

На правах рукописи

ГУРЕЕВА Елена Викторовна

**СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНОИДА ФУКОКСАНТИН
В БУРЫХ ВОДОРОСЛЯХ *CYSTOSEIRA BARBATA* (STACKHOUSE)
S. AGARDH И *CYSTOSEIRA CRINITA* DUBY (ЧЁРНОЕ МОРЕ)**

03.02.10 – гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Севастополь – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь

Научный руководитель:

Рябушко Виталий Иванович – доктор биологических наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник Отдела аквакультуры и морской фармакологии ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь

Официальные оппоненты:

Камнев Александр Николаевич – доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО Московского государственного психолого-педагогического университета, г. Москва

Садогурский Сергей Ефимович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», г. Ялта

Ведущая организация:

ФГБУН «Мурманский морской биологический институт Кольского научного центра РАН», г. Мурманск

Защита состоится «__» _____ 2019 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д900.009.01 при ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН» по адресу: 299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2. e-mail: dissovet@imbr-ras.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН» по адресу: 299011, РФ, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2, или на сайте: <http://imbr-ras.ru/?p=5249>

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат биологических наук

Поспелова Наталья Валериевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Фукоксантин (Фк) – каротиноид оранжевого цвета, вместе с хлорофиллами а, с и β -каротином содержится в бурых, диатомовых и золотистых водорослях (Nomura, 1997). Фк обладает выраженной фармакологической активностью, в частности проявляет антиоксидантное, цитостатическое, противовоспалительное, гипотензивное и антидиабетическое действие (Peng et al., 2011; Mikami, Hosokawa, 2013). Исследования показали, что содержание Фк варьируется в различных морских водорослях и является видоспецифичным (Terasaki et al., 2009). Ранее этот пигмент был выделен и идентифицирован из бурых водорослей родов *Laminaria*, *Sargassum*, *Undaria*, произрастающих в основном в дальневосточном регионе (Das et al., 2008; Neo et al., 2009; Airanthi et al., 2011). Сырьём для получения Фк также могут стать черноморские бурые водоросли. В Чёрном море водоросли рода *Cystoseira* C. Agardh широко распространены вдоль побережья и являются одним из доминантов донных сообществ верхней sublittoral.

Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), найденные в бурых водорослях, оказывают положительное влияние на здоровье человека (Dembitsky, 2007; Calder, 2012). Основным источником получения n-3 ПНЖК – морская рыба, однако, учитывая сокращение запасов рыбного сырья, необходим поиск новых источников ПНЖК (Nomura, 2013). Существует много исследований по содержанию ЖК в бурых водорослях, в том числе представителей рода *Cystoseira* из разных мест обитания (Dembitsky, 1990; Khotimchenko et al. 2002; Terasaki, 2009; Vizetto-Duarte, 2015; Susanto, 2016).

Бурые водоросли являются признанными биоиндикаторами загрязнения ксенобиотиками прибрежных морских акваторий. Сведений о содержании тяжёлых металлов в цистозирах существует довольно много, однако они зачастую приводятся без учёта индивидуальных морфологических особенностей макрофита. Сезонные изменения концентрации тяжёлых металлов в водорослях могут зависеть как от их количества, растворённого в воде, так и от особенностей вегетации растений в разное время года.

До настоящего времени сведения о динамике содержания Фк в бурых водорослях рода *Cystoseira* из Чёрного моря практически отсутствуют, поэтому исследования содержания фукоксантина, жирных кислот и некоторых тяжёлых металлов, а также выявление возможной связи этих параметров в макрофитах из акваторий с разным уровнем антропогенной нагрузки, определяют актуальность выбранной темы.

Степень разработанности темы исследования. Данные по содержанию Фк в цистозирах Чёрного моря представлены только для *Cystoseira barbata* и были получены в середине прошлого столетия (Яценко, 1963). В этой работе приведены сведения о суммарном содержании ксантофиллов (фукоксантин, виолаксантин и неофукоксантин-А), что осложняет проведение сравнительного анализа полученных значений с концентрациями пигментов у других бурых водорослей. Определение возраста ветвей проводилось без уточнения морфофизиологических особенностей цистозеры и представлено всего двумя группами; также в то время не было достоверных методов определения структуры полученных пигментов (ВЭЖХ, ЯМР и т.д.). Сведения о концентрациях химических элементов, в т.ч. тяжёлых металлов, в цистозирах из Чёрного моря приведены в многочисленных литературных источниках, однако сравнительные данные о содержании фукоксантина в макрофитах из районов с разным уровнем антропогенной нагрузки отсутствуют.

Цель работы – установить общие закономерности изменчивости содержания фукоксантина в двух видах бурых водорослей рода *Cystoseira*, обитающих в разных экологических условиях крымского побережья Чёрного моря.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследовать содержание фукоксантина в талломах некоторых видов бурых водорослей Чёрного моря.
2. Изучить годовой цикл изменения содержания фукоксантина в талломах двух видов рода *Cystoseira* – *C. barbata* (Stackhouse) C. Agardh 1820 и *C. crinita* Duby 1830.
3. Изучить концентрацию макро- и микроэлементов, в т.ч. тяжёлых металлов, в водорослях рода *Cystoseira* из районов с разным уровнем антропогенной нагрузки (акватории Фороса и Карантинной бухты).
4. Исследовать состав и содержание жирных кислот в разновозрастных ветвях *C. barbata* и их связь с концентрацией фукоксантина.
5. Разработать технологию получения профилактического продукта из бурых водорослей, содержащего фукоксантин.

Научная новизна. Впервые получена количественная оценка синхронных измерений концентрации фукоксантина, метиловых эфиров жирных кислот и 32 макро- и микроэлементов в ветвях *C. barbata* разного возраста. Максимальные концентрации Фк и большинства элементов обнаружены в ветвях макрофитов возрастом 2-3 месяца. Впервые представлены данные по сезонной динамике содержания Фк и некоторых тяжёлых металлов в разновозрастных ветвях и стволах бурых водорослей рода *Cystoseira* в акваториях Чёрного моря с разной антропогенной нагрузкой. Установлено, что содержание пигмента в ветвях

C. barbata выше, чем в ветвях *C. crinita*, независимо от места отбора проб. Впервые определены концентрации Фк в других бурых водорослях: *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy, *Dictyota spiralis* Montagne, *Cladostephus spongiosus* (Hudson) C. Agardh и *Nizamuddinina zanardinii* (Schiffner) P.C. Silva.

Теоретическая и практическая значимость. Изучение сезонных изменений содержания фотосинтетических пигментов у макрофитов необходимо для выявления факторов, регулирующих продуктивность морских водорослёвых сообществ в течение их вегетационного цикла. Полученные экспериментальные данные о синхронных измерениях концентрации фукоксантина и некоторых тяжёлых металлов в бурых водорослях рода *Cystoseira* расширяют теоретические знания об особенностях антропогенного влияния на прибрежные морские экосистемы. Моделирование зависимости содержания фукоксантина у водорослей рода *Cystoseira* от интенсивности общего светового потока с помощью полиномиальной аппроксимации позволило установить, что данный процесс хорошо описывается биквадратным уравнением с высоким коэффициентом детерминации. Установлено, что для целей биомониторинга загрязнения окружающей среды тяжёлыми металлами и другими элементами предпочтительно использовать молодые ветви цистозир возрастом 2-3 мес., чем иные морфоструктурные элементы макрофита. Разработана новая технология получения из бурых водорослей рода *Cystoseira* лечебно-профилактического продукта, содержащего до 5% фукоксантина. Для этих целей можно использовать как свежесобранные макрофиты, так и водоросли из штормовых выбросов. Показано, что *C. barbata* имеет оптимальное для здоровья человека соотношение n-3/n-6 ПНЖК, равное 1,0.

Методы исследования. Для определения концентрации фукоксантина в бурых водорослях использовали методы препаративной ТСХ и в соответствии с Патентом 86671 U UA; содержание макро- и микроэлементов определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой; концентрацию метиловых эфиров жирных кислот определяли методом газовой хроматографии. Статистический анализ экспериментальных данных выполнен в программах Microsoft Excel и Origin Pro; для целей моделирования использовали многослойную нейронную сеть (Collobert, 2004).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Содержание фукоксантина, макро- и микроэлементов, липидов и метиловых эфиров жирных кислот в цистозирах зависит от возраста ветвей растения.

2. Концентрация тяжёлых металлов в талломах бурых водорослей зависит от видовой принадлежности макрофитов, сезона года и загрязнения места обитания;
3. Для целей биомониторинга загрязнения окружающей среды макро- и микроэлементами, включая тяжёлые металлы, предпочтительнее использовать молодые ветви цистозир, чем другие морфоструктурные элементы макрофита.

Достоверность результатов обеспечена большим объёмом фактического материала (805 проб), собранного на 3 участках акватории Крымского побережья; многократностью повторения измерений и применением статистической обработки экспериментальных данных.

Личный вклад соискателя. В основу настоящей работы положены результаты экспериментальных исследований, проведённых автором в трёх акваториях Крымского п-ова в течение 2013–2014 гг. и 2016–2018 гг. Автор принимал непосредственное участие в отборе проб, обработке материала, проведении анализов, самостоятельно интерпретировал и обобщал полученные данные. Также автор принимал участие в обсуждении результатов и написании текстов совместных статей с соавторами. Диссертационная работа написана лично соискателем.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы были представлены: VIII международная научно-практическая конференция молодых учёных «Понт Эвксинский 2013» (Севастополь, 2013); Белорусско-Российская научно-практическая конференция с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты» (Минск, 2013); Молодёжная научно-практическая конференция «Экологические проблемы Азово-Черноморского региона и комплексное управление прибрежной зоной» (Севастополь, 2014); II международная научно-практическая конференция «Народы Черноморско-Каспийского региона: проблемы и пути их решения» (Ростов-на-Дону, 2014); XXI российский национальный конгресс «Человек и лекарство» (Москва, 2014) и Общеинститутский научный семинар ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН» (Севастополь, 2018).

Структура и объём работы. Диссертация изложена на 187 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 6 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 294 источника, из них 235 иностранных. Работа содержит 15 таблиц и 51 рисунок.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 7 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и ВАК Украины (вышедших из печати до января 2015 г.), в т.ч. 2 патентах. В статьях,

опубликованных в соавторстве, вклад соискателя состоит в выборе и разработке методов исследования, получении экспериментальных данных, обсуждении и написании текста статей и тезисов. Права соавторов публикаций не нарушены.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность научному руководителю диссертационной работы, д.б.н. В.И. Рябушко за помощь при постановке цели и задач исследования, обсуждении результатов, участие в написании совместных работ. Особую благодарность выражаю соавторам публикаций: к.б.н. М.В. Нехорошеву за практическую помощь в освоении методик определения фукоксантина, липидов и жирных кислот, а также м.н.с. Н.И. Бобко – за оказание помощи в определении содержания элементов в макрофитах, д.б.н. А.В. Празукину – за консультации и помощь в определении возраста цистозир, м.н.с. М.А. Гурееву (ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва) – за ценные консультации в проведении математического анализа данных. Автор выражает благодарность Dr. Takashi Maoka (Research Institute for Production Development, Kyoto, Japan) за помощь в идентификации фукоксантина.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В главе 1 Обзор литературы приведена экологическая характеристика и охарактеризованы запасы бурых водорослей рода *Cystoseira* в Чёрном море. Дана общая характеристика и свойства Фк, предполагаемые пути биосинтеза в водорослях, охарактеризованы фармакологические свойства пигмента. Обращено внимание на недостаток информации о содержании Фк в цистозирах. Уделено внимание описанию факторов, влияющих на содержание Фк в бурых водорослях, в частности, к наиболее агрессивному типу загрязнения Мирового Океана – тяжёлыми металлами, особенностям накопления их бурыми водорослями. Отмечено отсутствие данных по синхронным измерениям накопления фукоксантина и тяжёлых металлов в ветвях цистозир в зависимости от возраста макрофита, времени года и места отбора проб.

В главе 2 Материалы и методы дано краткое описание районов отбора проб. Исследование годовой динамики содержания Фк и тяжёлых металлов выполнено на макрофитах из двух акваторий Крымского побережья: условно чистой (пгт Форос) и относительно загрязнённой (Карантинная бухта, г. Севастополь). Объект исследования – бурые водоросли *C. barbata* и *C. crinita*. Отбор проб водорослей проводили на глубине 0,5–1,0 м из естественных незатенённых мест обитания. Кроме этого, в августе 2016 г. были собраны бурые водоросли *D. spiralis*, *P. pavonica*, *C. spongiosum*, *C. barbata* и *C. crinita* в открытой части моря недалеко от Балаклавской бухты.

Возраст ветвей и талломов цистозир определяли по методикам, приведённым в работах (Парчевский, 1979; Празукин, 1983). Определение концентрации макро- и микроэлементов, в т. ч. тяжёлых металлов, проводили с помощью атомно-абсорбционной спектрофотометрии (Spectr AA-5, Varian, Австралия) и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (PlasmaQuant MS Elite, Analytik Jena AG, Германия) в НОЦКП «Спектрометрия и хроматография» ИМБИ РАН. Содержание Фк в этанольном экстракте водорослей определяли методом препаративной ТСХ. Стандарт (кристаллический Фк) получен из *Cystoseira* sp. по методике, описанной в Патенте № 86671. Физико-химические характеристики стандарта Фк получены на жидкостном хроматографе Hitachi L-7100 (Токуо, Japan).

Содержание общих липидов определяли согласно (Агатова, 2004). Метилирование стандартов жирных кислот и липидной фракции в пробах проводили по (Кейтс, 1975). Метилловые эфиры жирных кислот определяли на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» (Хроматэк, Россия) с масс-спектрометрическим детектором и капиллярной колонкой в НОЦКП «Спектрометрия и хроматография» ИМБИ РАН.

Статистический анализ экспериментальных данных выполнен в программе Microsoft Excel, Origin Pro; для моделирования нормализованных кривых применяли многослойную нейронную сеть (Collobert, 2004), использующую машину опорных векторов (Ven-Hug, 2001).

В главе 3 Содержание фукоксантина в бурых водорослях Чёрного моря приведены данные о концентрации Фк в 5 видах бурых водорослей, отобранных в районе Балаклавской бухты Чёрного моря. Содержание Фк в водорослях варьирует в диапазоне от $0,05 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}_{\text{сыр}}$ у *Padina pavonica* до $0,31 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}_{\text{сыр}}$ у *Cladostephus spongiosus* (табл. 1). В сравнительных целях определено содержание пигмента в бурой водоросли *N. zanardinii* из Омана. Установлено, что бурые водоросли являются богатым источником Фк. Из табл. 1 следует, что цистозир имеет относительно высокие концентрации Фк.

В онтогенетическом ряду ветвей первого порядка (0,3–7 мес.) у цистозир наблюдается одновершинное изменение концентрации Фк с максимумом в возрастной группе ветвей от 2 до 3 мес. Это было подтверждено измерениями содержания пигмента в ветвях макрофитов, собранных в разные годы (сентябрь 2013 г., июнь 2017 г.) (рис. 1).

Таблица 1 Содержание фукоксантина в некоторых бурых водорослях

Вид	Место обитания	Концентрация фукоксантина, $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}_{\text{сыр}} \pm \text{SD}$
<i>Cladostephus spongiosus</i>	Чёрное море	$0,31 \pm 0,09$
<i>Cystoseira barbata</i>	«←»	$0,25 \pm 0,05$
<i>Cystoseira crinita</i>	«←»	$0,22 \pm 0,06$
<i>Dictyota spiralis</i>	«←»	$0,18 \pm 0,03$
<i>Padina pavonica</i>	«←»	$0,05 \pm 0,01$
<i>Nizamuddinia zanardinii</i>	Аравийское море	$0,16 \pm 0,1$

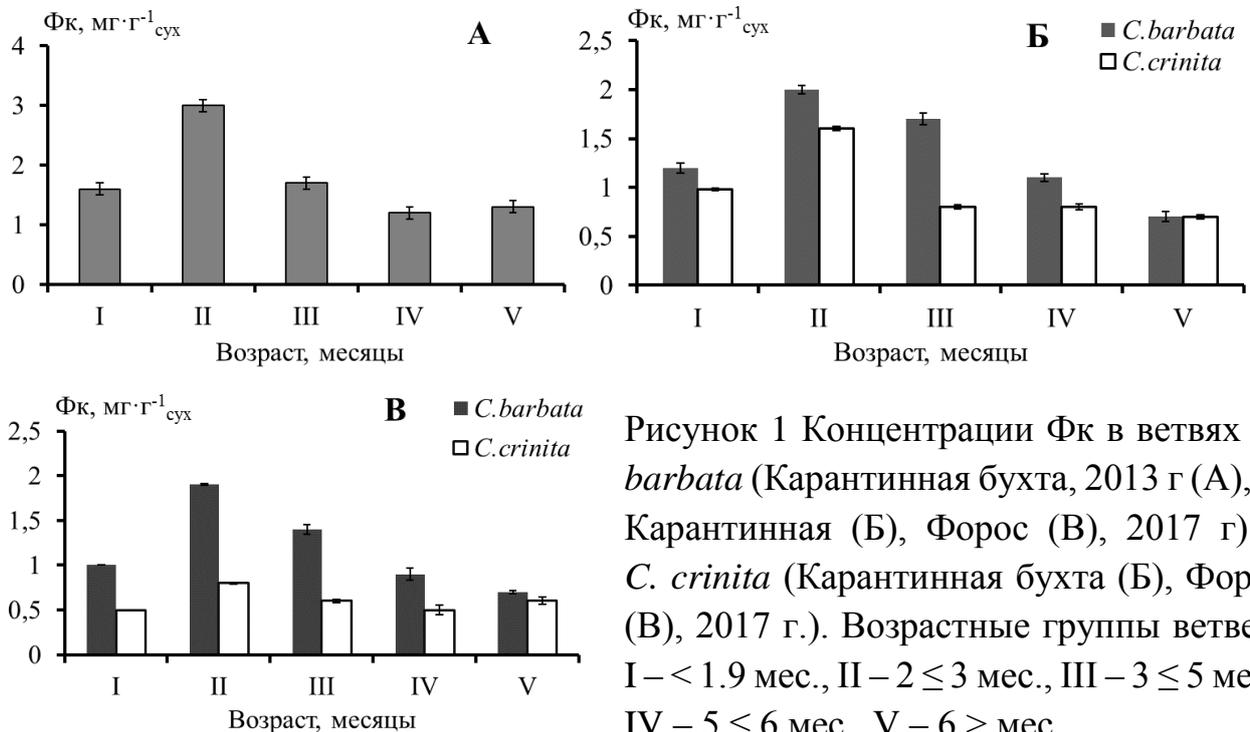


Рисунок 1 Концентрации Фк в ветвях *C. barbata* (Карантинная бухта, 2013 г (А), б. Карантинная (Б), Форос (В), 2017 г.) и *C. crinita* (Карантинная бухта (Б), Форос (В), 2017 г.). Возрастные группы ветвей: I – < 1.9 мес., II – $2 \leq 3$ мес., III – $3 \leq 5$ мес., IV – $5 \leq 6$ мес., V – $6 >$ мес.

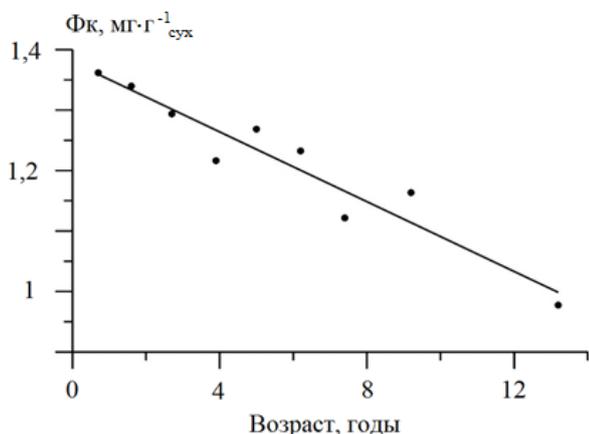


Рисунок 2 Изменение концентрации Фк в зависимости от возраста слоевища бурой водоросли *C. barbata*

Учитывая онтогенетические изменения морфологической структуры (соотношение массы ствола и суммарной массы ветвей) слоевищ *C. barbata* и используя средние значения концентраций Фк в стволах и ветвях, получены расчётные величины концентраций Фк в слоевищах разного возраста (рис. 2).

Эта зависимость хорошо описывается линейной функцией с высоким коэффициентом детерминации ($R^2 = 0,96$): $\Phi_k = 1,379 - 0,029 \cdot T$, где Φ_k – концентрация фукоксантина, $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}_{\text{сух}}$; T – возраст, годы (рис. 2).

Рассмотрим годовую динамику содержания Φ_k у цистозир на примере изменения концентрации пигмента в ветвях макрофита II-й возрастной группы для двух станций отбора проб (рис. 3).

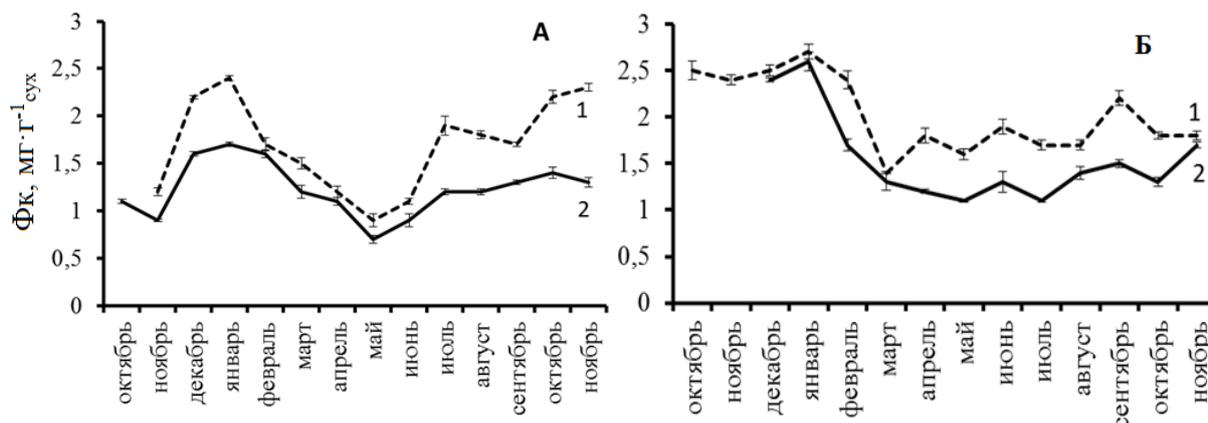


Рисунок 3 Годовая динамика содержания Φ_k в 2-3-месячных ветвях *C. barbata* (1) и *C. crinita* (2), собранных в акватории Фороса (А) и Карантинной бухты (Б)

Годовая динамика содержания Φ_k у обоих видов водорослей имеет хорошо выраженные периоды максимума и минимума, особенно в макрофитах из акватории Фороса. В целом, максимальная концентрация Φ_k в ветвях цистозир отмечена в январе, а минимальная – в мае. В ветвях *C. barbata* из Карантинной бухты максимальная концентрация пигмента обнаружена в январе, минимальная – в марте. В ветвях *C. crinita* максимум найден в январе, минимальные концентрации зафиксированы в мае и июле. На протяжении всего периода наблюдений, независимо от места отбора проб, содержание Φ_k в ветвях *C. barbata* всегда выше, чем в ветвях *C. crinita*.

Для исследования годовой динамики концентрации Φ_k в стволах цистозир был выбран возрастной интервал 3,5–4,7 лет из-за наибольшей распространённости данной возрастной группы в обоих видах водорослей. Показано, что концентрация Φ_k в стволах *C. barbata* на протяжении всего периода исследования значительно меньше, чем у *C. crinita* (рис. 4). Содержание пигмента в стволах значительно ниже, чем в ветвях.

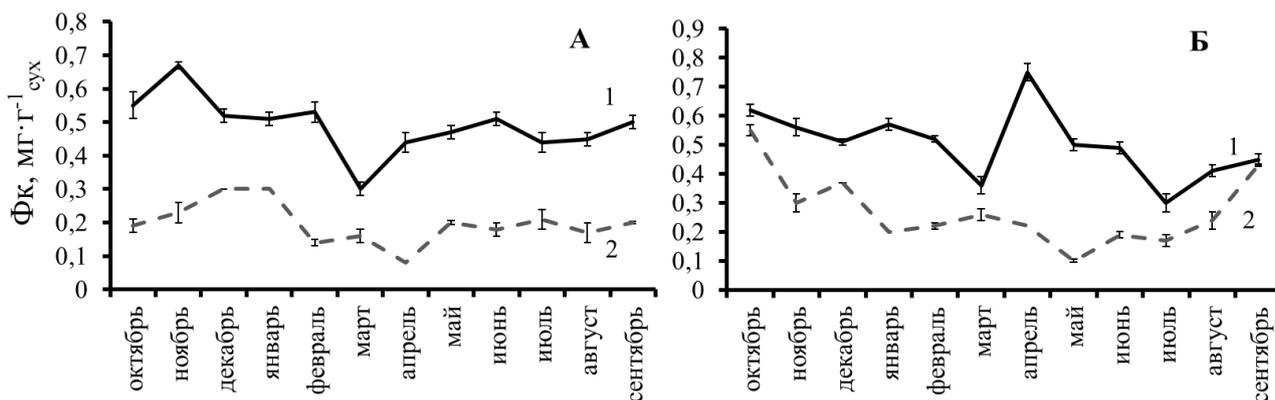
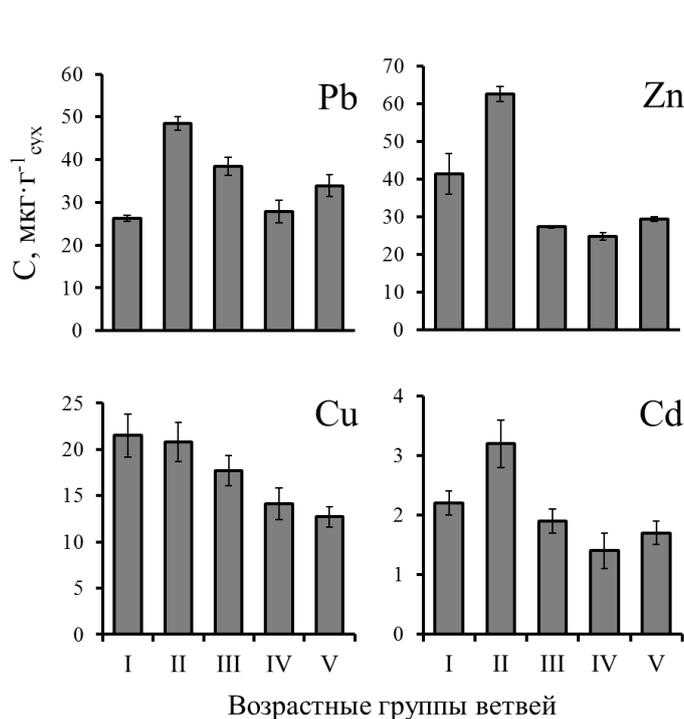


Рисунок 4 Годовая динамика концентрации Фк в стволах *C. crinita* (1) и *C. barbata* (2) в акватории Фороса (А) и Карантинной бухты (Б)

В талломах *C. crinita* минимальное содержание пигмента отмечено в марте, второй минимум концентрации обнаружен в июле. Для *C. barbata* минимальное содержание пигмента в Карантинной бухте найдено в мае, а в акватории Фороса – в апреле. Наибольшее количество пигмента в стволах *C. barbata* отмечено в осенне-зимний период, в Карантинной бухте – в октябре, в Форосе – в декабре. В стволах *C. crinita* максимальная концентрация Фк отмечена в акватории Фороса в ноябре, а в Карантинной бухте – в апреле.

В главе 4 Концентрация тяжёлых металлов в бурых водорослях рода *Cystoseira* из акваторий с разным уровнем антропогенной нагрузки представлены результаты исследования динамики концентрации Zn, Pb, Cu и Cd в разновозрастных ветвях *C. barbata* (рис. 5). Установлено, что содержание



тяжёлых металлов (ТМ) значительно выше в ветвях возрастом от 2 до 3 мес.

Рисунок 5 Концентрация (С) цинка, меди, свинца и кадмия в ветвях *Cystoseira barbata* первого порядка. Возрастные группы ветвей: I – < 1.9 мес., II – $2 \leq 3$ мес., III – $3 \leq 5$ мес., IV – $5 \leq 6$ мес., V – $6 >$ мес.

Максимальные концентрации цинка, свинца и кадмия в ветвях данной возрастной группы составляли $62,6 \pm 2,0$; $48,5 \pm 1,6$ и $3,2 \pm 0,4 \text{ мкг} \cdot \text{г}^{-1} \text{сух}$,

соответственно. Содержание ТМ в ветвях *C. barbata* от 3 до 6 мес. и старше остается относительно постоянным, за исключением меди, концентрация которой с возрастом ветвей снижается. Годовая динамика содержания Pb, Zn и Cu в ветвях цистозир II возрастной группы показана для обеих акваторий (рис. 6). Средние значения содержания ТМ в цистозирах можно представить в виде убывающего ряда: $Zn > Pb > Cu > Cd$.

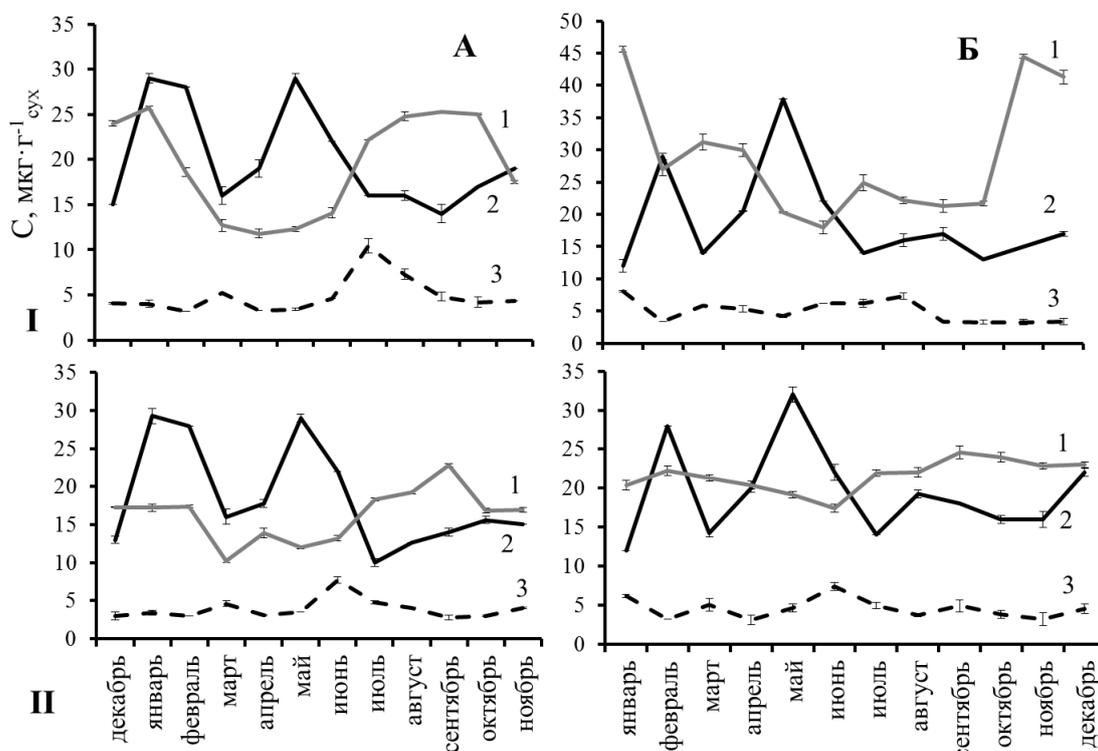


Рисунок 6 Концентрации (С) цинка (1), свинца (2) и меди (3) в 2-3-месячных ветвях *C. barbata* (I) и *C. crinita* (II), собранных в акватории Фороса (А) и Карантинной бухты (Б)

Повышенное содержание цинка отмечено в цистозирах из Карантинной бухты. Среднегодовые значения концентрации Zn для *C. barbata* из акватории Фороса и Карантинной бухты достигали $19,5 \pm 5,4$ и $29,0 \pm 9,3$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$, для *C. crinita* – $17,1 \pm 4,4$ и $21,6 \pm 2,0$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$, соответственно. Максимальная концентрация Zn в цистозирах отмечена в зимний и осенний периоды.

Высокие значения концентрации Pb в ветвях *C. barbata* получены в феврале ($28,5 \pm 0,5$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$) и мае ($33,4 \pm 4,5$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$). Для *C. crinita* максимальная концентрация свинца также зафиксирована в феврале ($28,0 \pm 0,1$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$) и мае ($30,5 \pm 1,5$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$). Среднегодовые значения концентрации Pb для *C. barbata* из Фороса и Карантинной бухты составляли $19,8 \pm 5,4$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$ и $18,9 \pm 7,6$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$. Для ветвей *C. crinita* из Фороса – $19,2 \pm 6,6$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$, из Карантинной бухты – $19,4 \pm 5,9$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{сух}}$.

Концентрация меди у обоих видов возрастает в весенне-летний период. Максимальные значения концентрации Cu в *C. barbata* из Фороса зафиксированы в июле ($10,4 \pm 0,8$ мкг·г⁻¹_{сух}), в *C. crinita* – в июне ($7,7 \pm 0,1$ мкг·г⁻¹_{сух}). Для *C. barbata* из Карантинной бухты максимальная концентрация Cu составляла $8,1 \pm 0,5$ мкг·г⁻¹_{сух}, для *C. crinita* – $7,4 \pm 0,5$ мкг·г⁻¹_{сух}. Следует отметить, что средние концентрации свинца и меди из 2 станций отбора проб имеют сходные значения.

В стволах цистозир концентрация меди и свинца в течение года изменялась незначительно (рис. 7). Максимальное содержание Cu в стволах *C. barbata*, собранных в Карантинной бухте, зафиксировано в ноябре – $5,8 \pm 0,2$ мкг·г⁻¹_{сух}, в *C. crinita* в январе – $7,3 \pm 0,3$ мкг·г⁻¹_{сух}. В акватории Фороса максимальный пик концентрации Cu обнаружен для обоих видов цистозир в декабре: в *C. barbata* – $6,4 \pm 0,4$ мкг·г⁻¹_{сух}, и в *C. crinita* – $7,8 \pm 0,3$ мкг·г⁻¹_{сух}.

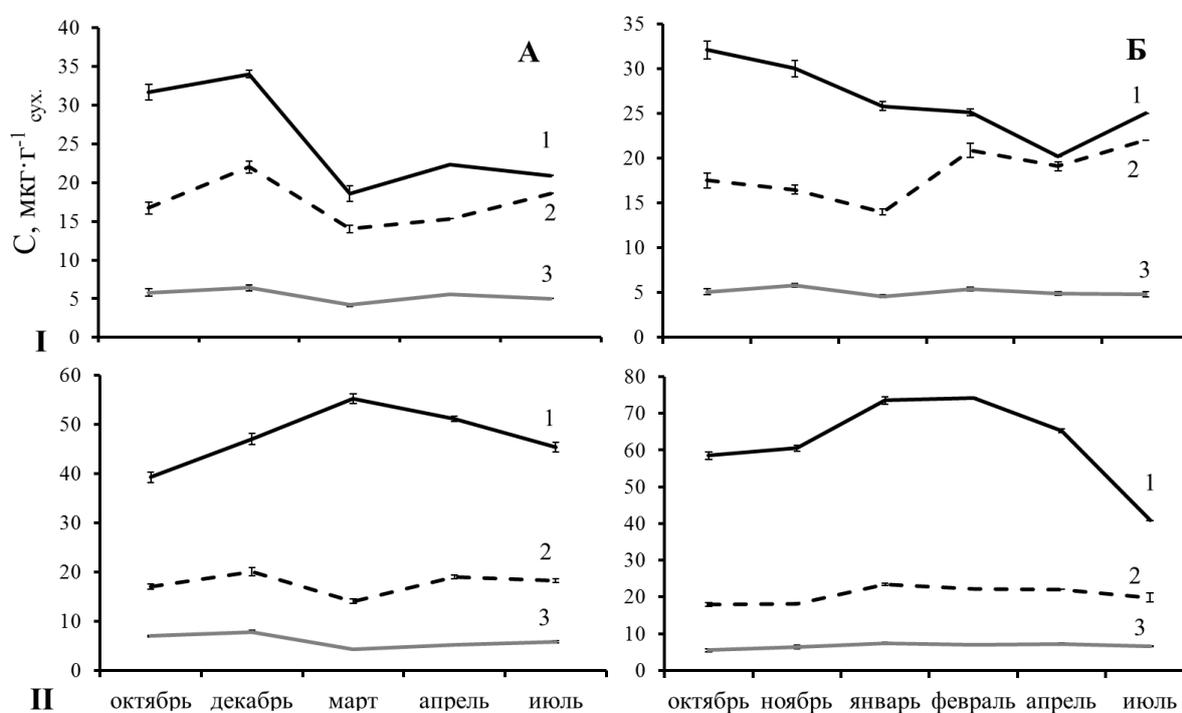


Рисунок 7 Концентрация Zn (1), Pb (2), Cu (3) в стволах *C. barbata* (I) и *C. crinita* (II) возраста 3,3-5 лет из акватории Фороса (А) и Карантинной бухты (Б)

Повышенная концентрация свинца в стволах цистозир отмечена в зимний период для обеих акваторий. В стволах *C. barbata* из Карантинной бухты максимум достигал $20,9 \pm 0,8$ мкг·г⁻¹_{сух}, у *C. crinita* – $23,5 \pm 0,3$ мкг·г⁻¹_{сух}; из Фороса для *C. barbata* – $22,0 \pm 0,8$ мкг·г⁻¹_{сух} и для *C. crinita* – $20,0 \pm 0,7$ мкг·г⁻¹_{сух}.

Среднегодовые значения концентрации цинка в стволах *C. crinita* и *C. barbata* из Карантинной бухты составляли $62,2 \pm 12,3$ мкг·г⁻¹_{сух} и $26,4 \pm 4,2$ мкг·г⁻¹_{сух}, из Фороса – $47,6 \pm 6,0$ мкг·г⁻¹_{сух} и $25,5 \pm 6,9$ мкг·г⁻¹_{сух}.

Максимальное содержание Zn в стволах *C. barbata* ($34,0 \pm 0,5$ мкг·г⁻¹_{сух}) и *C. crinita* ($55,2 \pm 1,0$ мкг·г⁻¹_{сух}) на станции у Фороса отмечено в зимний период. Из полученных данных видно, что концентрация Zn в стволах *C. crinita* в 2 раза выше, чем в *C. barbata*. Также следует отметить, что содержание Zn в *C. crinita* из акватории Карантинной бухты в 1,5 раза выше, чем из Фороса. В целом, концентрация цинка в стволах *C. crinita* превышала его содержание в 2–3 раза в ветвях. Данная зависимость для *C. barbata* не обнаружена вне зависимости от места отбора проб.

Молодые ветви *C. barbata* возрастом 2–3 мес. активно накапливают хром, марганец, никель, железо, молибден и кобальт (рис. 8), что подтверждает важную биологическую роль этих металлов для бурых водорослей. Далее в III возрастной группе концентрация элементов резко снижается, с последующим возрастанием и максимальным накоплением в ветвях IV возрастной группы. В 2–3 мес. ветвях цистозиры стронций, кремний, фосфор, фтор, бериллий, рубидий и барий содержится в высоких концентрациях. Максимальное содержание лантана также найдено во II возрастной группе.

В самых молодых ветвях (до 2 мес.) активно накапливаются алюминий, фосфор и мышьяк. Селен в больших количествах содержится в ветвях I группы, а максимальная его концентрация отмечена в старых ветвях V группы. Бром активно накапливается в ветвях IV группы. В ветвях цистозиры найдены сурьма, торий и уран в следовых количествах, максимальные концентрации которых обнаружены в ветвях III возрастной группы.

Концентрации кадмия, титана, циркония, ванадия и вольфрама достигают своего максимума также в ветвях водоросли возрастом 2–3 мес. (рис. 9). Максимальная концентрация ртути отмечена во II и III возрастной группе ветвей. Средние значения концентрации макро- и микроэлементов в ветвях *C. barbata* по степени убывания составляют следующий ряд: Al > Br > Si > Sr > P > Fe > La > F > Ba > As > Zn > Rb > Y > Mn > Ni > Cu > Bi > Pb > W > Cr > Se > Zr > V > Ti > Cd > Hg > Ga > U > Sb > Th > Ge > Be.

Анализ проб донных осадков из акваторий Фороса и Карантинной бухты показал, что концентрация меди и цинка в Карантинной бухте в два раза выше, чем в Форосе (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о повышенной антропогенной нагрузке на акваторию Карантинной бухты.

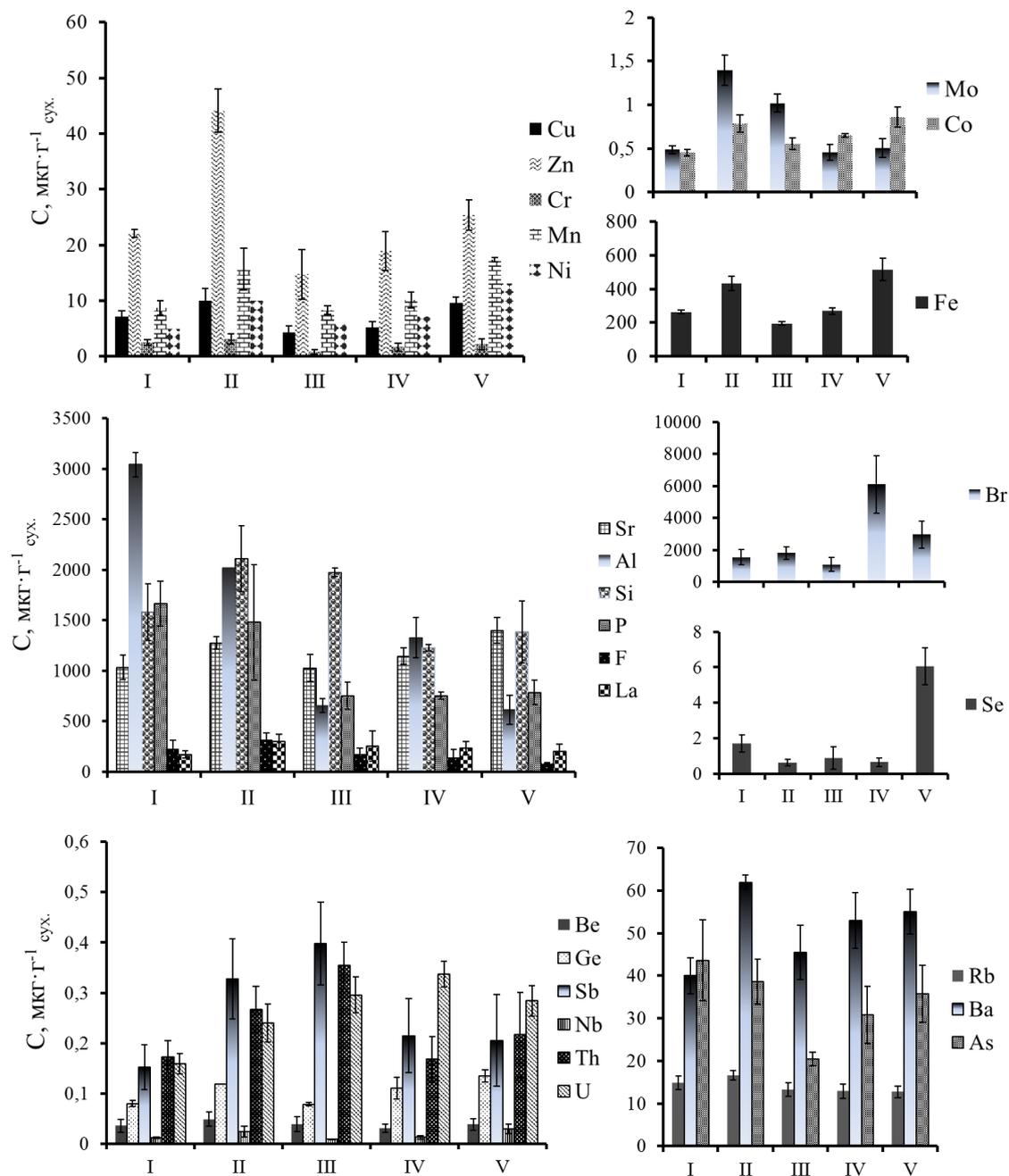


Рисунок 8 Концентрации (C) микро- и макроэлементов в ветвях *C. barbata*. Возрастные группы ветвей: I – < 1.9 мес., II – $2 \leq 3$ мес., III – $3 \leq 5$ мес., IV – $5 \leq 6$ мес., V – $6 >$ мес.

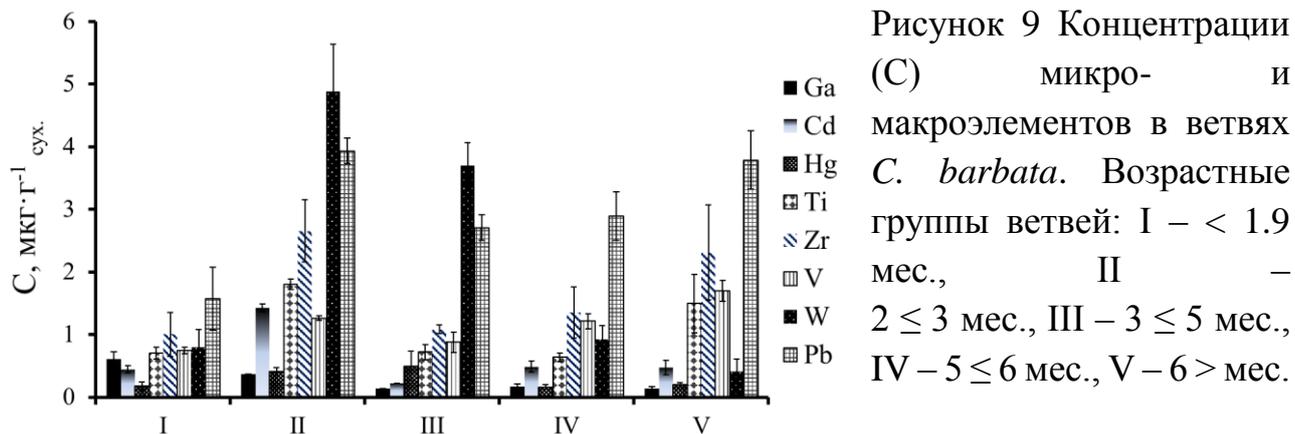


Рисунок 9 Концентрации (C) микро- и макроэлементов в ветвях *C. barbata*. Возрастные группы ветвей: I – < 1.9 мес., II – $2 \leq 3$ мес., III – $3 \leq 5$ мес., IV – $5 \leq 6$ мес., V – $6 >$ мес.

Таблица 2 Концентрация тяжёлых металлов в донных осадках

Место отбора проб	Концентрация, мкг·г ⁻¹ ± SD			
	Cu	Zn	Cd	Pb
Карантинная бухта	19,0 ± 3,0	65,0 ± 9,0	8,0 ± 2,0	27,0 ± 4,0
Акватория Фороса	9,0 ± 1,5	37,0 ± 5,5	8,0 ± 2,0	25,0 ± 3,5

В главе 5 Антропогенное влияние на содержание фукоксантина в бурых водорослях рода *Cystoseira* показаны отличия в содержании Фк у растений, произрастающих в местах с различным уровнем техногенной нагрузки на акватории. Рассмотрена взаимосвязь содержания Фк, цинка и свинца в макрофитах. Установлено, что для обоих видов цистозир минимальная концентрация Фк соответствует максимальным концентрациям свинца независимо от места отбора проб (рис. 10).

Для обоих регионов характерно наличие пиковых концентраций Pb в период с марта по май, что свидетельствует о сезонном характере загрязнения акваторий, когда основная часть загрязняющих веществ попадает в акваторию моря с ливневыми и талыми водами. Средние значения концентрации Pb в цистозирах из Карантинной бухты немного выше, чем для акватории Фороса.

При снижении содержания свинца в цистозире наблюдается рост концентрации пигмента. Возможно, что доступность для водорослей Pb прямо или косвенно влияет на изменение концентрации Фк. Установлено, что содержание Фк у *C. barbata* из Карантинной бухты выше, чем у *C. crinita*. Следовательно, можно предположить, что у *C. barbata* Фк включён в систему биорегуляции уровня Pb более интенсивно, чем у *C. crinita*.

Динамика концентрации цинка формирует устойчивый тренд, отображающий чёткую сезонную изменчивость (рис. 11).

Для водорослей из обеих локаций характерно наличие минимума концентраций цинка в весенний период. Подобное изменение концентрации Zn в зависимости от сезона года совпадает с периодом активного роста водорослей. В целом, концентрация Zn в цистозирах из Карантинной бухты в среднем на 5–7 мкг·г⁻¹_{сух} выше, чем для макрофитов из акватории Фороса. Для обеих акваторий концентрация цинка выше у *C. barbata*, чем у *C. crinita*. Направленность сезонных изменений содержания цинка и Фк у двух видов цистозир имеет сходный и синхронный характер. А с учётом того, что Фк и Zn являются компонентами фотосинтетической и антиоксидантной систем водорослей, можно сделать вывод об их внутренней взаимосвязи за счёт включения в общий метаболический процесс.

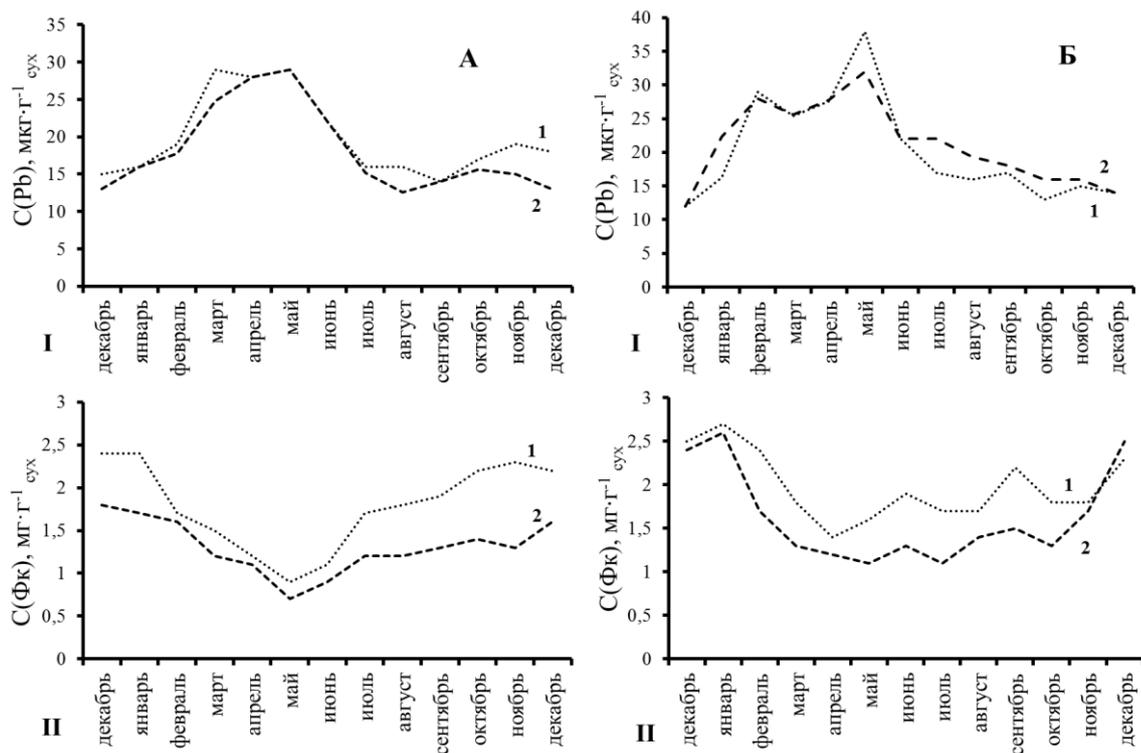


Рисунок 10 Нормализованные показатели концентрации свинца (I) и фукоксантина (II) в *C. barbata* (1) и *C. crinita* (2) из акватории Фороса (А) и Карантинной бухты (Б)

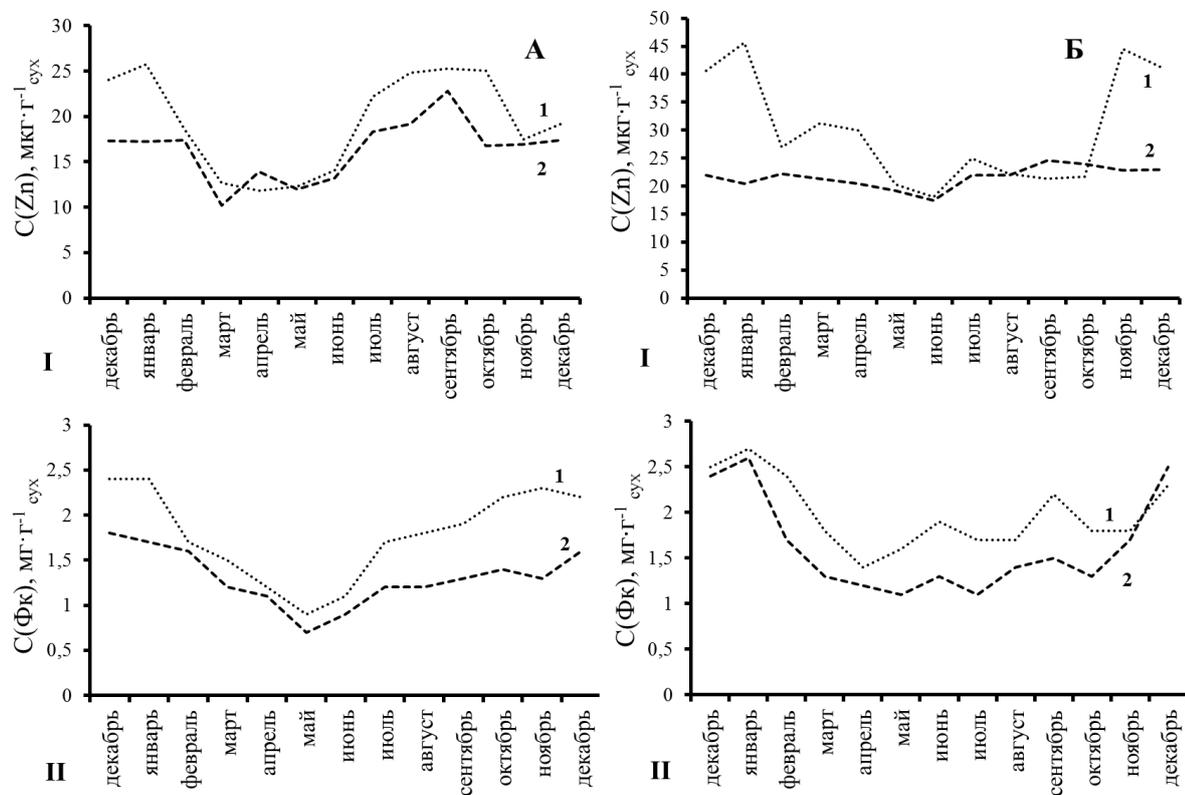


Рисунок 11 Концентрации цинка (I) и фукоксантина (II) в *C. barbata* (1) и *C. crinita* (2) из акватории Фороса (А) и Карантинной бухты (Б)

Полученные данные подтверждают первоначальное предположение, что выбранные для исследования два участка крымского побережья Чёрного моря имеют разные уровни загрязнённости морской среды: условно чистая акватория (Форос, южный берег Крыма) и более загрязнённая Карантинная бухта в г. Севастополе. Известно, что содержание некоторых тяжёлых металлов в грунтах может характеризовать уровень антропогенной нагрузки на прибрежные морские акватории. В акватории города попадают тяжёлые металлы из-за большого количества портовых зон и ремонтно-технических баз, обслуживающих гражданский и военный флот. Основным источником свинца в данной акватории служит материал антикоррозийной обработки корабельных корпусов – свинцовый сурик. В донных отложениях Карантинной бухты концентрации цинка и меди в два раза выше, чем в Форосе. Также концентрация Zn, Cu и, в меньшей степени, Pb в водорослях из Карантинной бухты выше, чем у макрофитов из акватории Фороса. Кроме этого, два района характеризуются разной трофностью вод: в Карантинной бухте значения индекса эвтрофикации E-TRIX (Vollenveider et al., 1998) изменялись от 2,42 до 4,18, а в относительно чистой воде индекс значительно ниже 4,0. Такое значение индекса эвтрофикации позволяет рассматривать воды крымского побережья Чёрного моря вне бухт, как имеющие низкий трофический уровень. Данный факт также подтверждает экологический статус мест отбора проб по уровню антропогенной нагрузки.

В главе 6 Биологически активные вещества бурых водорослей рода *Cystoseira* определена сопряжённость концентрации общих липидов, метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) и Фк в разновозрастных ветвях *C. barbata*. Концентрации липидов и Фк в цистозире в весенне-летний период имеют довольно низкие значения. Максимальная концентрация липидов и Фк отмечена в ветвях III возрастной группы (рис. 12).

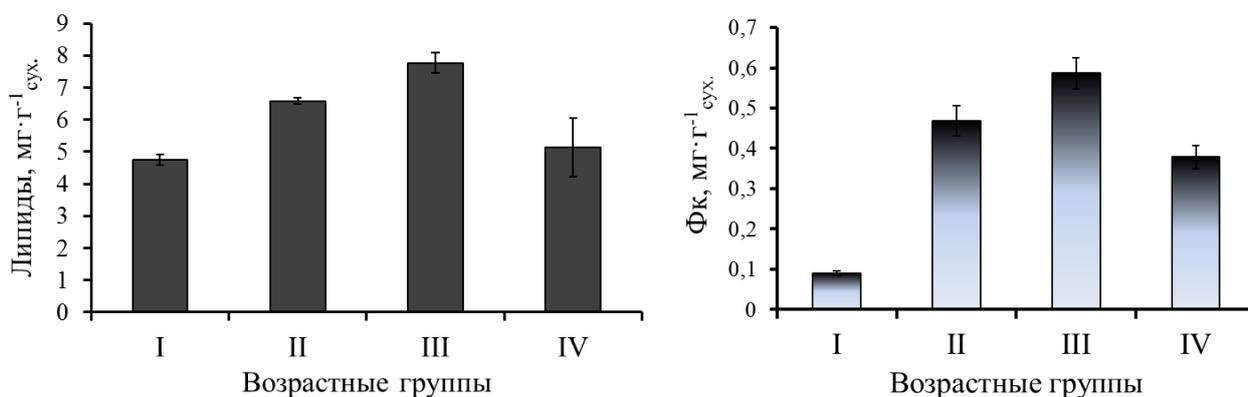


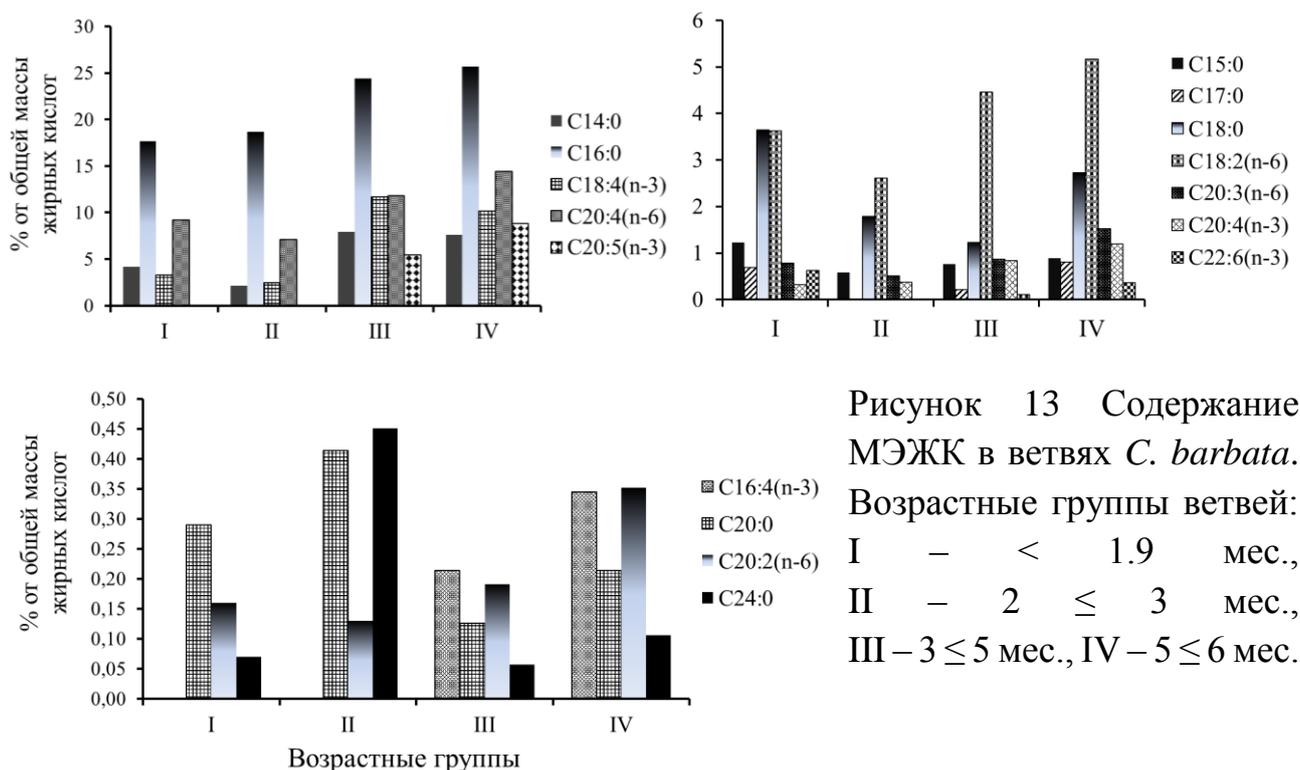
Рисунок 12 Концентрации липидов и фукоксантина в *C. barbata*. Возрастные группы ветвей: I – < 1.9 мес., II – 2 ≤ 3 мес., III – 3 ≤ 5 мес., IV – 5 ≤ 6 мес.

В ветвях *C. barbata* отмечено высокое процентное содержание С14:0, С16:0, С18:0, С18:1(n-9), С18:2(n-6), С18:4(n-3), С20:4(n-6), С20:5(n-3), как и в других бурых водорослях (Kumari, 2010). Содержание полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) составило 32%, из них преобладающими являются линолевая, стеариноновая, арахидононовая и эйкозапентаеновая кислоты (табл. 3). В отличие от многих других видов бурых водорослей, в ветвях цистозир в небольших количествах содержится докозагексаеновая кислота С22:6(n-3) (0,4%). *C. barbata* из Чёрного моря является ценным источником n-3 жирных кислот (ЖК), особенно арахидононовой и эйкозапентаеновой, и имеет наиболее приемлемое для здоровья человека соотношение n-3/n-6 жирных кислот – 1,0.

Таблица 3 Состав жирных кислот липидной фракции в ветвях *C. barbata*

Жирные кислоты	% от общей массы МЭЖК	Жирные кислоты	% от общей массы МЭЖК
С14:0	5,46 ± 1,80	С20:2(n-6)	0,20 ± 0,07
С15:0	0,87 ± 0,17	С20:3(n-6)	0,92 ± 0,10
С16:0	21,61 ± 2,00	С20:4(n-3)	0,68 ± 0,09
С16:1(n-7)	2,59	С20:4(n-6)	10,63 ± 1,20
С16:4(n-3)	0,28 ± 0,07	С20:5(n-3)	7,11 ± 1,40
С17:0	0,57 ± 0,10	С22:6(n-3)	0,37 ± 0,20
С18:0	2,35±0,70	С24:0	0,45
С18:1(n-9)	12,40	∑ _{ПНЖК}	31,40 ± 1,50
С18:2(n-6)	3,97 ± 0,90	∑ _{НЖК}	31,25 ± 1,50
С18:3(n-6)	0,31	∑ _{МНЖК}	15
С18:4(n-3)	6,90 ± 1,70	n-3/n-6	1,0
С20:0	0,26 ± 0,07	∑ _{n9-ЖК}	12,40 %

В цистозирах наиболее распространенной среди ПНЖК является арахидононовая кислота (АК) (С20:4(n-6)). В ветвях *C. barbata* количество АК изменяется от 7 до 14 % в зависимости от возрастной группы (рис. 13). При анализе содержания МЭЖК в ветвях цистозир разных возрастных групп выявлены следующие тенденции: количество большинства кислот, и среди них доминантных – С14:0 (миристиновая), С16:0 (пальмитиновая), С16:4(n-3), С18:2(n-6), С18:4(n-3) (стеариноновая), С20:2(n-6), С20:3(n-6) (дигомо-гамма-линолевая), С20:4(n-3), С20:4(n-6) (арахидононовая) и С20:5(n-3), максимально в III и IV возрастных группах.



C20:0 (арахиновая) и C24:0 (лигноцереновая) кислоты в наибольшем количестве накапливаются в ветвях возрастом 2 - 3 мес. В отдельную группу можно выделить МЭЖК с максимальной концентрацией в I и IV возрастной группе ветвей: C15:0 (пентадекановая), C17:0 (маргариновая), C18:0 (стеариновая), C22:6(n-3) (докозагексаеновая). Отметим, что среди этих кислот большинство составляют насыщенные ЖК. Все ПНЖК, за исключением докозагексаеновой кислоты, в максимальных количествах накапливаются в ветвях старше 3 мес. Аналогично содержанию Фк и липидов, в III возрастной группе отмечена высокая концентрация большинства МЭЖК. Сравнительный анализ общего количества ПНЖК и НЖК, n-3 и n-6 кислот показал, что максимальное содержание кислот обнаружено в старых ветвях IV группы (5 ≤ 6 мес.) (табл. 4).

Таблица 4 Группы МЭЖК в разновозрастных ветвях *C. barbata*

Группы МЭЖК	% от общей массы МЭЖК			
	Возраст ветвей, месяцы			
	0 ≤ 1,9	2 ≤ 3	3 ≤ 5	5 ≤ 6
ПНЖК	18,39	13,20	35,64	42,35
НЖК	28,06	24,03	34,89	38,00
n-3	4,25	2,84	18,27	20,84
n-6	14,06	10,36	17,35	21,51
n-3/n-6	0,3	0,27	1,05	0,97

Оптимальное соотношение n-3/n-6 кислот, близкое к 1, находится в III и IV возрастных группах ветвей. Показано, что бурые водоросли рода *Cystoseira* содержат достаточное количество Фк для его выделения. Согласно нашему патенту (Пат. 2658705), для получения лечебно-профилактического продукта можно использовать как свежесобранные макрофиты, так и водоросли после штормовых выбросов, содержащих достаточно высокую концентрацию пигмента при определенных условиях сбора. Также для этих целей можно использовать ветви цистозеры возрастом 2-3 месяца, где концентрация пигмента в 1,5-2 раза выше, чем в других частях растения, однако этот процесс достаточно трудоемкий. В результате разработанной нами технологии получен препарат с содержанием Фк до 5%, обогащенный хлорофиллами, полифенольными соединениями, макро- и микроэлементами, в том числе и йодом.

Заключение. В диссертационной работе установлен ряд новых закономерностей при изучении содержания фукоксантина в бурых водорослях *Cystoseira barbata* и *C. crinita*, обитающих в различных экологических условиях. Показано, что содержание Фк варьирует в зависимости от сезона года и является видоспецифичным. Установлено, что независимо от места отбора проб содержание Фк в ветвях *C. barbata* выше, чем в *C. crinita*. Вероятно, это связано с тем, что *C. barbata* обитает в относительно закрытых участках моря и бухтах. Концентрация Фк в ветвях цистозир из относительно загрязненной бухты выше, чем концентрация пигмента в макрофитах, обитающих в открытой части моря. У водорослей рода *Cystoseira* содержание пигмента в стволах значительно ниже, чем в ветвях, а максимальная концентрация Фк обнаружена в ветвях возрастной группы от 2 до 3 мес. Бурые водоросли является хорошим биоиндикатором загрязнения прибрежных вод тяжелыми металлами и др. элементами. Использование для этих целей морфологических структур цистозеры – ветвей, имеющих небольшой жизненный цикл (7 мес.), дают возможность проводить мониторинг загрязнения акваторий за относительно кратковременные промежутки времени. Дальнейшие исследования содержания макро- и микроэлементов в организмах-биоиндикаторах, а также в воде и грунте позволят охарактеризовать степень загрязнения морской среды различными элементами антропогенного происхождения. При использовании цистозир в качестве сырья для практического применения необходимо учитывать возрастные особенности морфоструктурных элементов талломов макрофитов, сезонные изменения содержания фукоксантина, а также места отбора проб водорослей. Новые данные о содержании фукоксантина и полиненасыщенных жирных кислот в макрофитах рода *Cystoseira* показывают возможность использования этих бурых водорослей как источник получения биологически активных веществ.

ВЫВОДЫ

1. Годовая динамика содержания фукоксантина у бурых водорослей рода *Cystoseira* имеет хорошо выраженные периоды максимума и минимума. Пик концентрации фукоксантина приходится на осенне-зимний сезон. Минимальные значения пигмента отмечены в весенне-летний период при максимальной температуре и освещённости воды.

2. Установлено, что содержание фукоксантина в ветвях *C. barbata* достоверно выше, чем в ветвях *C. crinita*. Максимальная концентрация фукоксантина обнаружена в ветвях цистозир возрастной группы от 2 до 3 мес.

3. Впервые изучена годовая динамика синхронного изменения содержания фукоксантина, цинка и свинца в ветвях цистозир в акваториях Чёрного моря с разной антропогенной нагрузкой. Более высокое содержание фукоксантина и цинка отмечено в водорослях из эвтрофированной Карантинной бухты, по сравнению с менее загрязнённой акваторией Фороса. Минимальная концентрация фукоксантина соответствует максимальным концентрациям свинца независимо от места отбора проб водорослей.

4. Выявлено, что средние концентрации макро- и микроэлементов в ветвях *C. barbata* по степени убывания составляют следующий ряд: Al > Br > Si > Sr > P > Fe > La > F > Ba > As > Zn > Rb > Y > Mn > Ni > Cu > Bi > Pb > W > Cr > Se > Zr > V > Ti > Cd > Hg > Ga > U > Sb > Th > Ge > Be. Максимальные концентрации большинства элементов обнаружены в ветвях макрофитов возрастом 2–3 мес.

5. Для целей биомониторинга загрязнения окружающей среды макро- и микроэлементами, включая тяжёлые металлы, предпочтительнее использовать молодые ветви цистозир возрастом 2–3 мес., чем другие морфоструктурные элементы макрофита.

6. Максимальные концентрации липидов и фукоксантина обнаружены в ветвях *C. barbata* возрастом 3–5 мес. в весенне-летний период. В водоросли отмечены высокие концентрации C14:0, C16:0, C18:0, C18:1(n-9), C18:2(n-6), C18:4(n-3), C20:4(n-6), C20:5(n-3) с максимумом в ветвях старше 3-х месяцев. Доля наиболее ценных n-3 жирных кислот составляла в среднем 15,3 % от общего количества МЭЖК. Показано, что *C. barbata* имеет оптимальное для здоровья человека соотношение n-3/n-6 ПНЖК, равное 1,0.

7. Разработана новая технология получения лечебно-профилактического продукта из бурых водорослей рода *Cystoseira*, содержащего до 5% фукоксантина. Для этих целей можно использовать как свежесобранные макрофиты, так и водоросли из штормовых выбросов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. **Гуреева Е.В.** Содержание фукоксантина, меди и цинка в бурых водорослях Черного моря / Е.В. Гуреева // Вода: Химия и экология. - 2017. - № 11–12. - С. 36–41.
2. Ryabushko V.I. Fucoxanthin and heavy metals in brown algae of genus *Cystoseira* C. Agardh from water areas with different anthropogenic influences (Black Sea) / V.I. Ryabushko, A.V. Prazukin, **E.V. Gureeva**, N.I. Bobko, N.G. Kovrigina, M.V. Nekhoroshev // Морской биол. журнал. - 2017. - Т.2, №2. - С. 70–79. Doi: 10.21072/mbj.2017.02.2.07
3. Chesalin M.V. Fucoxanthin content and chemical composition in brown seaweed, *Nizamuddinina zanardinii* (Phaeophyta) collected from Mirbat, Southern Oman (The Arabian Sea) / M.V. Chesalin, S. Al-Ghassani, V.I. Ryabushko, N.I. Bobko, **E.V. Gureeva**, M.V. Nekhoroshev // International Journal on Algae. - 2017. - Vol. 19, № 3. - P. 259–270. Doi: 10.15407/alg27.03.246 (**Scopus**)
4. Ryabushko V.I. Functional role of fucoxanthin and phytohormones in brown algae / V.I. Ryabushko, L.I. Musatenko, L.V. Voytenko, **E.V. Popova**, M.V. Nekhoroshev // International Journal on Algae. - 2015. - Vol. 17, № 1. - P. 68–81. Doi: 10.15407/alg24.01.020 (**Scopus**)
5. Ryabushko V.I. Fucoxanthin of the brown alga *Cystoseira barbata* (Stackh.) C. Agardh from the Black Sea / V.I. Ryabushko, A.V. Prazukin, **E.V. Popova**, M.V. Nekhoroshev // Journal of the Black Sea / Mediterranean Environment. - 2014. - Vol. 20, № 2. - P. 108–113. Doi: 10.21072/mbj.2017.02.2.07
6. Патент 2658705 RU, МПК А23L 17/60 Способ получения профилактического продукта из черноморских водорослей рода *Cystoseira* (варианты) / Нехорошев М.В., (RU), Рябушко В.И. (RU), **Гуреева Е.В.** (RU); заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН». № 2016140006; заявл. 11.10.2016, опубл. 22.06.2018. Бюл. №18.
7. Патент 86671 U UA, МПК С12Р 23/00 Спосіб одержання лікувально-профілактичного продукту з фукоксантином / Єремєєв В.М. (UA), Рябушко В.І. (UA), **Попова О.В.** (UA), Мусатенко Л.І. (UA), Войтенко Л.В. (UA), Поспелова Н.В. (UA), Нехорошев М.В. (UA); заявники Інститут біології південних морів ім. О.О. Ковалевського НАН України (UA), Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (UA). u 201307660; заявл. 17.06.2013; опубл. 10.01.2014. Бюл. №1.

Публикации в других изданиях

8. Мусатенко Л.И. Возможность использования биологически активных пигментов из морских микро- и макроводорослей в онкологии / Л.И. Мусатенко, Л.В. Войтенко, М.В. Нехорошев, В.И. Рябушко, **Е.В. Попова**, Р.Г. Геворгиз, В.Б. Вайзер // Российский биотерапевтический журн. - 2013. - Т. 12, №2. - С. 58.
9. **Попова Е.В.** Фукоксантин из бурых водорослей рода *Cystoseira* C. Agardh / **Е.В. Попова**, В.И. Рябушко, М.В. Нехорошев // VIII междунар. науч.-практич. конф. молодых учёных «Понт Эвксинский 2013» по проблемам водных экосистем, посвящённая 50-летию образования ИнБЮМ НАН Украины, 1–4 окт. 2013 г.: тезисы докл. Севастополь: НЦП ЭКОСИ-Гидрофизика. - 2013. - С. 110–111.
10. **Попова Е.В.** Содержание фукоксантина и тяжёлых металлов в разновозрастных ветвях черноморских бурых водорослях рода *Cystoseira* C. Agardh / **Е.В. Попова**, В.И. Рябушко, Н.И. Бобко, М.В. Нехорошев // Материалы молодёжной науч.-практич. конференции «Экологические проблемы Азово-Черноморского региона и комплексное управление прибрежной зоной», 29 сентября – 5 октября 2014 г. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. - 2014. - С. 137–139.
11. Нехорошев М.В. Фукоксантин и тяжёлые металлы в ветвях черноморской бурой водоросли *Cystoseira barbata* / М.В. Нехорошев, **Е.В. Попова**, Л.И. Мусатенко, Л.В. Войтенко, В.П. Краснов // Материалы II международной науч.-практич. конференции «Народы Черноморско-Каспийского региона: проблемы и пути их решения», 22 февраля 2014 г. Ростов-на-Дону: ЦНИЛ РостГМУ. - 2014. - С. 178–182.
12. Апрышко Г.Н. Прогнозирование биологической активности фукоксантина, выделенного из черноморских водорослей рода *Cystoseira* / Г.Н. Апрышко, Р.Б. Пугачева, **Е.В. Попова**, М.В. Нехорошев // XXI российский национальный конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов конгресса (тезисы докладов). - Москва, 2014. - С. 197.