

УДК 574.522

ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА АМФИПОД *GAMMARUS OCEANICUS*, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ОКТИЛФЕНОЛА (4Т-ОФ)

© 2024 г. Н. А. Березина*, @, Ю. И. Губелит*, Л. Г. Бакина**,
А. В. Егорова**, С. В. Холодкевич**

*Зоологический институт Российской академии наук,
Университетская наб. 1, г. Санкт-Петербург, 199034 Россия

**Санкт-Петербургский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
14-я линия В.О. 39, Санкт-Петербург, 199178 Россия

@E-mail: nadezhda.berezina@zin.ru

Поступила в редакцию 26.12.2023 г.

После доработки 02.07.2024 г.

Принята к публикации 03.07.2024 г.

Нарастающее воздействие деятельности человека на биосферу требует исследования последствий воздействия опасных токсических веществ на водные экосистемы. Исследованы экофизиологические показатели амфипод *Gammarus oceanicus* Segerstråle, 1947, такие, как скорости потребления пищи, потребления кислорода и экскреции фосфатов (выделяющихся с мочой организма), для того, чтобы определить реакции этих рачков на воздействие малоизученного микрозагрязнителя антропогенного происхождения, ксеноэстрогена, 4-трет-октилфенола (4т-ОФ). Через 28 дней воздействия наименьших концентраций 4т-ОФ (0.25 мкг/л) выявлено снижение пищеварительной и выделительной активности ракообразных, а уровень потребления кислорода был аналогичен значениям у контрольных рачков. Все изученные показатели тестируемых животных значительно изменялись после такого же времени воздействия 2.5 мкг/л 4т-ОФ, показывая неблагоприятное влияние на функционирование организма рачков. Полученные данные могут быть использованы для разработки критериев качества водной среды.

Ключевые слова: скорость потребления пищи, дыхательная активность, кислород, экскреция фосфатов, адаптивные возможности, ксеноэстрогены

DOI: 10.31857/S1026347024060131, **EDN:** ujnvhb

В последние несколько лет возникло много опасений относительно экологической безопасности поверхностно-активных веществ на основе алкилфенолполиэтоксилатов. Они широко используются в моющих средствах, красках, гербицидах, производстве пластика и многих других продуктах. Подсчитано, что 60% этих веществ попадают в водную среду. Они биоразлагаемы и трансформируются в алкилфенолы, такие как нонилфенол и октилфенол, которые гидрофобны и могут накапливаться в водных организмах (Isidori *et al.*, 2006). Эти вещества обнаруживаются в определяемых количествах в пресных водоемах, питьевой воде, устьях рек и морских экосистемах разных регионов мира (Bina *et al.*, 2018; Cheng *et al.*, 2018; Lalonde, Garron 2021; Prasad *et al.*, 2023), поэтому изучение их потенциального воздействия на гидробионтов является актуальной задачей.

Октилфенолы (ОФ) относятся к наиболее токсичным и стойким загрязнителям в окружающей среде. Октильная группа в их структуре либо

линейна, либо располагается во втором, третьем или четвертом положении бензольного кольца, формируя изомеры. Из них 4-трет-октилфенол (4т-ОФ) наиболее часто используется в промышленности (Miyagawa *et al.*, 2021).

Биоаккумуляция ОФ во внутренних органах живущих в воде организмов значительна, уровень их содержания в теле может быть в 10–1000 раз выше, чем в окружающей среде (Isidori *et al.*, 2006). Известно, что ОФ обладают эстрогеномиметическими свойствами. Реакции эндокринного характера у водных организмов, вызываемые присутствием ОФ, широко обсуждаются в литературе (David *et al.*, 2009; Rey Vázquez *et al.*, 2009; Dong *et al.*, 2014; Meijide *et al.*, 2016). Выявлено, что присутствие ОФ даже в небольших концентрациях 0.5 мкг/л в водной среде может быть причиной серьезных репродуктивных нарушения у амфипод: феминизации у самцов, аномалий у эмбрионов и снижения фертильности у самок (Березина и др., 2024). Нарушение метаболических показателей (скорости

потребления кислорода) отмечено при концентрациях 4т-ОФ > 5 мкг/л (Березина и др., 2024). ОФ способны влиять и на функционирование сообществ микроорганизмов. В частности, 4т-ОФ влияли на метаболизм цианобактерий *Planktothrix agardhii*, активируя работу их систем антиоксидантной защиты (Zaytseva, Medvedeva, 2019). Однако до сих пор сублетальные эффекты (т.е. не приводящие в целом к гибели организма) этих веществ на многие физиологические функции водных животных остаются малоизученными. Кроме того, не определен нижний предел концентраций 4т-ОФ, вызывающих реакции в различных биологических системах водных животных.

Целью настоящего экспериментального исследования было изучение возможных нарушений энергетического обмена, показателей питания, дыхания и экскреции у амфипод (на примере вида *Gammarus oceanicus* Segerstråle, 1947) при экспериментальном воздействии октилфенола 4т-ОФ. Ракообразные *G. oceanicus*, выбранные для данного исследования, относятся к отряду *Amphipoda* и являются важными компонентами прибрежных сообществ морских экосистем, Балтийского и Белого морей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Схема эксперимента. Проведение опыта происходило в ноябре 2020 г. в лаборатории Биоэлектронных методов геоэкологического мониторинга НИЦЭБ РАН. Амфипод *G. oceanicus* (длиной тела 13–18 мм) отбирали в прибрежье Кандалакшского залива Белого моря и транспортировали в лабораторию, где содержали в искусственной морской воде соленостью 24‰ (промилле) при $T = 10.0 \pm 0.8^\circ\text{C}$. Соленость воды контролировали ежедневно при помощи рефрактометра. Для приготовления растворов загрязнителя использовали морскую воду и химически чистый 4-терт-октилфенол 97%, $(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$, Sigma-Aldrich. Искусственная морская вода соленостью 24‰ была предварительно приготовлена с использованием соли BIO-ACTIF от компании Tropic Marin® и дистиллированной воды. Она хранилась в большом аквариуме при аэрации и температуре воды 10°C . 4т-ОФ сначала растворяли в ацетоне и затем в морской воде до уровня 25 мкг/л. Таким способом получали маточный раствор. Эту расчетную концентрацию 4т-ОФ контролировали путем аналитического измерения. Фактическое содержание 4т-ОФ было определено как 25.6 мкг/л.

Далее маточный раствор использовали для приготовления сред, соответствующих двум вариантам 0.25 мкг/л (вариант 1) и 2.5 мкг/л (вариант 2) — путем разбавления его морской водой в 100 и 10 раз. В качестве контроля использовали морскую воду.

В контроле содержание 4т-ОФ было ниже пределов обнаружения метода, т.е. вещество здесь не обнаружено.

Воздействие на амфипод (по 20 экз.) в аквариумах объемом 2 л продолжалось 28 сут. Каждый вариант повторяли в 6 сериях. Выбор таких экспериментальных концентраций и времени воздействия 4т-ОФ был определен в результате предварительных опытов. Ранее (Березина и др., 2024), для другого вида *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing 1899) было показано, что концентрация 4т-ОФ 0.5 мкг/л не оказывала заметного эффекта на метаболическую активность рачков, оцениваемую по скорости потребления кислорода после 7 сут воздействия. Кроме этого, ранее было показано, что токсическая активность исследуемого соединения на ракообразных лучше выражена при долгосрочном воздействии (Isidori *et al.*, 2005).

Аквариумы были накрыты для избегания испарения воды. Каждые 7 сут. отмечали смертность рачков. Постоянная аэрация воды была обеспечена на уровне насыщения. Рачков обеспечивали субстратом, кормление, измерение температуры и солености воды проводили ежедневно. Фото-период был установлен 8:16 ч (день: ночь) в соответствии со временем проведения эксперимента.

Аналитическое измерение 4т-ОФ. Пробу воды объемом 0.5 л хранили в холоде при температуре -20°C до анализа. Перед анализом пробы проводили жидкость-жидкостную экстракцию (трижды по 15 мл гексана) при нейтральном значении pH среды. Полученные экстракты сушили над безводным сульфатом натрия, пробы упаривали на ротонном испарителе. Затем экстракт переносили в коническую пробирку и упаривали досуха под током азота. После этого к высушенным экстрактам добавляли 50 мкл дериватизирующего агента N,O-бис(триметил)-трифторацетида и помещали в термостат на 30 мин при 60°C . Оценка количественного содержания обнаруженных соединений проводилась с применением метода «внутреннего стандарта» (2-фторнафталин), который вводился в пробу непосредственно перед процедурой экстракции. Анализ алкилфенолов проводился в целевом режиме SIM (Selection Ion Monitoring) на хромато-масс-спектрометре (ГХ/МС) единичного разрешения QP 2010 (Shimadzu). Параметры ГХ/МС съемки были следующими: температура ионного источника — 200°C , интерфейса — 270°C , инжектора — 250°C , режим с постоянной скоростью потока газа-носителя (гелий) — 1.0 мл/мин. Энергия ионизации — 70 эВ. При анализе использовалась капиллярная колонка средней полярности TR-5MS ($60 \times 0.25 \times 0.25 \text{ мм}^3$). Объем вводимой пробы составлял 1 мкл. Термостат колонки нагревали по следующей программе: начальная температура 60°C выдерживалась в течение 1 мин, затем колонку нагревали со скоростью $15^\circ\text{C}/\text{мин}$

до 280°C (с 5-минутным выдерживанием). Общее время хроматографирования составило 31 мин. Предел количественного измерения 4т-ОФ составил 0.01 мкг/л.

Физиологические показатели амфипод. Для решения вопросов о влиянии на метаболическую активность рачков были оценены скорости потребления пищи, кислорода и экскреторной активности после 28 сут воздействия 4т-ОФ в концентрациях 0.25 и 2.5 мкг/л и в контроле.

Скорость потребления пищи определяли в краткосрочных экспериментах после воздействия 4т-ОФ на амфипод в чистой среде путем учета разницы между начальной и конечной массой пищи. В качестве пищи предоставляли кусочки живых фукусов *Fucus vesiculosus* Linnaeus 1753 из литорали губы Чупа, Белое море. Предварительно их тщательно промывали.

Испытуемых животных не кормили в течение 12 ч перед началом экспозиции, чтобы их кишечник остался пустым. Беспозвоночных высаживали поодиночке в небольшие сосуды (чашки Петри) с точно взвешенным количеством растений, не меняя условия содержания. Масса пищи была в избытке, но примерно равной (0.25 г) во всех трех вариантах. Длительность опыта — 48 ч. Всего исследовали 10 амфипод в каждом варианте. По окончании опыта определяли массу оставшегося растительного материала и массу амфипод. Сырую массу водорослей и животных определяли на весах Pioneer PX124 (OHAUS Corporation, США) точностью 0.01 мг.

Скорость потребления пищи (C , мг) животными рассчитывали по количеству внесенного и оставшегося растительного материала. Для контроля потери массы фукуса от естественного разложения и других причин отдельно экспонировали сходные по массе навески водорослей без амфипод. Скорость потребления пищи представлена как относительная величина (C_w) в единицах массы в сутки, равная отношению рациона (C , количества потребленной фитомассы) к сырой массе тела (WW) животных за сутки:

$$C_w = C / WW.$$

Скорость потребления кислорода (СПК) и экскреции фосфатов (Ex) амфиподами определяли в серии отдельных опытных измерений по методике, описанной ранее (Berezina, 2023). Экспозиция составила 4 ч при постоянной температуре 10°C. Кислородные склянки (респирометры) наполняли чистой, обогащенной кислородом водой, рачков рассаживали по одному или по несколько экземпляров (для мелких особей) и давали им возможность перейти в спокойное состояние в течение 0.5 ч. Затем склянки (30–250 мл) плотно закрывали и погружали в аквариум с температурой

воды 10°C, воду в аквариуме непрерывно перемешивали. Контрольные склянки с морской водой без организмов экспонировались в таких же условиях. Респирометры промывали этанолом и деминерализованной водой и затем сушили. Бактериальный фон потребления кислорода таким образом был минимизирован.

Величины СПК и Ex рассчитывали по разнице между уровнями кислорода и фосфатов в опыте и контроле. Рассчитывали удельные массовые скорости потребления кислорода и выделения фосфатов, т.е., количество кислорода, поглощенного и фосфора, выделенного на 1 мг сырой массы тела рачков за один час. Затем для сравнения эти удельные величины пересчитывались для особи средней массы 55 мг. Влажную массу животных определяли путем взвешивания на весах Pioneer PX124 (OHAUS Corporation, США) с точностью 0.01 мг после измерения кислорода и фосфатов в воде.

Измерение кислорода. Растворенный кислород измеряли с помощью цифрового оксиметра Edge DO HI2004 (HANNA) с полярографическим датчиком содержания растворенного кислорода по типу ячейки Кларка (точностью 1.5%), откалиброванного перед началом измерений по стандарту. При измерении кислорода воду в сосуде перемешивали с помощью магнитной мешалки.

Измерение фосфатов. Содержание фосфатов в воде определяли молибдатным методом согласно ГОСТ 18309-2014 (2015). Были изготовлены градуировочные растворы и рабочие растворы однозамещенного фосфорнокислого калия, молибденовокислого аммония серной и соляной кислот и двухлористого олова. Одновременно готовили две параллельные пробы. В мерные колбы вместимостью 50 мл вносили 50 мл анализируемой воды, профильтрованной через плотный бумажный фильтр “синяя лента”, 1 мл кислого раствора молибденовокислого аммония, и 0.1 мл рабочего раствора двухлористого олова. Измерения оптической плотности анализируемых проб проводили при длине волны 690 нм. Концентрации фосфатов в пробе находили по коэффициенту градуировочной характеристики, затем рассчитывали среднеарифметические измеренных величин параллельных проб.

Статистика. Полученные данные обрабатывали статистически, рассчитывали средние величины и их стандартные ошибки. Различия между вариантами анализировали с помощью теста Манна–Уитни в PAST 3.14.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Об интенсивности метаболизма гидробионтов, в первую очередь, можно судить по двум показателям — скорости потребления кислорода и экскреции биогенных веществ. Метаболические процессы

в любом организме тесно связаны с дыханием, так как окислительные процессы, при которых поглощается кислород и выделяется углекислый газ, служат источником энергии. Поэтому потребление кислорода хорошо отражает энергетический обмен в организме (Алимов, 1979; Glazier, 2015). Экскретируемые животными биогены образуются как конечный результат метаболизма, поэтому выделение определенного количества веществ за единицу времени также может свидетельствовать об интенсивности обмена веществ в организме в целом. Животные в основном экскретируют фосфор в растворенном виде в форме ортофосфатов через пищевой тракт с выделением мочи, покровы тела и жабры (Vanni, 2002). Уровень выделения фосфора непосредственно связан с уровнем потребления кислорода водными животными, расходуемого в процессе метаболизма на окисление органических веществ в их тканях (Гутельмахер, 1986; Голубков, 2014). Уровень потребления пищи животными является также важным показателем энергетического обмена, влияющим на их рост и общее состояние организма. Также он определяет и уровень экскретируемых организмом веществ (в том числе фосфатов).

В проведенном эксперименте отсутствие смертности рачков через 7, 14 и 21 сут отмечали при всех концентрациях 4т-ОФ и в контроле. В конце опыта (28 сут) смертность в контроле и варианте 2 была 3.3%, 5% и 8.3% соответственно. Скорость потребления пищи была самой высокой в контроле, составляя примерно 16% от массы тела в сут. По этому показателю выявлены существенные отличия амфипод в варианте 1 и 2 (рис. 1). В варианте 2 скорость потребления пищи была почти в 3 раза ниже, чем в контроле. Скорость потребления

кислорода значимо не различалась между вариантом 1 и контролем, а в варианте 2 была значимо ниже (примерно на 50%), чем в контроле (рис. 2). Скорость экскретирования фосфатов в первую очередь связана с уровнем потребления пищи, так как основное количество фосфатов выводится с мочой. Также эта величина отражает уровень метаболизма организма. Хотя между вариантом 1 и контролем не было выявлено различий в уровне аэробного метаболизма, скорость экскреции фосфатов была существенно ниже, чем в контроле, что, скорее, связано с уменьшением уровня потребляемой пищи. Еще большие различия обнаружены между вариантом 2 и контролем (рис. 3).

Ранее (Березина и др., 2024) при воздействии 0.5 мкг/л 4т-ОФ не было выявлено отличий в величинах СПК от контроля у другого вида амфипод, *G. fasciatus*, при коротком воздействии (7 сут). Проведенный эксперимент по долговременному воздействию (28 сут) этого загрязнителя показывает сходный результат (т.е. отсутствие отличий от контроля) при 0.25 мкг/л 4т-ОФ. Однако при концентрации 2.5 мкг/л 4т-ОФ (после 28 сут воздействия) величины СПК были статистически значимо выше, чем в контроле и при 0.25 мкг/л 4т-ОФ. Повышенные энергетические затраты при таком уровне воздействия показывают реакцию организма на стресс и являются следствием нарушения внутреннего гомеостаза. Повышение энергетических трат водных животных наблюдали при воздействии других токсических веществ, таких как диклофенак (Berezina *et al.*, 2022), тяжелые металлы (Irshad *et al.*, 2021). Стресс-реакции и нарушения метаболизма рыб были выявлены при загрязнении нефтепродуктами (Nwizugbo *et al.*, 2023).

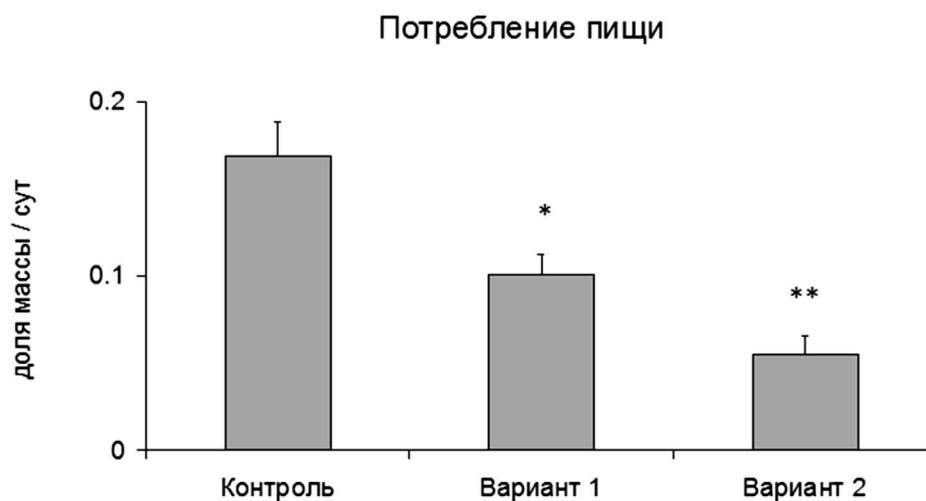


Рис. 1. Удельная скорость потребления пищи амфиподами *G. oceanicus* в контроле и при воздействии 4т-ОФ (4-трет-октилфенола). * — различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$.

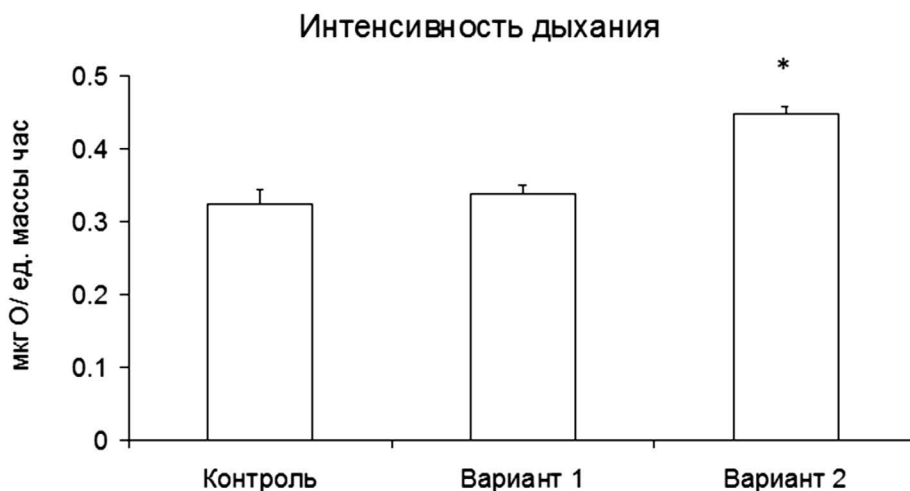


Рис. 2. Удельная скорость потребления кислорода амфиподами *G. oceanicus* в контроле и при воздействии 4т-ОФ (4-трет-октилфенола). * — различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$, а ** — при $p < 0.01$.

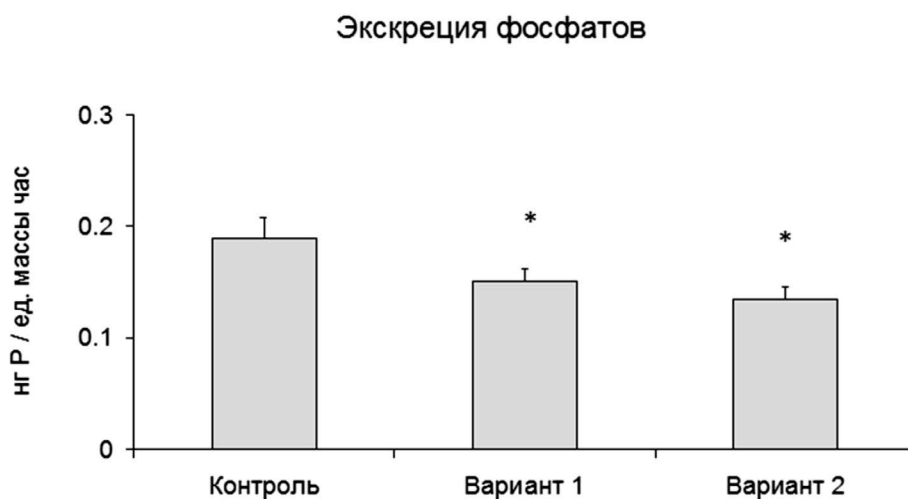


Рис. 3. Удельная скорость выделения фосфатов амфиподами *G. oceanicus* в контроле и при воздействии 4т-ОФ (4-трет-октилфенола). * — различия с контролем статистически значимы при $p < 0.05$.

Снижение «аппетита» (пониженные уровни потребления пищи по сравнению с контролем) и соответствующее уменьшение уровня экскреции фосфатов отмечено у амфипод, содержащихся 28 сут при обеих концентрациях 4т-ОФ (0.25 и 2.5 мкг/л). По-видимому, низкие уровни экскреции фосфатов (т.е. ухудшение функций выделительной системы) также связаны и со снижением уровня потребляемой пищи (суточного рациона) рачками в присутствии 4т-ОФ, свидетельствует о токсическом влиянии этого вещества и снижении общей адаптивности организма. Сходно, в других случаях воздействия различных токсических веществ наблюдали ухудшение пищеварительной функции организмов и снижение рациона. Так, например, под воздействием ртути количество потребляемой пищи

карпом уменьшилось на 38%, а латентный период между приемами пищи увеличился (Kuz'mina *et al.*, 2019). Также трофическая ниша озерной лягушки в условиях загрязнения тяжелыми металлами сокращалась, в отличие от контрольной точки (Заринова и др., 2013). Показано, что добавление 4т-ОФ в пищу рыбы-кролика (род *Siganus*) в концентрации от 5 до 125 мкг/г массы тела рыбы привело к необратимым гистопатологическим изменениям в пищеварительной системе (в печени, селезенке, кишечнике), которые усугублялись по мере увеличения концентрации и длительности воздействия (Du *et al.*, 2008). Другие исследования на амфибиях показали, что ОФ влияют на липидный обмен, что приводит к изменению структуры и состава их кишечного микробиома (Liu *et al.*, 2020).

Энергетический обмен, включающий в себя усвоение, преобразование и использование энергии, является ключевым физиологическим процессом, связанным с ростом и размножением живых организмов (White., 2022). Нарушение внутреннего гомеостаза организма при действии изученного ксенобиотика привело к увеличению энергетических потребностей организма, поскольку для восстановления гомеостаза в этом случае требовалась дополнительная энергия. Это выразилось в увеличении количества потребляемого кислорода (при 2.5 мкг/л). При этом снижение пищеварительной и выделительной активности рачков отмечено при воздействии обеих тестируемых концентраций 4т-ОФ. Это связано с тем, что ОФ, как и другие ксенобиотики, влияют на распределение энергии среди процессов поддержания жизненно важных функций организмов, оказавшихся в стрессовом состоянии (Killen *et al.*, 2013; Sokolova, 2021). Данные свидетельствуют об экономии организмом энергии на процессы питания и выделения и перераспределении энергии в пользу дыхательной активности. В данном случае ускорение метаболических реакций может быть связано с активацией организмом механизмов детоксикации ксенобиотика. В целом, длительное воздействие 4т-ОФ (при концентрации 2.5 мкг/л) неблагоприятно для организма рачков, поскольку снижает общие адаптивные возможности и может сказаться на их соматическом и репродуктивном росте.

Точный механизм, посредством которого ОФ модулируют функции организма, остается неизвестным. Благодаря связывающей способности ОФ к белкам митохондрий, возможно, они участвуют в ингибировании активности ферментов синтеза АТФ. Если при этом не блокируется окисление (транспорт электронов и протонов) в цикле Кребса, то, соответственно, резко возрастают потребности организма в кислороде и производстве энергии для преодоления стресса, вызываемого этим ксенобиотиком. В основе токсических эффектов ОФ лежит окислительный стресс, который проявляется в образовании избыточного количества активных форм кислорода (АФК) и других радикалов в клетках (Li *et al.*, 2018). Двойственный характер действия активных форм радикалов заключается в том, что при их низких концентрациях проявляется митогенный или пролиферативный сигнальный эффект, т.е. инициируется адаптивная защита клеток от токсического воздействия, а при их высоких концентрациях происходит повреждение всех биомолекул и самой клетки (Moldogazieva *et al.*, 2020). Продукция АФК митохондриями может приводить к окислительному повреждению митохондриальных белков, мембран и ДНК, нарушая способность митохондрий не только синтезировать АТФ, но и выполнять широкий спектр важнейших метаболических функций (Murphy, 2009; Fang *et al.*, 2015; Weidinger, Kozlov 2015). Так,

воздействие малых доз (сходных с примененных нами) ОФ на лягушек вызывало окислительный стресс в их печени, приводило к снижению активности антиоксидантных ферментов и повреждению органелл гепатоцитов, включая деформацию митохондрий и конденсацию их ядер (Li *et al.*, 2018).

В заключении отметим, что нами впервые изучена реакция амфипод *G. oceanicus* на присутствие в среде малоизученного микрозагрязнителя антропогенного происхождения, 4т-ОФ. Все изученные физиологические показатели тестируемых животных — интенсивность потребления пищи, дыхательная активность (= скорость потребления кислорода) и уровень экскреции фосфатов (выделяемых с мочой организмов) — изменялись при длительном (28 сут) воздействии загрязнителя в концентрации 2.5 мкг/л, что свидетельствует о неблагоприятном влиянии таких доз и продолжительности воздействия 4т-ОФ на организм ракообразных. Полученные данные могут быть использованы для разработки рекомендаций по включению этого опасного загрязнителя в программы мониторинга качества водной среды.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа финансировалась Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (госзадания 122031100274-7, 122041100086-5, 122041100085-8) и Программой приграничного сотрудничества России и Эстонии, проект ER90 HAZLESS (2019–2022 гг.).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

При экспериментах с животными соблюдались применимые этические нормы. Разрешение № 1–5/ 14.02.2022 г. предоставлено Комиссией по Биоэтике ЗИН РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алимов А. Ф. Интенсивность обмена у водных пойкिलотермных животных // Общие основы изучения водных экосистем. Л.: Наука, 1979. С. 5–20.
Березина Н. А., Сухих Н. М., Егорова А. В., Жаковская З. А. Физиологические и репродуктивные нарушения у балтийских амфипод *Gmelinoides fasciatus* при экспериментальном воздействии

- 4-трет-октилфенола // Сибирский экологический журнал. 2024. №2. С. 208–219.
<https://doi.org/10.15372/SEJ20240203>
- Голубков С.М. Масса тела и экскреция фосфора водными беспозвоночными // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2014. № 1. С. 86–91.
<https://doi.org/10.7868/S0002332914010068>
- ГОСТ 18309-2014 // Вода. Методы определения фосфорсодержащих веществ (ISO 6878:2004, NEQ). Издание официальное. Москва: Стандартинформ, 2015. 24 с.
- Гутельмахер Б.Л. Метаболизм планктона как единого целого. Л.: Наука, 1986. 155 с.
- Заринова Ф.Ф., Файзулин А.И., Кузовенко А.Е. Особенности питания озерной лягушки в условиях техногенного загрязнения тяжелыми металлами (Республика Башкортостан) // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. 2013. Т. 18, № 4. С. 1279–1282.
- Berezina N.A. Energy metabolism of crustaceans (Amphipoda) from the northern populations (White Sea basin) // Russian Journal of Ecology. 2023. V. 54. P. 62–69.
<https://doi.org/10.1134/S1067413623010022>
- Berezina N.A., Sharov A.N., Chernova E.N., Malysheva O.A. Effects of Diclofenac on the reproductive health, respiratory rate, cardiac activity, and heat tolerance of aquatic animals // Environ. Toxicol. Chem. 2022. V. 41. P. 677–686.
<https://doi.org/10.1002/etc.5278>
- Bina B., Mohammadi F., Amin M.M., Pourzamani H.R., Yavari Z. Determination of 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol compounds in various types of wastewater and their removal rates in different treatment processes in nine wastewater treatment plants of Iran // Chin. J. Chem. Eng. 2018. V. 26. P. 183–190.
<https://doi.org/10.1016/j.cjche.2017.04.009>
- Cheng J.R., Wang K., Yu J., Yu Z.X., Yu X.B., Zhang Z.Z. Distribution and fate modeling of 4-nonylphenol, 4-t-octylphenol, and bisphenol a in the Yong River of China // Chemosphere. 2018. 195. P. 594–605.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.085>
- David A., Fenet H., Gomez E. Alkylphenols in marine environments: Distribution monitoring strategies and detection considerations // Mar. Pollut. Bull. 2009. V. 58. 7. P. 953–960.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.04.021>
- Dong R.R., Yang S.J., Feng R.J., Fang L.L., Sun Y.L., Zhang Y.G., Wang D.S. Complete feminization of catfish by feeding *Limnodilus*, an annelid worm collected in contaminated streams // Environ. Res. 2014. V.133. P. 371–379.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.05.018>
- Du Y.B., Li Y.Y., Zhen Y.J., Hu C.B., Liu W.H., Chen W.Z., Sun Z.W. Toxic effects in *Siganus oramin* by dietary exposure to 4-tert-octylphenol // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2008. V. 80. 6. P. 534–538.
<https://doi.org/10.1007/s00128-008-9388-7>
- Fang Q., Shi X., Zhang L., Wang Q., Wang X., Guo Y., Zhou B. Effect of titanium dioxide nanoparticles on the bioavailability, metabolism, and toxicity of pentachlorophenol in zebrafish larvae // J. Hazard. Materials. 2015. V. 283. P. 897–904.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.10.039>
- Glazier D.S. Is metabolic rate a universal “pacemaker” for biological processes? // Biol. Rev. 2015. V. 90. 2. P. 377–407.
<https://doi.org/10.1111/brev.12115>
- Irshad K., Rehman, K., Fiayyaz, F., Sharif, H., Murtaza, G., Kamal, S. Akash M.S.H. Role of heavy metals in metabolic disorders // Endocrine disrupting chemicals-induced metabolic disorders and treatment strategies. Emerging contaminants and associated treatment technologies. Ed: Akash M.S.H. et al. Cham: Springer, 2021.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-45923-9_13
- Isidori M., Lavorgna M., Nardelli A., Parrella A. Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols // Chemosphere. 2006. V. 64. 1. P. 135–143.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.10.047>
- Killen S.S., Marras S., Metcalfe N.B., McKenzie D.J., Domenici P. Environmental stressors alter relationships between physiology and behaviour // Trends in Ecology & Evolution. 2013. V. 28. 11. P. 651–658.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.05.005>
- Kuz'mina V.V., Komov V.T., Tarleva A.F., Sheptitskiy V. Effect of dietary metal exposure on the locomotor reactions and food consumption in common carp *Cyprinus carpio* (L.) // Inland Water Biology. 2019. V. 12. P. 356–364.
<https://doi.org/10.1134/S1995082919030106>
- Lalonde B., Garron C. Nonylphenol, octylphenol, and nonylphenol ethoxylates dissemination in the Canadian freshwater environment // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2021. V. 80. 2. P. 319–330.
<https://doi.org/10.1007/s00244-020-00807-x>
- Li X.Y., Wei F., Gao J.S., Wang H.Y., Zhang Y.H. Oxidative stress and hepatotoxicity of *Rana chensinensis* exposed to low doses of octylphenol // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2018 V. 64. P. 86–93.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.09.011>
- Liu R., Zhang Y., Gao J., Li X. Effects of octylphenol exposure on the lipid metabolism and microbiome of the intestinal tract of *Rana chensinensis* tadpole by RNAseq and 16s amplicon sequencing // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2020. V. 197. 110650.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110650>
- Mejide F.J., Vázquez G.R., Piazza Y.G., Babay P.A., Itria R.F., Nostro F.L.L. Effects of waterborne exposure to 17β-estradiol and 4-tert-octylphenol on early life stages of the South American cichlid fish *Cichlasoma dimerus* // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2016. V. 124. P. 82–90.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.10.004>
- Miyagawa S., Sato T., Iguchi T. Subchapter 129B—Octylphenol // Handbook of Hormones. Ed: Ando H., Ukena K., Nagata S. Cambridge: Academic Press, 2021. P. 1001–1002.

- Moldogazieva N.T., Mokhosoev I.M., Mel'nikova T.I., Zavatskiy S.P., Kuz'menko A.N., Terentiev A.A. Dual character of reactive oxygen, nitrogen, and halogen species: Endogenous sources, interconversions and neutralization. *Biochemistry (Moscow)*. 2020. V. 85. 1. P. 56–78. <https://doi.org/10.1134/S0006297920140047>
- Murphy M. Review article. How mitochondria produce reactive oxygen species // *The Biochemical journal*. 2009. V. 417. P. 1–13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>
- Nwizugbo K.C., Ogwu M.C., Eriyamremu G.E., Ahana C.M. Alterations in energy metabolism, total protein, uric and nucleic acids in African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus* Burchell) exposed to crude oil and fractions // *Chemosphere*. 2023. V. 316. 137778. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137778>
- Prasad G.S., Rout S.K., Malik M.M., Karmakar S., Amin A., Ahmad I. Occurrence of xenoestrogen alkylphenols (Octylphenols and Nonylphenol) and its impact on the aquatic ecosystem // *Xenobiotics in aquatic animals*. Ed: Rather M.A., Amin A., Hajam Y.A., Jamwal A., Ahmad I. Singapore: Springer, 2023. https://doi.org/10.1007/978-981-99-1214-8_13
- Rey Vázquez G., Meijide F.J., Da Cuña R.H., Lo Nostro F.L., Piazza Y.G., Babay P.A., Trudeau V.L., Maggese M.C., Guerrero G.A. Exposure to waterborne 4-tert-octylphenol induces vitellogenin synthesis and disrupts testis morphology in the South American freshwater fish *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes) // *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 2009. V. 150. 2. P. 298–306. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2009.05.012>
- Sokolova I. Bioenergetics in environmental adaptation and stress tolerance of aquatic ectotherms: Linking physiology and ecology in a multi-stressor landscape // *J. Experim. Biol.* 2021. V. 224. jeb236802. <https://doi.org/10.1242/jeb.236802>
- Vanni M.J. Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems // *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2002. V. 33. P. 341–370. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150519>
- Weidinger A., Kozlov A.V. Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: Oxidative stress versus signal transduction // *Biomolecules*. 2015. V. 5. P. 472–484. <https://doi.org/10.3390/biom5020472>
- White C.R., Alton L.A., Bywater C.L., Lombardi E.J., Marshall D.J. Metabolic scaling is the product of life-history optimization // *Science*. 2022. V. 377. P. 834–839. <https://doi.org/10.1126/science.abm7649>
- Zaytseva T.B., Medvedeva N.G. Molecular mechanisms of the response to 4-tert-Octylphenol-induced stress in a cyanobacterium *Planktothrix agardhii* // *Microbiology*. 2019. V. 88. P. 416–422. <https://doi.org/10.1134/S0026261719040143>

Metabolic characteristics of the amphipod *Gammarus oceanicus* (Crustacea: Amphipoda) exposed to octylphenol (4-T-OP)

N. A. Berezina^{1, #}, Yu. I. Gubelit¹, L. G. Bakina², A. V. Egorova², S. V. Kholodkevich²

¹Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Universitetskaya embankment. 1, St. Petersburg, 199034 Russia

²St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences,

¹4th Line V.O., 39, St. Petersburg, 199178 Russia

[#]e-mail: nadezhda.berezina@zin.ru

The growing impact of human activities on the biosphere requires research into the effects of exposure to hazardous toxic substances on aquatic ecosystems. Ecophysiological parameters of the amphipod *Gammarus oceanicus* Segerstråle, 1947, such as rates of food consumption, oxygen consumption and phosphate excretion (excreted in the body's urine), were studied in order to determine the responses of these crustaceans to the influence of a little-studied micropollutant of anthropogenic origin, xenoestrogen, 4-tert-octylphenol (4t-OP). After 28 days of exposure to the lowest concentrations of 4t-OP (0.25 µg/l), a decrease in the feeding and excretory activity of crustaceans was detected, and the level of oxygen consumption was similar to the values in control individuals. All studied parameters of the tested animals changed significantly after the same time of exposure to 2.5 µg/l 4t-OP, showing an adverse effect on the functioning of the crustacean organism. The data obtained can be used to develop criteria for the quality control of the aquatic environment.

Keywords: food consumption rate, respiratory activity, oxygen consumption rate, phosphate excretion rate, adaptive capabilities, xenoestrogens