *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758). *Journal of Shellfish Research*, 21(2): 777–779.
- Savini D., Occhipinti-Ambrogi A. 2006. Consumption rates and prey preference of the invasive gastropod *Rapana venosa* in the Northern Adriatic Sea. *Helgoland Marine Research*, 60: 153–159.
- Savoskin O.V., Vanina G.E., Rashevskaya I.V. 2015. Toxins of some invertebrates. *Vestnik Penzenskogo gosudarstvennogo universiteta*, 3(11): 153–157 [In Russian].
- Thiriou-Quievreux C. 1982. Les caryotypes de quelques espèces de bivalves et de gastéropodes marins. *Marine Biology*, 70: 165–172.
- Zakhvatkina K.A. 1972. Larvae of bivalve molluscs – Bivalvia. In: Vodyanitsky V.A. (Ed.). *Guide book of the fauna of the Black and Azov Seas*. 3. Kiev: Naukova Dumka: 250–271 [In Russian].
- Zibrowius H. 1991. Ongoing modification of the Mediterranean marine fauna and flora by the establishment of exotic species. *Mésogée*, 51: 83–107.
- Zolotarev V.N., Terentyev A.S. 2012. Changes in macrobenthos communities of the Gudauta Oyster Bank. *Okeanologiya*, 52 (2): 251–257 [In Russian].

