



Некоторые физико-химические характеристики мареннин-подобного пигмента, синтезируемого морской диатомовой водорослью *Haslea karadagensis* (Bacillariophyta)

Н.А. Давидович* , Е.С. Кириенко 

Каратагская научная станция имени Т.И. Вяземского – природный заповедник Российской академии наук,
филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра
«Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»;
Россия, 298188, Республика Крым, г. Феодосия, Курортное, ул. Науки, д. 24
*e-mail: nickolaid@yandex.ru

Мареннин и мареннин-подобные пигменты, продуцируемые некоторыми представителями диатомовых водорослей рода *Haslea*, представляют собой уникальные водорастворимые соединения, обладающие рядом ценных свойств. Химическая структура пигментов этой группы до сих пор не раскрыта. Данные о физико-химических характеристиках мареннина получены преимущественно для одного вида – *H. ostrearia*. За последние полтора десятилетия описаны четыре новых мареннин-продуцирующих вида, что открывает перспективу изучения биоразнообразия рода *Haslea* и соответственно разнообразия мареннинов. Мареннин-продуцирующие представители диатомовых рода *Haslea* накапливают пигмент в апикальных концах клеток, а также выделяют его во внешнюю среду, благодаря чему она приобретает зеленовато-синий цвет. Роль мареннина в функционировании клеток диатомовых неизвестна, но можно допустить, что пигмент, не участвующий в фотосинтезе и поглощающий свет преимущественно в ультрафиолетовой, фиолетовой и красной областях, является фотопротектором. Химический состав и спектральные характеристики мареннинов, продуцируемых разными видами *Haslea*, слегка различаются. В то время как у некоторых видов, особенно у *H. ostrearia*, физико-химические свойства мареннина описаны достаточно обстоятельно, пигмент *H. karadagensis* – эндемика Черного моря – остается практически неисследованным. В работе представлены в сравнении характерные для заданных условий спектрофотометрические и физико-химические показатели мареннинов *H. karadagensis* и *H. ostrearia*. Определены значения кажущихся констант диссоциации и изобестических точек для мареннинов обеих диатомей.

Ключевые слова: диатомовые, *Haslea karadagensis*, мареннин, пигмент, спектрофотометрия, изобестические точки, кажущиеся константы диссоциации

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-4-2

Введение

Диатомовая водоросль *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget относится к мареннин-продуцирующим видам рода *Haslea* Simonsen. Эта водоросль является эндемиком Черного моря, впервые была обнаружена у берегов Каратага, благодаря чему и получила свое название [1]. Близкородственный вид *Haslea ostrearia* (Gaillon) Simonsen – космополит, встречается во многих морях Мирового океана, отмечен также в прибрежной части Черного моря [2].

Мареннин существует в двух формах – внутриклеточной и внеклеточной. Внутриклеточный

мареннин накапливается в апикальных областях клеток, внеклеточный мареннин прижизненно выделяется клетками во внешнюю среду. Две формы мареннина имеют разные молекулярные массы и спектральные характеристики [3]. Обе формы очищенного мареннина у *H. karadagensis* и *H. ostrearia* проявляли антиоксидантную, противовирусную и противогрибковую активность [4–6]. У водных неочищенных экстрактов мареннина *H. ostrearia* наблюдалась антипролиферативная, противоопухолевая и антикоагулянтная активность [7, 8]. Обе формы мареннина *H. ostrearia* ингибируют рост и развитие патогенных бактерий,

поражающих устриц [5, 9]. Эксперименты по окрашиванию моллюсков-фильтраторов с использованием мареннинов *H. karadagensis* и *H. ostrearia* показали, что благодаря мареннину тело моллюсков приобретает зеленоватый цвет [6, 10] – свойство, издавна используемое в аквакультуре устриц.

Было предложено несколько иногда противоречивых гипотез, касающихся химической природы пигмента и хромофоров, определяющих его сине-зеленый цвет. В структуре мареннина *H. ostrearia* обнаружены моносахариды, такие как: галактоза, ксилоза, манноза, рамноза и фукоза [11]. Также установлено, что этот пигмент содержит в своей структуре 1,3-β-глюкан [12]. Роберт и Халлет [13], основываясь на микроспектрофотометрическом анализе *in vivo*, сообщили, что пигмент очень похож на с-фикоцианин, в то время как Бокат [14] предположил, что мареннин является хромопротеином, совершенно отличным от фикоцианина. Рэнсон [15] считал, что простетическая группа пигмента может быть каротиноидом. По мнению Бахраха [16], Моро [17] и Женев с соавт. [18] синий пигмент был продуктом распада хлорофилла, чему противоречат наблюдения Тремблина и Робера [19], которые не обнаружили никаких изменений в количестве хлорофилла в связи с производством мареннина. Нейвилль и Дагг [20] связали мареннин с антоцианами. Хардуэн и др. [21] описали мареннин как смесь нескольких макромолекул. Фенольную природу хромофора мареннина предположили Пувро с соавт. [3]. По мнению Франсесон и др. [22] цвет пигмента обусловлен наличием системы хинонов и фенильных колец. Наконец, данные исследований Зебири и др. [11], основанные на изучении спектров ядерного магнитного резонанса, свидетельствуют о том, что мареннин – это гетерополисахарид с высокой степенью ветвления, при этом не было обнаружено никаких конкретных признаков потенциального хромофора.

Мареннин не выполняет светособирающей функции и, скорее всего, является фотопротектором, экранирующим избыток света [23]. Он характеризуется наличием относительно широких полос поглощения в УФ-видимом диапазоне, а также в красной области [3, 15]. Давно было замечено, что спектральные характеристики мареннина в зависимости от pH изменяют свой цвет от фиолетового и синего в кислой среде до желто-зеленого в щелочной [10, 22]. Соответственно изменяются спектры поглощения пигментов, и для них можно определить изобестические точки [3]. Положение изобестических точек является важной характеристикой пигмента. Для хорошо изученной *H. ostrearia* установлены характерные изобестические точки для внутри- и внеклеточной форм пигмента, для *H. karadagensis* такие данные отсутствуют.

Еще одной важной характеристикой мареннинов служит кажущаяся константа диссоциа-

ции, значение которой можно найти по спектрам поглощения, полученным для разных значений pH. Так же, как и в случае с изобестическими точками, значения кажущихся констант диссоциации были установлены только для мареннина *H. ostrearia* [3].

Цель нашей работы состояла в том, чтобы определить значения ранее неизученных физико-химических характеристик мареннина *H. karadagensis*, что позволит оценить разнообразие мареннинов и ближе подойти к раскрытию природы этого уникального пигмента.

Материалы и методы

Определение физико-химических свойств было проведено на нативном внеклеточном мареннине, накапливаемом в клонных культурах *H. karadagensis* и *H. ostrearia*, находившихся в экспоненциальной фазе роста. Штаммы *H. karadagensis* были выделены из бентосных проб, отобранных в прибрежной части Карадагского природного заповедника в ноябре 2022 г., и содержались в специально оборудованном помещении с постоянной температурой $20 \pm 2^\circ\text{C}$ при естественном рассеянном освещении. Клонные культуры *H. ostrearia*, являющиеся потомками клонов, выделенных с атлантического побережья Франции, были взяты из Коллекции диатомовых водорослей Мирового океана (Карадагская научная станция, Институт биологии Южных морей РАН, <https://ibss-ras.ru/about-ibss/structure-ibss/tsentry-kollektivnogo-polzovaniya/collection-of-diatoms-of-world-ocean/>). Альгологически чистые культуры содержали в колбах Эрленмейера объемом 50 мл в модифицированной среде ESAW [24] с уровнями солености 20‰ для черноморской *H. karadagensis* и 36‰ для океанической *H. ostrearia*. Продолжительность культивирования *H. karadagensis* и *H. ostrearia*, достаточная для получения необходимой для исследования концентрации внеклеточного мареннина, составляла 10 сут, в течение которых культуры находились в экспоненциальной фазе роста. В этой фазе накопление внеклеточного пигмента в среде происходит за счет прижизненного выделения клетками. Внутриклеточный мареннин остается внутри клеток. Влияние компонентов среды, которые могли бы изменить спектры поглощения пигментов, не учитывалось.

Отметим, что мареннином принято называть пигмент, синтезируемый *H. ostrearia*, в то время как пигменты у других видов *Haslea* считают мареннин-подобными ввиду наблюдающихся небольших различий [25]. В дальнейшем изложении мы будем использовать обобщающий термин «мареннин».

Для спектрального анализа взятые из культур клонов *H. karadagensis* и *H. ostrearia* среды профильтровывали через бумажные плотные, узкопористые фильтры медленной фильтрации (Filtrak,

ГДР). Растворы помещали в стеклянные кюветы с длиной оптического пути 50 мм. Регистрацию спектров в диапазоне длин волн от 400 до 900 нм производили, используя спектрофотометр ПромЭкоЛаб ПЭ-5400УФ (Shanghai Mapada Instruments Co, Ltd., Китай) и прилагаемое к нему программное обеспечение Scan54. Выполнено шесть серий экспериментов для *H. karadagensis* и четыре серии для *H. ostrearia*.

Используемая нами искусственная морская вода (модифицированная среда ESAW), обладающая буферными свойствами, имела pH = 8,25. Для получения спектров поглощения при разных значениях pH исходный раствор внеклеточного мареннина подкисляли концентрированной соляной кислотой. Значения pH измеряли с помощью pH-метра pH-150МИ (ООО НПО «Измерительная техника ИТ», Россия). Температура в процессе измерений не изменялась и составляла 20°C.

Результаты

На основании полученных спектров поглощения для внеклеточной формы мареннинов *H. karadagensis* и *H. ostrearia* установлено положение изобестических точек и диапазоны длин волн, в которых изменялось положение максимумов поглощения при изменении pH. Для каждой серии экспериментов для 7–11 длин волн построены графики зависимости поглощения света от уровня pH. Аппроксимация выполнена полиномом четвертой степени. Графическим методом [26] определены значения кажущейся константы диссоциации. Рассчитаны средние значения константы диссоциации для каждой серии и общие средние.

В диапазоне длин волн от 400 до 900 нм раствор внеклеточного мареннина *H. karadagensis* и *H. ostrearia* имел один максимум поглощения, положение которого изменялось при различных показателях pH (рис. 1 А, Б). В нативном состоянии (pH среды 8,25) максимум поглощения пигмента соответствовал длине волны 663–665 нм у обоих видов. При подкислении раствора (вплоть до pH = 4,8–5,0) положение максимума не изменялось. Дальнейшее подкисление приводило к резкому переходу максимума в синюю область (гипсохромный сдвиг) и при значениях pH меньше 2,5–3,0 его положение (562–567 нм) опять становилось практически неизменным (рис. 1 В, Г).

По спектрам поглощения, полученным для разных значений pH, можно определить две изобестические точки. Для внеклеточного мареннина *H. karadagensis* (рис. 1 А) одна изобестическая точка находилась вблизи 614 нм, другая вблизи 507 нм. Для внеклеточной формы пигмента *H. ostrearia* (рис. 1 Б) одна изобестическая точка располагалась в области 612 нм, другая в области 516 нм. Для обоих видов следует отметить относительно широкий диапазон разброса точек пересечения спектров, составлявший порядка 20 нм.

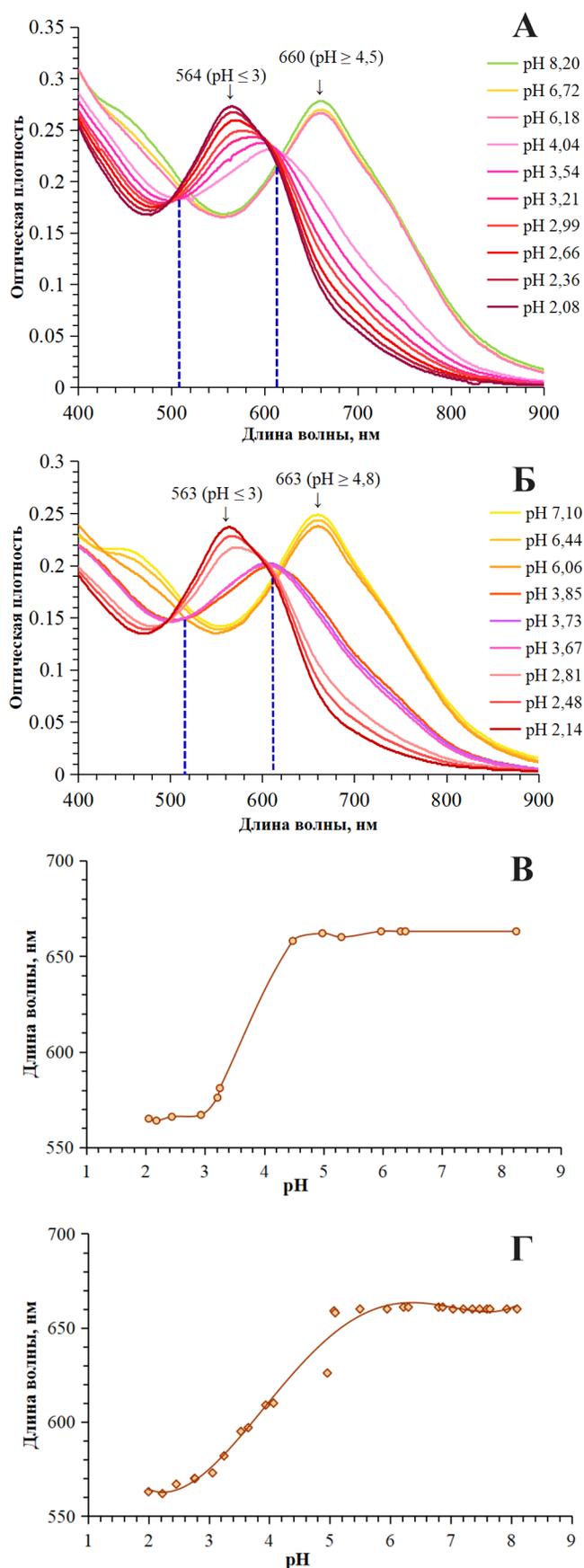


Рис. 1. Спектры поглощения внеклеточного мареннина *Haslea karadagensis* (А) и *H. ostrearia* (Б) и положение максимумов абсорбции у *H. karadagensis* (В) и *H. ostrearia* (Г) при разных значениях pH. Штриховыми линиями показано расположение изобестических точек

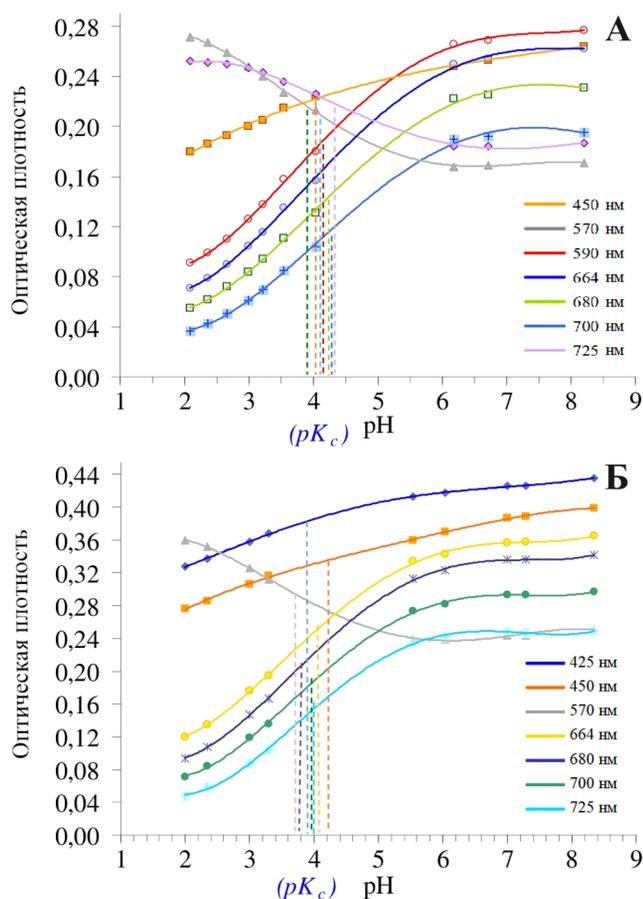


Рис. 2. Изменение поглощения раствора внеклеточного мареннина *Haslea karadagensis* (А) и *H. ostrearia* (Б) на нескольких длинах волн в зависимости от рН. Штриховые линии, соответствующие точкам перегиба кривых, обозначают положение кажущейся константы диссоциации (рК_с)

Полученные спектрофотометрические данные позволили установить кажущиеся константы диссоциации мареннина для изученных видов (рис. 2). Для *H. karadagensis* и *H. ostrearia* средние значения кажущихся констант диссоциации и доверительные интервалы для них (при уровнях значимости 95%) составили $4,02 \pm 0,21$ ($n = 6$) и $3,83 \pm 0,13$ ($n = 4$) рН соответственно. Дисперсионный анализ (тест ANOVA в программе Origin Pro 9) показал отсутствие статистически значимых различий между двумя средними.

Обсуждение

Изобестические точки характеризуют оптические свойства пигментов, их наличие говорит о том, что хромофорные группы могут находиться в двух альтернативных состояниях в зависимости от рН среды. Ранее было установлено положение изобестических точек внеклеточного мареннина *H. ostrearia*, которое соответствовало длинам волн 490 и 635 нм [3]. В условиях наших экспериментов получены иные средние значения изобестических точек для мареннина *H. ostrearia*, которые находи-

лись вблизи 516 и 612 нм. Такое расхождение в положении изобестических точек может объясняться разными причинами – в частности, отличающимися условиями экспериментов и тем, что в наших экспериментах использован не экстрагированный и очищенный мареннин, а мареннин в его нативном состоянии. При всем различии условий экспериментов полученные нами данные для мареннина *H. ostrearia* могут служить «реперной точкой» для сравнения с данными, полученными для *H. karadagensis*.

Положения изобестических точек, установленные нами для *H. karadagensis* и *H. ostrearia*, в оранжевой области спектра практически совпали, в то время как в зеленой области изобестическая точка у *H. karadagensis* была смещена в сторону коротких волн приблизительно на 9 нм.

Пока остается открытым вопрос относительно пути формирования внеклеточного мареннина [3]. Потенциально возможны два способа: (1) высвобождение внутриклеточного мареннина в культуральную среду в связи с гибелью клеток при их длительном культивировании с последующим превращением во внеклеточную форму и (2) прижизненное выделение пигмента в форме внеклеточного мареннина как продукта метаболизма. Внутриклеточный мареннин, выделившийся в среду, но не претерпевший трансформации во внеклеточную форму, может повлиять на получаемые спектры поглощения, поскольку молекулярная масса и оптические свойства двух форм пигмента различны. Например, внутриклеточный мареннин *H. ostrearia* имеет только одну явно выраженную изобестическую точку, соответствующую длине волны 650 нм [3]. Небезынтересно отметить, что в случае с *Haslea provincialis* Gastineau, Hansen & Mouget у обеих форм пигмента (внутри- и внеклеточной) наблюдалась единственная изобестическая точка, соответствующая 640 нм [27]. Другие водорастворимые метаболиты водорослей также могут иметь полосы поглощения, которые искажают спектры поглощения самого мареннина [15, 28, 29].

В отличие от изобестических точек, полученные нами значения кажущейся константы диссоциации для внеклеточного мареннина *H. ostrearia* ($3,83 \pm 0,13$) оказались вполне сопоставимыми с литературными данными ($4,02 \pm 0,02$) [3]. Точно такое же значение ($4,02 \pm 0,10$) мы получили для кажущейся константы диссоциации внеклеточного мареннина *H. karadagensis*. Это второе значение, полученное для мареннин-продуцирующих видов.

В целом, мареннин-продуцирующие виды рода *Haslea* демонстрируют схожие положения пиков в спектрах поглощения (таблица). При этом у нативного (без подкисления) внеклеточного мареннина *H. nusantara* Mouget, Gastineau & Syakti отсутствовало плечо в области 430–470 нм [30], которое явно прослеживалось у *H. ostrearia* [15] и было хорошо выражено у наших клонов *H. karadagensis*.

Таблица

Положение пиков поглощения и изобестических точек для внутри- и внеклеточных форм мареннина у представителей рода *Haslea*

Вид	Пики поглощения мареннина* в видимой области спектра, нм		Изобестические точки для мареннинов, нм		Источник
	внутриклеточного	внеклеточного	внутриклеточного	внеклеточного	
<i>H. ostrearia</i>	623	460–466, 663	–	–	[28]
	672	677	650	490, 635	[3]
	672	677	–	–	[29]
	–	663–665	–	516, 612	Наши данные
<i>H. karadagensis</i>	–	663–665	–	507, 614	Наши данные
<i>H. provincialis</i>	570 (pH = 2), 670 (pH = 12)	570 (pH = 2), 670 (pH = 12)	640	640	[27]
<i>H. nusantara</i>	–	663	–	–	[30]
<i>H. silbo</i>	–	–	640	640	[31]

Примечание: * – для нативного состояния мареннина при pH, близком к 8,2

Как уже выше упоминалось, существенные межвидовые различия могут наблюдаться в положении и количестве изобестических точек. Показано, что *H. provincialis* филогенетически близка к *H. karadagensis* и *H. ostrearia* [30], однако наличие только одной изобестической точки, расположенной на длине 640 нм, определяет наибольшее сходство пигментов *H. provincialis* и *H. silbo* Gastineau, Hansen & Mouget [31].

Таким образом, положение пика поглощения в красной области спектра для внеклеточной формы мареннина у *H. karadagensis* совпадало с положением пиков у других мареннин-продуцирующих представителей рода *Haslea*, при этом отмечены некоторые межвидовые различия в положении и количестве изобестических точек. С учетом условий, заданных в экспериментах, различие физико-химических характеристик пигментов может служить дополнительным критерием для разграничения видов.

До настоящего времени структура молекул мареннина остается неизвестной, несмотря на

более чем столетний период его изучения [3, 11]. Это также относится к хромофору. Какова бы ни была его природа – полифенольная [3], отчасти полисахаридная [11] или другого типа – вполне возможно, что он составляет лишь небольшую часть молекулы [25]. Возможно, именно сложность структуры молекулы мареннина породила большое количество предположений о природе пока неизвестного для данного вещества хромофора.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №24-24-00054). В работе были использованы материалы Научно-образовательного центра коллективного пользования Института биологии южных морей имени А.О. Ковалевского «Коллекция диатомовых водорослей Мирового океана». Работа выполнена без использования лабораторных животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gastineau R., Davidovich N.A., Bardeau J.-F., Caruso A., Leignel V., Hardivillier Y., Jacqueline B., Davidovich O.I., Rincé Y., Gaudin P., Cox E.J., Mouget J.-L. *Haslea karadagensis* (Bacillariophyta): a second blue diatom, recorded from the Black Sea and producing a novel blue pigment. *Eur. J. Phycol.* 2012;47(4):469–479.

2. Неврова Е.Л. *Разнообразие и структура таксонов бентосных диатомовых водорослей (Bacillariophyta) Черного моря*. Севастополь: ФИЦ ИнБЮМ; 2022. 329 с.

3. Pouvreau J.-B., Moranças M., Fleury F., Rosa F., Thion L., Cahingt B., Zal F., Fleurence J., Pondaven P.

Preliminary characterisation of the blue-green pigment “marennine” from the marine tythropelagic diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen. *J. Appl. Phycol.* 2006;18(6):757–767.

4. Pouvreau J.-B., Housson E., Tallec L., Moranças M., Rincé Y., Fleurence J., Pondaven, P. Growth inhibition of several marine diatom species induced by the shading effect and allelopathic activity of marennine, a blue-green polyphenolic pigment of the diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2007;352(1):212–225.

5. Gastineau R., Pouvreau J.-B., Hellio C., Morançais M., Fleurence J., Gaudin P., Bourgougnon N., Mouget J.-L. Biological activities of purified marennine, the blue pigment produced by the diatom *Haslea ostrearia* and responsible for the greening of oysters. *J. Agric. Food Chem.* 2012;60(14):3599–3605.
6. Gastineau R., Hardivillier Y., Leignel V., Tekaya N., Morançais M., Fleurence J., Davidovich N.A., Jacqueline B., Gaudin P., Hellio C., Bourgougnon N., Mouget J.-L. Greening effect on oysters and biological activities of the blue pigments produced by the diatom *Haslea karadagensis* (Naviculaceae). *Aquac.* 2012;368–369:61–67.
7. Carbonnelle D, Pondaven P, Morançais M, Massé G, Bosch S, Jacquot C, Briand G, Robert J.-M., Roussakis C. Antitumor and antiproliferative effects of an aqueous extract from the marine diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon) Simonsen against solid tumors: lung carcinoma (NSCLC-N6), kidney carcinoma (E39) and melanoma (M96) cell lines. *Anticancer Res.* 1999;19(1A):621–624.
8. Bergé J.-P., Bourgougnon N., Alban S., Pojer F., Billaudel S., Chermann J.-C., Robert J.-M., Franz G. Antiviral and anticoagulant activities of a water-soluble fraction of the marine diatom *Haslea ostrearia*. *Planta Med.* 1999;65:604–609.
9. Turcotte F., Mouget J.-L., Genard B., Lemarchand K., Deschênes J.S., Tremblay R. Prophylactic effect of *Haslea ostrearia* supernatant culture containing the pigment marennine to stabilize bivalve hatchery production. *Aquat. Liv. Res.* 2016;29(4):401.
10. Gastineau R., Prasetya F.S., Falaise C., Cognie B., Decottignies P., Morançais M., Méléder V., Davidovich N.A., Turcotte F., Tremblay R., Pasetto P., Dittmer J., Bardeau J.-F., Pouvreau J.-B., Mouget J.-L. Marennine-Like Pigments: Blue Diatom or Green Oyster Cult? *Blue Biotechnology: Production and Use of Marine Molecules*, vol. 2. Eds. B. Stéphane and S.S. Bates. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2018:529–551.
11. Zebiri I., Jacqueline B., Francezon N., Herbaut M., Latigui A., Bricaud S., Tremblay R., Pasetto P., Mouget J.-L., Dittmer J. The polysaccharidic nature of the skeleton of marennine as determined by NMR spectroscopy. *Mar. Drugs.* 2023;21(1):42.
12. Yusuf M., Baroroh U., Nuwarda R.F., Prasetya F.S., Ishmayana S., Novianti M.T., Tohari T.R., Hardianto A. Sub-rotto T., Mouget J.-L., Pasetto P. Theoretical and experimental studies on the evidence of 1,3- β -glucan in marennine of *Haslea ostrearia*. *Molecules.* 2023;28(15):5625.
13. Robert J.-M., Hallet J.-N. Absorptio spectrum *in vivo* of the blue pigment 'marennine' of the pennate diatom *Navicula ostrearia* Bory. *J. Exp. Bot.* 1981;32(127):341–345.
14. Bocat L. Sur la marennine de la diatomée bleue; comparaison avec la phycocyanine. *C. R. Soc. Biol.* 1907;62:1073–1075.
15. Ranson G. Le verdissement des huîtres. *Sciences.* 1937;8(5):13–24.
16. Bachrach E. Le bleuissement des diatomées et le verdissement des huîtres. *Rev. Trav. Inst. Pêches Mar.* 1935;8:112–123.
17. Moreau J. Contribution aux recherches écologiques sur les claires à huîtres du bassin de Marennes-Oléron. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 1970;34:381–462.
18. Genevès, L., Choussy M., Barbier M., Neuville D., Daste P. Ultrastructure et composition pigmentaire comparées des chromatophores de la Diatomée *Navicula ostrearia* (Gaillon) Bory normale et bleue. *C. R. Acad. Sci. Paris.* 1976;282 (D):449–452.
19. Tremblin G., Robert J.M. Carbon fixation by the peculiar marine diatom *Haslea ostrearia*. *Photosynthetica.* 2001;39(2):215–220.
20. Neuville D., Daste P. Production de pigment bleu par la diatomée *Navicula ostrearia* (Gaillon) Bory maintenue en culture uni-algale sur un milieu synthétique carencé en azote nitrique. *C. R. Acad. Sci. Paris.* 1972;274:2030–2033.
21. Hardouin V., Vandanjon L., Jaouen P., Robert J.M. *Procédée combinée extraction-membranes pour l'isolement et la purification de pigments naturels*. Paris: Actes Colloque Inter-filtra Intermembranes; 1994:175–181.
22. Francezon N., Herbaut M., Bardeau J.-F., Coughon C., Bélanger W., Tremblay R., Jacqueline B., Dittmer J., Pouvreau J.-B., Mouget J.-L., Pasetto P. Electrochromic properties and electrochemical behavior of marennine, a bioactive blue-green pigment produced by the marine diatom *Haslea ostrearia*. *Mar. Drugs.* 2021;19(4):231.
23. Schubert H., Gérard G., Robert J.-M., Sagert S., Rincé Y. *In-vivo* fluorescence measurement of photosynthesis of *Haslea ostrearia* Simonsen in relation to marennine content. *Diatom Res.* 1995;10(2):341–349.
24. Polyakova S.L, Davidovich O.I., Podunay Y.A., Davidovich N.A. Modification of the ESAW culture medium used for cultivation of marine diatoms. *J. Mar. Biol.* 2018;3(2):73–80.
25. Gastineau R., Turcotte F., Pouvreau J.-B., et al. Marennine, promising blue pigments from a widespread *Haslea* diatom species complex. *Mar. Drugs.* 2014;12(6):3161–3189.
26. Reijenga J.C., Hoof A.J., Loon, A., Teunissen B. Development of methods for the determination of pK_a values. *Anal. Chem. Insights.* 2013;8(1):53–71.
27. Gastineau R., Hansen G., Davidovich N.A., Davidovich O.I., Bardeau J.-F., Kaczmarek I., Ehrman J.M., Leignel V., Hardivillier Y., Jacqueline B., Poulin M., Morançais M., Fleurence J., Mouget J.-L. A new blue-pigmented hasleoid diatom, *Haslea provincialis*, from the Mediterranean Sea. *Eur. J. Phycol.* 2016;51(2):156–170.
28. Pouvreau J.-B., Morançais M., Massé G., Rosa P., Robert J.-M., Fleurence J., Pondaven P. Purification of the blue-green pigment "marennine" from the marine tychope-lagic diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen. *Environ. Boil. Fishes.* 2006;18(6):769–781.
29. Pouvreau J.-B., Morançais M., Fleurence J., Pondaven P. Method for the quantification of the blue-green pigment "marennine" synthesized by the marine diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen using HPLC gel-filtration and photodiode-array detection. *J. Appl. Phycol.* 2007;19(3):263–270.
30. Prasetya F.S., Gastineau R., Poulin M., et al. *Haslea nusantara* (Bacillariophyceae), a new blue diatom from the Java Sea, Indonesia: morphology, biometry and molecular characterization. *Plant Ecol. Evol.* 2019;152(2):188–202.
31. Gastineau R., Hansen G., Poulin M., et al. *Haslea silbo*, a novel cosmopolitan species of blue diatoms biology. *Biology.* 2021;10(4):328.

Поступила в редакцию 22.04.2024

После доработки 28.10.2024

Принята в печать 13.12.2024

SHORT COMMUNICATIONS

Some physico-chemical characteristics of the marennine-like pigment synthesized by the marine diatom *Haslea karadagensis* (Bacillariophyta)

N.A. Davidovich , E.S. Kirienko 

T.I. Vyazemsky Karadag Scientific Station – Nature reserve of RAS – Branch of A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, 24 Nauki st., Kurortnoye, Feodosia, Republic of Crimea, 298188, Russia

*e-mail: nickolaid@yandex.ru

Marennine and marennine-like pigments produced by certain diatom species of the genus *Haslea* are unique water-soluble compounds with several valuable properties. The exact chemical structure of these pigments has not been fully elucidated, but data on the physical and chemical characteristics of marennines have been obtained primarily for *H. ostrearia*. Over the past fifteen years, four additional species producing marennine have been identified, which opens up the opportunity to explore the diversity within the genus *Haslea* and, consequently, the diversity of marennines. Diatom representatives of the genus *Haslea*, that produce marennine, accumulate pigment at the apices of their cells and release it into the external environment, giving the surrounding water a greenish-blue color. Although the exact role of marennine in diatom cellular function is unknown, it is believed to act as a photoprotectant, absorbing light in the ultraviolet (UV), violet, and red wavelengths, as it does not participate in photosynthesis. The chemical composition and spectral properties of marennines produced by different *Haslea* species vary slightly, although the physical and chemical characteristics of marennine from *H. ostrearia* have been extensively studied. While the physicochemical properties of marennine in some species, particularly *H. ostrearia*, have been described in detail, the pigment in *H. karadagensis*, an endemic species of the Black Sea region, remains largely unexplored. The study presents a comparison of the spectrophotometric and physicochemical characteristics of marennine from *H. karadagensis* and *H. ostrearia* under given conditions. The apparent dissociation constants and isobestic points of marennine from both diatom species were determined.

Keywords: *diatoms, Haslea karadagensis, marennine, pigment, spectrophotometry, isobestic points, apparent dissociation constants*

Funding: The research was funded by Russian Science Foundation, project number 24-24-00054. The materials of the Scientific and Educational Center for Collective Use of FRC IBSS “Collection of diatoms of the World Ocean” were used in this work. No laboratory animals or human subjects were involved in the research. The authors confirm that there are no conflicts of interest.

Сведения об авторах

Давидович Николай Александрович – докт. биол. наук, зав. лабораторией водорослей и микробиоты Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского. Тел.: 8-365-622-62-12; e-mail: nickolaid@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3510-0453>

Кириенко Екатерина Сергеевна – инженер лаборатории водорослей и микробиоты Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского. Тел.: 8-365-622-62-12; e-mail: esk-00@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-4110-8424>