

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 581.19+577.114
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-3-263-273>

Поступила в редакцию 28.04.2022
Received 28.04.2022

К. М. Герасимович¹, Е. И. Рыбинская¹, И. А. Овчинников¹, Е. Л. Недведь¹,
Ж. Н. Калацкая¹, К. С. Гилевская², В. В. Николайчук², Н. А. Ламан¹

¹Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

²Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ КОНЬЮГАТОВ ХИТОЗАНА С ОКСИКОРИЧНЫМИ КИСЛОТАМИ И ИХ НАНОЧАСТИЦ НА РОСТ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ И СОДЕРЖАНИЕ В НИХ ПРОЛИНА ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ

Аннотация. Проведена оценка влияния синтезированных материалов низко- и высокомолекулярного хитозана с оксикоричными кислотами (феруловой и кофейной) на процессы прорастания семян ячменя. Показано, что обработка семян конъюгатами и наночастицами не оказывает негативного влияния на ростовые показатели проростков ячменя, выращиваемых в благоприятных условиях, а обработка семян конъюгатом хитозана с молекулярной массой 30 кДа и кофейной кислоты способствует ускорению роста проростков, при этом в растительных тканях содержится минимальный уровень свободного пролина. При применении конъюгатов хитозана с оксикоричными кислотами и их наночастиц у проростков ячменя реализуются различные стратегии адаптации к солевому стрессу (24-часовое действие 4 %-ного NaCl). Наиболее эффективная адаптация отмечалась при обработке конъюгатами хитозана с молекулярной массой 30 кДа с оксикоричными кислотами.

Ключевые слова: хитозан, оксикоричные кислоты, феруловая кислота, кофейная кислота, конъюгаты, наночастицы, ячмень (*Hordeum vulgare* L.), солевой стресс, биометрические показатели, пролин

Для цитирования: Влияние конъюгатов хитозана с оксикоричными кислотами и их наночастиц на рост проростков ячменя и содержание в них пролина при солевом стрессе / К. М. Герасимович [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2022. – Т. 67, № 3. – С. 263–273. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-3-263-273>

Kanstantsin M. Herasimovich¹, Katsiaryna I. Rybinskaya¹, Igor A. Ovchinnikov¹, Helen L. Nedved¹,
Joanna N. Kalatskaja¹, Kseniya S. Hileuskaya², Viktoria V. Nikalaichuk², Nikolai A. Laman¹

¹V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

INFLUENCE OF CHITOSAN AND HYDROXYCINNAMIC ACIDS CONJUGATES AND NANOPARTICLES ON THE GROWTH OF BARLEY SEEDLINGS AND PROLINE CONTENTS UNDER SALINE STRESS

Abstract. The effect of seed treatment with various materials of chitosan and hydroxycinnamic acids on the growth of barley seedlings was evaluated. It was shown that chitosan-hydroxycinnamic acid conjugates and nanoparticles had no negative effect on the initial stages of the growth of barley seedlings. Adaptation of seedlings after 24 h exposure to 4 % NaCl in the samples of conjugates of 30 kDa chitosan with caffeic and ferulic acids was more effective. There was a decrease in proline contents and restoration of the growth activity under post-stress conditions.

Keywords: chitosan, hydroxycinnamic acids, ferulic acid, caffeic acid, conjugates, nanoparticles, barley (*Hordeum vulgare* L.), saline stress, growth parameters, proline

For citation: Herasimovich K. M., Rybinskaya K. I., Ovchinnikov I. A., Nedved H. L., Kalatskaja J. N., Hileuskaya K. S., Nikalaichuk V. V., Laman N. A. Influence of chitosan and hydroxycinnamic acids conjugates and nanoparticles on the growth of barley seedlings and proline contents under saline stress. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 3, pp. 263–273 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-3-263-273>

Введение. В последние годы биополимеры природного происхождения широко используются в различных отраслях биологии и медицины. Примером может служить хитозан, который активно применяется и в агрохимических целях, что обусловлено его биоразлагаемостью в почве, низкой токсичностью для живых организмов, доступностью сырья и наличием биологической активности. Хитозан является линейным аминополисахаридом, состоящим из различного количества

чередующихся звеньев 2-амино-2-дезоксиглюкопиранозы, соединенных β -(1→4) гликозидными связями. Наличие у хитозана реакционноспособной аминогруппы позволяет легко осуществлять его структурную модификацию различными методами с целью придания ему новых свойств. Введение новых функциональных групп и заместителей позволяет получать производные с повышенной растворимостью и антиоксидантной активностью [1].

Woranuch с соавт. [2] получили конъюгат хитозана (200 кДа) с феруловой кислотой и показали улучшение его растворимости и антиоксидантной активности. Liu с соавт. [3] получили карбоксиметилхитозан с ковалентно связанными оксикоричными кислотами (галловой, кофейной, феруловой) и изучили его антиоксидантную активность в отношении модельных радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ), гидроксильного радикала и пероксида водорода, а также ингибирование перекисного окисления липидов новыми соединениями. Показано, что антиоксидантная активность изменялась в ряду соединений следующим образом: карбоксиметилхитозан с кислотой > карбоксиметилхитозан > хитозан [3]. Еом с соавт. [4] осуществлен синтез конъюгатов хитоолигосахаридов с молекулярной массой 3–5 кДа с различными фенольными кислотами (гидроксibenзойной, кумаровой, протокатехиновой, кофейной, ванильной, феруловой, сиреневой и синапиновой), а также исследована антиоксидантная активность в тестах с ДФПГ и гидроксильным радикалом. Наибольшую активность проявляли конъюгаты с кофейной и протокатехиновой кислотами, содержание полифенолов составляло 81 и 89 мг/г соответственно.

Таким образом, анализ литературных данных показал, что химическая модификация хитозана с введением новых функциональных групп и заместителей позволяет получать производные с повышенной растворимостью и антиоксидантной активностью. Перспективным направлением исследований конъюгатов хитозана и полифенольных соединений является оценка *in vivo* активности новых соединений.

Ранее нами было изучено [5] влияние обработки семян конъюгатами хитозана молекулярной массой 30 кДа с кофейной и феруловой кислотами на ростовые параметры и ряд биохимических показателей у проростков огурца (*Cucumis sativus* L.). Показаны значительный ростстимулирующий эффект при обработке семян конъюгатами в оптимальных условиях выращивания, а также снижение интенсивности окислительных процессов, стабилизация уровня пролина, повышение пероксидазной активности в семядольных листьях проростков огурца при действии длительного натрий-хлоридного засоления. Кроме того, оценена ростовая активность наночастиц хитозана с молекулярными массами 20 и 800 кДа и феруловой кислотой на растениях пшеницы и редиса [6]. Наночастицы на основе хитозана (20 кДа) и феруловой кислоты стимулировали всхожесть семян озимой пшеницы, но при этом снижали всхожесть семян редиса, что свидетельствует о разной направленности действия на однодольные и двудольные растения.

Целью данной работы являлось изучение влияния конъюгатов хитозана с различной молекулярной массой и оксикоричных кислот и их наночастиц на рост проростков ячменя, а также их активности в качестве индукторов устойчивости проростков ячменя к солевому стрессу.

Объекты и методы исследования. Исследования проводили на растениях ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Дивосны. Семена обрабатывали путем механического перемешивания в растворах конъюгатов или наночастиц хитозана с оксикоричными кислотами в объеме 400 мкл на 20 г семян до равномерного распределения раствора по поверхности. Затем семена выдерживали при комнатной температуре в течение 24 ч. Контролем служили необработанные семена. Перед закладкой опыта семена имели одинаковую исходную влажность. Растения выращивали рулонным способом до 10-дневного возраста в условиях искусственного освещения с интенсивностью 4 тыс. лк, фотопериод: 14 ч – свет, 10 ч – темнота. Для создания солевого стресса рулоны с 5-дневными проростками помещали в 4 %-ный раствор хлорида натрия на 24 ч, а затем переносили на воду. В благоприятных условиях (отсутствие стресса) растения весь период выращивали на дистиллированной воде. Биометрические параметры оценивали на 6-е сутки (стрессовые условия) и на 10-е сутки (постстрессовый период).

Содержание пролина в листьях и корнях определяли согласно методу, изложенному в работе [7]. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Jasko V-630 (Япония) при длине волны 515 нм.

Для синтеза кон'югатаў ішпользавалі хітозаны с молекулярнай масоў 30 кДа (ступень деацетилювання 98,3 %, Glentham Life Sciences, Вялікабрытанія) і 250 кДа (ступень деацетилювання $\geq 90,0$ %, Glentham Life Sciences, Вялікабрытанія), ФК ($M = 194,18$ г/моль) і КК ($M = 180,16$ г/моль) (Sigma-Aldrich, США), 1-этил-3-(3-дiметиламінопропил) карбодиимид гидрохлорид (EDC, Sigma-Aldrich). Кон'югаты хітозана с оксикоричными кислотами (Х30-ФК, Х30-КК и Х250-ФК, Х250-КК) получали карбодиимидным методом с предварительной активацией карбоксильных групп кислоты согласно методике, описанной в работе [6].

Наночастицы на основе кон'югатаў хітозана с оксикоричными кислотами получали методом ионотропного гелеобразования, как описано в работе [8]. Для этого использовали предварительно синтезированные карбодиимидным методом, как описано выше, кон'югаты низкомолекулярного (30 кДа) и высокомолекулярного (800 кДа, степень деацетилювання 75,4 %, Glentham Life Sciences, Вялікабрытанія) хітозана с феруловой кислотой (Х30-ФК и Х800-ФК соответственно). В качестве сшивающих агентов применяли безводный сульфат натрия (ЗАО «Пять океанов», Беларусь) и глутаральдегид (50 %-ный водный раствор, AppliChem, Германия).

Статистическую обработку результатов осуществляли с применением общепринятых методик [9]. На диаграммах приведены средние значения показателей с указанием стандартной ошибки средней, надстрочные символы обозначают достоверность различий средних значений по критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$: *a* – различия достоверны относительно бесстрессового контроля, *b* – различия достоверны относительно стрессового контроля.

Результаты и их обсуждение. Обработка семян кон'югатами не оказывала ингибирующего действия на прорастание ячменя, что выражалось в отсутствии существенных различий по ростовым параметрам относительно контрольных проростков, выращенных в оптимальных условиях. Отмечено увеличение до 10 % длины корней у 10-дневных проростков при обработке Х30-КК (рис. 1, *b*) и сухой массы побега у 6-дневных проростков в варианте Х250-ФК (рис. 2, *c*).

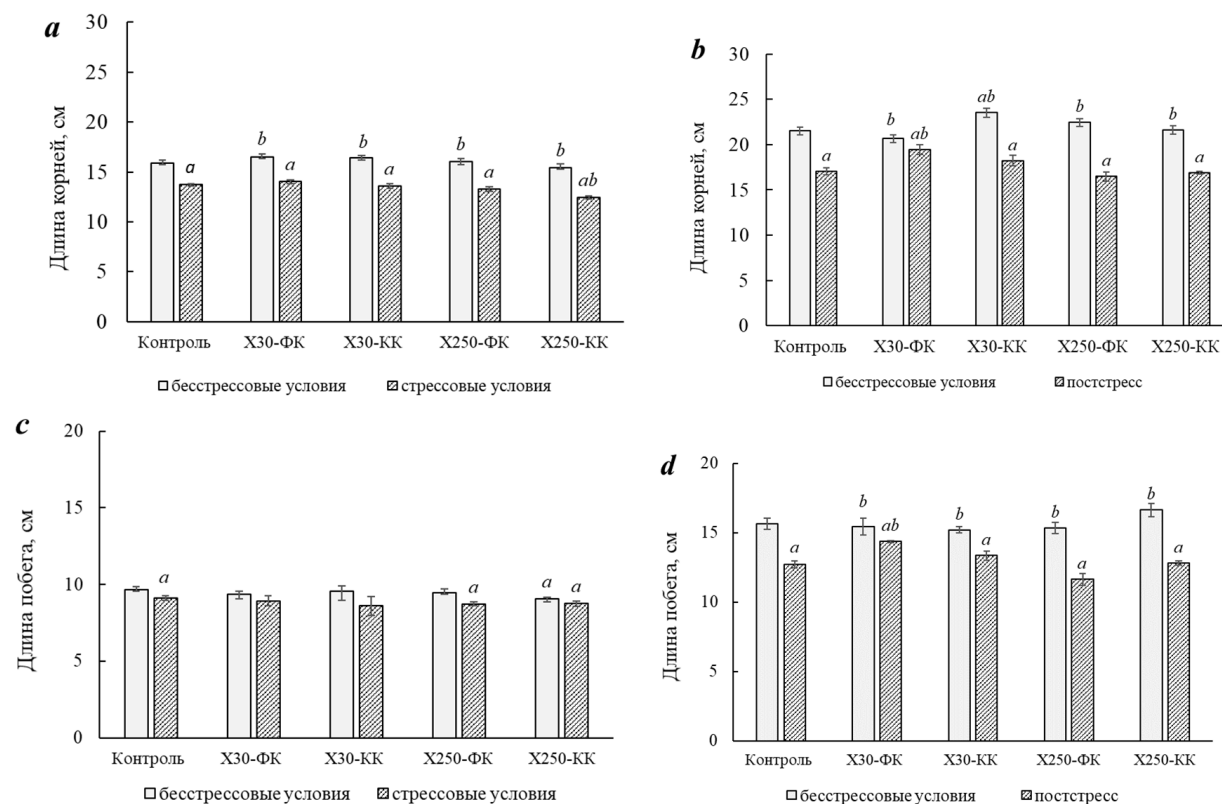


Рис. 1. Длина корней и побега у 6-дневных (*a, c*) и 10-дневных (*b, d*) проростков ячменя при обработке семян кон'югатами хитозана и оксикоричных кислот

Fig. 1. Length of roots and shoot in 6- (*a, c*) and 10-day-old (*b, d*) barley seedlings at seed treatment with conjugates of chitosan and hydroxycinnamic acids

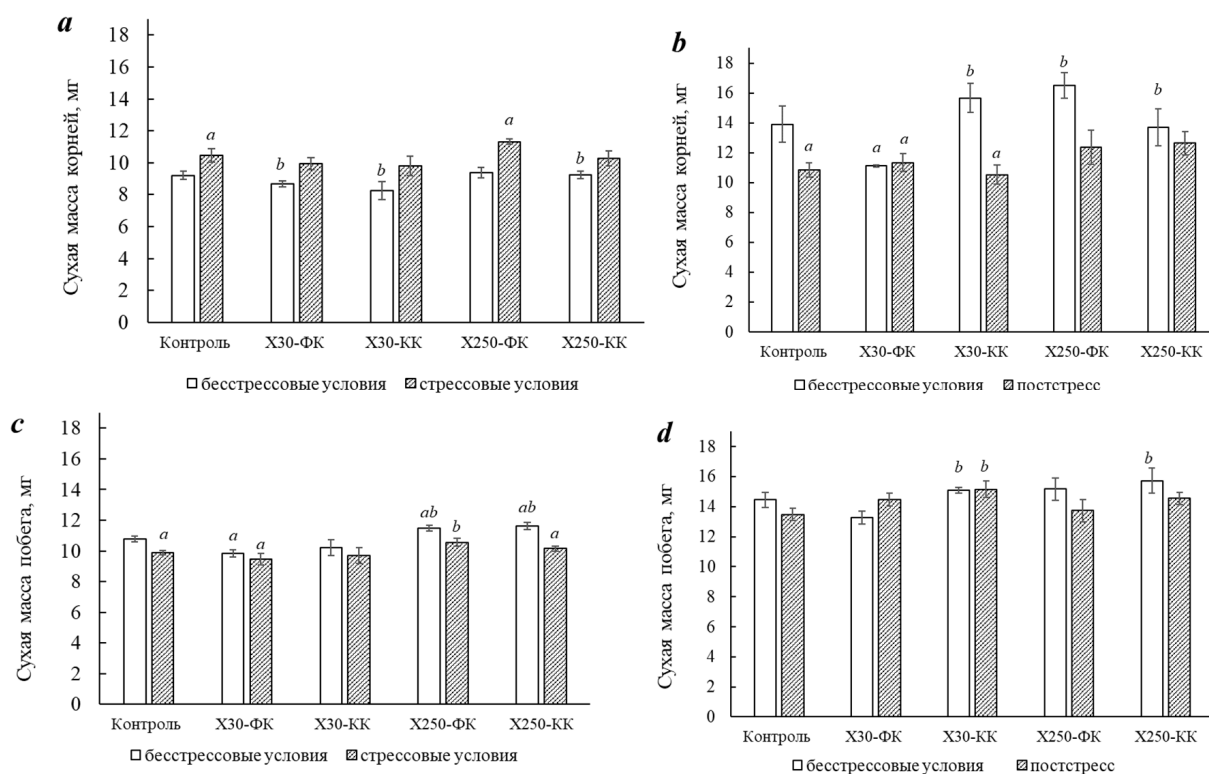


Рис. 2. Сухая масса корней и побега у 6-дневных (a, c) и 10-дневных (b, d) проростков ячменя при обработке семян конъюгатами хитозана и оксикоричных кислот

Fig. 2. Dry weight of roots and shoot in 6- (a, c) and 10-day-old (b, d) barley seedlings at seed treatment with conjugates of chitosan and hydroxycinnamic acids

Действие 4 %-ного раствора NaCl в течение 24 ч вызвало торможение процессов роста, при этом не было существенных различий между исследуемыми вариантами конъюгатов. В постстрессовый период при обработке X30-ФК длина корней возрастала на 14 %, длина побега – на 13 % относительно постстрессового контроля (см. рис. 1, b, d). Сухая масса побега увеличивалась на 12 % в варианте X30-КК относительно контроля и достигала уровня 10-дневных растений, выращиваемых без стрессового фактора при соответствующей обработке (рис. 2, d). Сходную картину наблюдали и в варианте X30-ФК, в этом случае масса побега достоверно превышала данный показатель на 9 % у обработанных X30-ФК растений без действия хлорида натрия (рис. 2, d).

В благоприятных условиях прорастания семян, обработанных конъюгатами X30-ФК и X30-КК, содержание пролина в корнях проростков было ниже, чем в контроле: на 47 и 32 % через 6 сут, на 56 и 47 % через 10 сут соответственно. При обработке семян X30-КК и их прорастании в благоприятных условиях уровень пролина в побегах проростков также был меньше по сравнению с контролем (в среднем на 30 %). При использовании для обработки семян конъюгатов с большей молекулярной массой хитозана (250 кДа) содержание пролина в проростках в целом существенно не отличалось от его уровня у контрольных проростков. Поскольку корни находились непосредственно в солевом растворе, они проявляли большую чувствительность к воздействию 4 %-ного NaCl, что выражалось в повышенном уровне пролина в них по сравнению с побегами. Наблюдалось существенное возрастание содержания пролина в корнях при действии 4 %-ного NaCl по сравнению с проростками, выращиваемыми без стресса (рис. 3, a). Максимальное накопление пролина обнаружено в варианте X30-КК – его уровень в корнях был в 5,5 раза, а в побегах в 3 раза выше, чем в проростках соответствующего варианта в благоприятных условиях. При этом по сравнению со стрессовым контролем самый высокий уровень пролина (на 53 % выше) отмечен при обработке X30-КК, тогда как между остальными вариантами и стрессовым контролем существенных различий не выявлено (рис. 3, a, c).

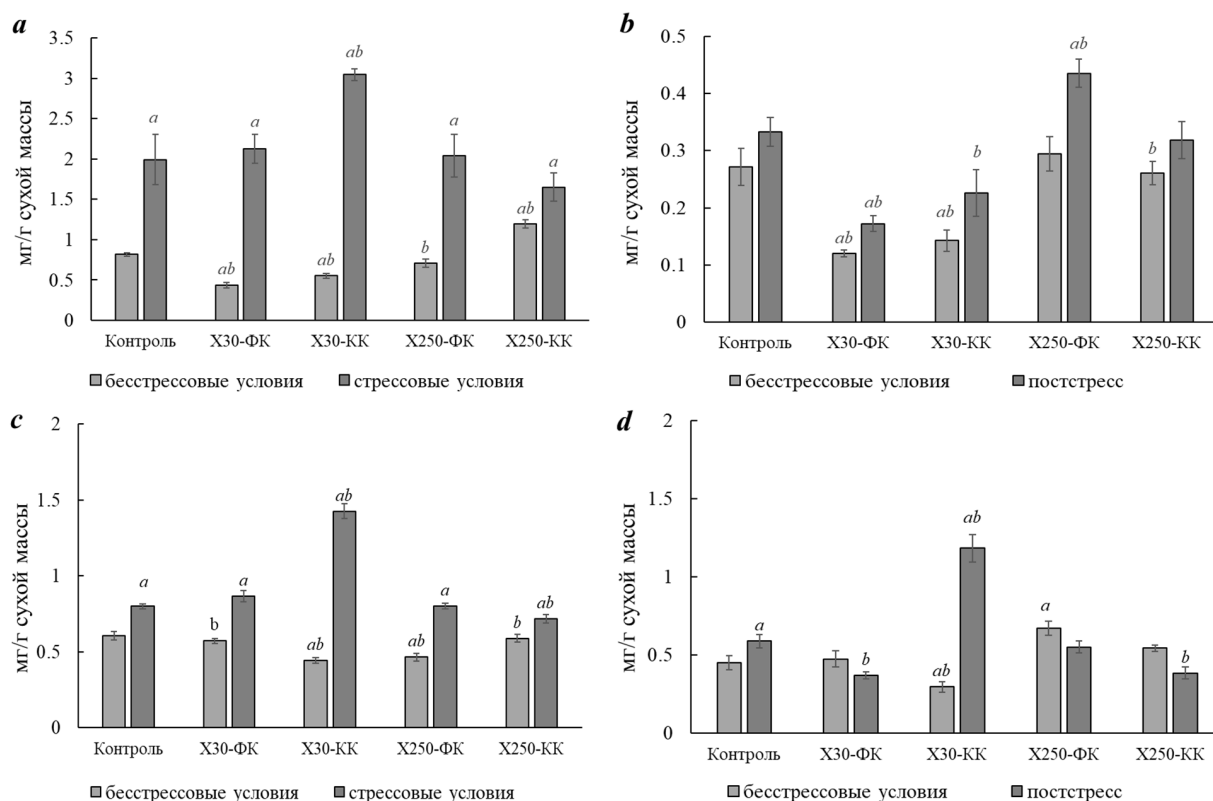


Рис. 3. Содержание пролина в корнях и листьях 6-дневных (a, c) и 10-дневных (b, d) проростков ячменя при обработке семян конъюгатами хитозана и оксикоричных кислот

Fig. 3. Proline contents in the roots and leaves of 6- (a, c) and 10-day-old (b, d) barley seedlings at seed treatment with conjugates of chitosan and hydroxycinnamic acids

В постстрессовый период наблюдали значительное снижение уровня пролина в корнях 10-дневных проростков. При этом его снижение (в среднем на 40 %) относительно постстрессового контроля регистрировали для вариантов с применением конъюгатов на основе хитозана с молекулярной массой 30 кДа, а в побегах – только в варианте X30-ФК. Содержание пролина в побегах при их обработке X30-КК оставалось таким же высоким, как и в условиях стресса. При применении конъюгата X250-ФК отмечено увеличение содержания пролина в корнях относительно постстрессового контроля (рис. 3, b).

Таким образом, в зависимости от вида оксикоричной кислоты конъюгаты проявляют разнонаправленное действие. В благоприятных условиях выращивания при обработке семян конъюгатами хитозана с молекулярной массой 30 кДа и оксикоричных кислот отмечено низкое содержание пролина в корнях, а при обработке X30-КК – и в побегах проростков. Обработка семян X30-КК в большей степени способствовала ускорению роста проростков, при этом в тканях зафиксирован минимальный уровень свободного пролина в сравнении с контролем. Можно предположить, что синтезируемые аминокислоты максимально используются в основном метаболизме для поддержания активного роста проростков. В стрессовых условиях выращивания у проростков из обработанных конъюгатами семян реализуются различные стратегии адаптации. Содержание пролина значительно увеличивается в варианте X30-КК и остается высоким в постстрессовый период, при этом не наблюдается различий в скорости роста растений в сравнении с контролем. При обработке X30-ФК обнаружено ускорение роста проростков в постстрессовый период на фоне снижения содержания пролина в растительных тканях по сравнению с контролем.

Обработка семян ячменя исследуемыми образцами наночастиц на основе хитозана с молекулярной массой 30 и 800 кДа и феруловой кислоты также не оказывала ингибирующего действия на проростки. У 6- и 10-дневных проростков не наблюдалось каких-либо существенных изменений по биометрическим показателям (длина корней и побега) относительно контроля (рис. 4).

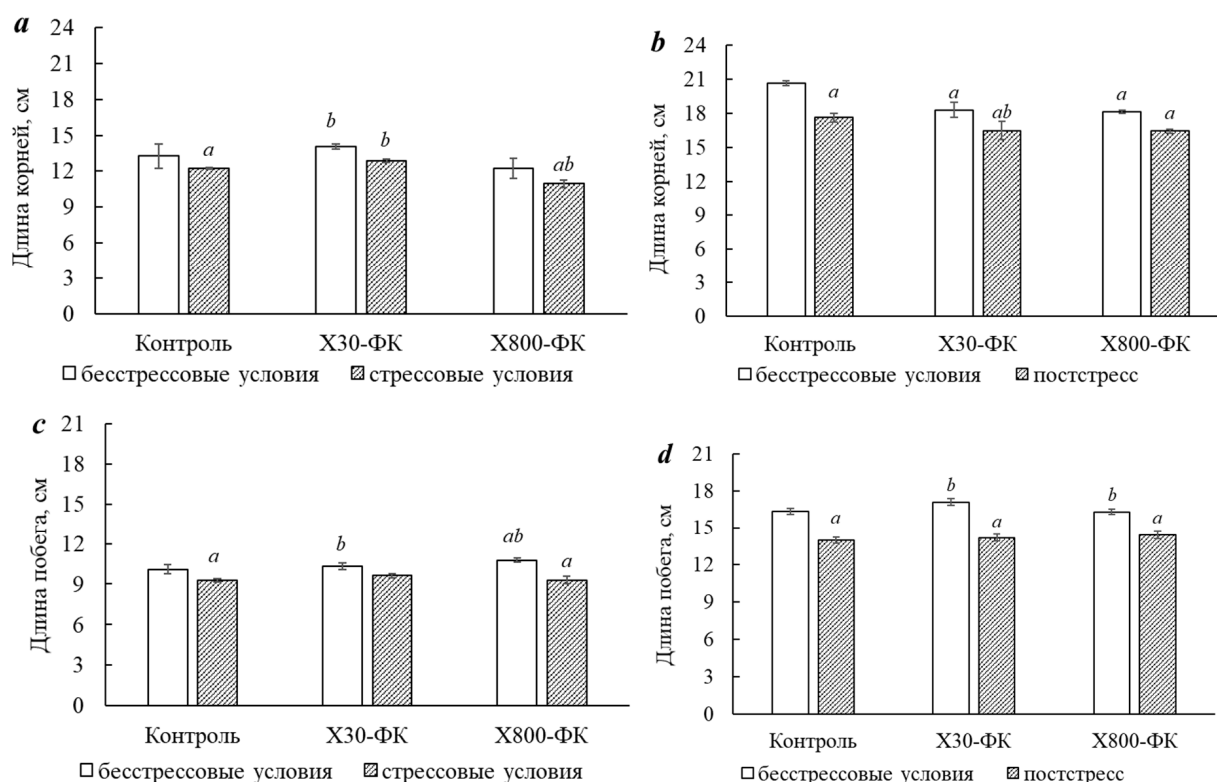


Рис. 4. Длина корней и побега у 6-дневных (a, c) и 10-дневных (b, d) проростков ячменя при обработке семян наночастицами хитозана и оксикоричных кислот

Fig. 4. Length of roots and shoot in 6- (a, c) and 10-day-old (b, d) barley seedlings at seed treatment with nanoparticles of chitosan and hydroxycinnamic acids

Выявлено возрастание сухой массы побега: на 11 и 17 % относительно контроля в вариантах Х30-ФК и Х800-ФК соответственно у 6-дневных проростков, выращенных в благоприятных условиях (рис. 5, c), на 15 % относительно постстрессового контроля при обработке Х800-ФК, NaCl у 10-дневных проростков (рис. 5, d).

В благоприятных условиях при обработке семян наночастицами Х30-ФК у 6-дневных побегов обнаружено увеличение содержания пролина (на 37 % по сравнению с контролем), однако к 10-м суткам во всех вариантах уровень пролина был практически одинаковым, в корнях различий также не наблюдалось (рис. 6).

В условиях солевого стресса содержание пролина в корнях при обработке наночастицами Х30-ФК было на 34 % ниже, чем в контроле, и достоверно не отличалось от контрольного значения в постстрессовый период (рис. 6, a, b). В варианте Х800-ФК уровень пролина в корнях в постстрессовый период снизился на 59 % относительно контроля, а в побегах в условиях стресса его содержание возросло на 20 % по сравнению с контрольными проростками и оставалось высоким и в постстрессовый период (рис. 6, b, c, d).

Сравнительный анализ исследуемых конъюгатов и наночастиц хитозана с различной молекулярной массой и оксикоричных кислот показал отсутствие у них ингибирующего действия в отношении прорастающих семян ячменя, наибольший ростстимулирующий эффект на проростки в оптимальных условиях проявлялся в случае применения конъюгатов хитозана с молекулярной массой 30 кДа.

Одним из существенных негативных эффектов засоления является ингибирование роста растений, вызванное водным дефицитом, что сопровождается нарушением клеточного гомеостаза и снижением продуктивности растений [10]. Анализ литературных данных показал, что обработка семян растений хитозаном в различных концентрациях приводит к повышению их всхожести, возрастанию длины и массы корней и побегов в условиях засухи, низкотемпературного

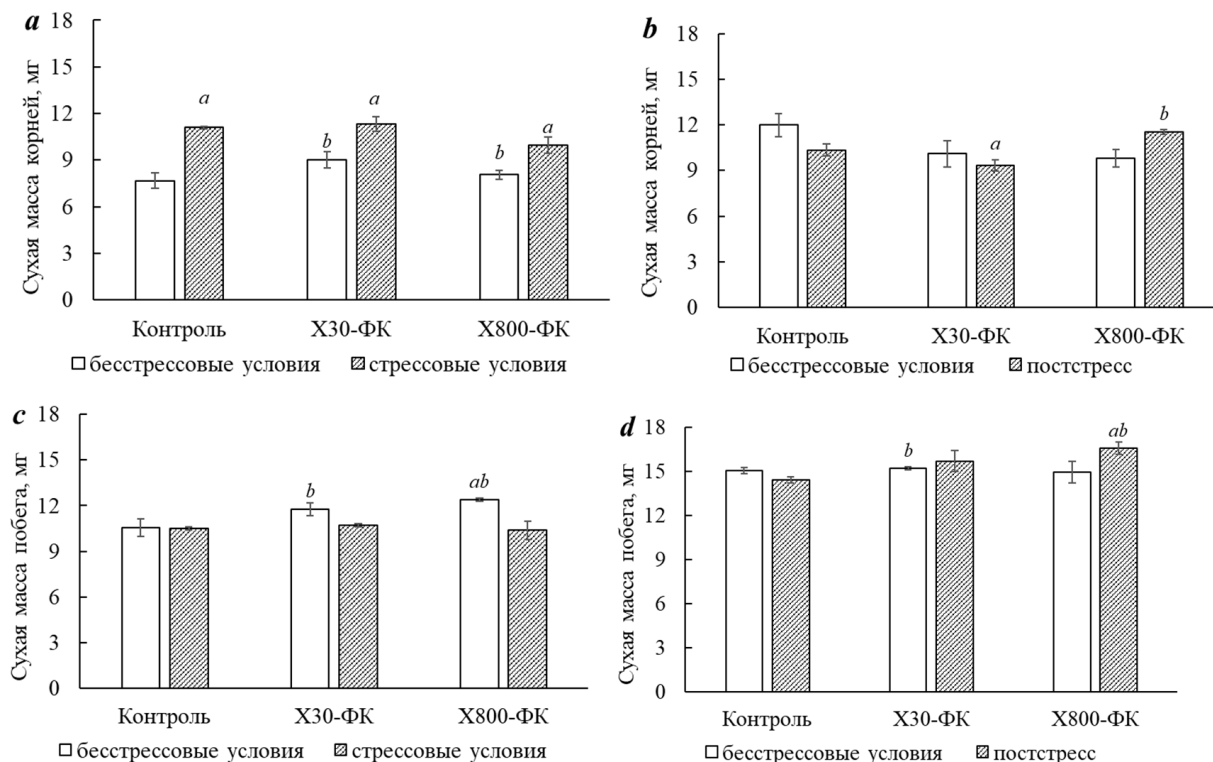


Рис. 5. Сухая масса корней и побега у 6-дневных (a, c) и 10-дневных (b, d) проростков ячменя при обработке семян наночастицами хитозана и оксикоричных кислот

Fig. 5. Dry weight of roots and shoot in 6- (a, c) and 10-day-old (b, d) barley seedlings at seed treatment with nanoparticles of chitosan and hydroxycinnamic acids

и солевого стрессов [11–13]. Так, обработка семян растений *Carum copticum* L. хитозаном в диапазоне концентраций от 0,01 до 0,5 % приводила к возрастанию их всхожести при действии солевого стресса, а также к увеличению длины корней, длины и сухой массы побегов относительно стрессового контроля [14]. Экзогенное применение хитозанов с различной молекулярной массой на растениях твердой пшеницы *Triticum durum* Desf. значительно снижало негативное действие 200 мМ NaCl, что выражалось в повышении ростовых показателей относительно стрессовых растений, при этом наибольший эффект проявлялся при опрыскивании листьев хитозанами с молекулярной массой 50–190 и 190–310 кДа [15].

Аккумуляция пролина является типичной реакцией растений на солевой стресс, однако она зависит от вида растений, стадии их развития и интенсивности солевого стресса [16]. Обработка семян хитозаном значительно повышала уровень пролина в растениях риса, пшеницы и томатов [17–19]. Обработка низкомолекулярным хитозаном приводила к накоплению пролина и снижению интенсивности процессов перекисного окисления липидов в растениях подсолнечника *Carthamus tintorius* L. в условиях солевого стресса [20]. В проростках кукурузы *Zea mize* L. и пшеницы *Triticum aestivum* L. при их обработке низкими концентрациями хитозана возрастала активность антиоксидантных ферментов и содержание пролина, тогда как при их обработке высокими концентрациями хитозана отмечалось снижение накопления пролина в условиях солевого стресса [21].

У проростков из обработанных конъюгатами семян в стрессовых условиях выращивания, вероятно, реализуются различные стратегии адаптации. Содержание пролина значительно увеличивается в варианте X30-КК и остается высоким в постстрессовый период, при этом не наблюдается различий в скорости роста растений в сравнении с контролем. При обработке X30-ФК обнаружено ускорение роста и развития проростков в постстрессовый период на фоне снижения содержания пролина в растительных тканях по сравнению с контролем.

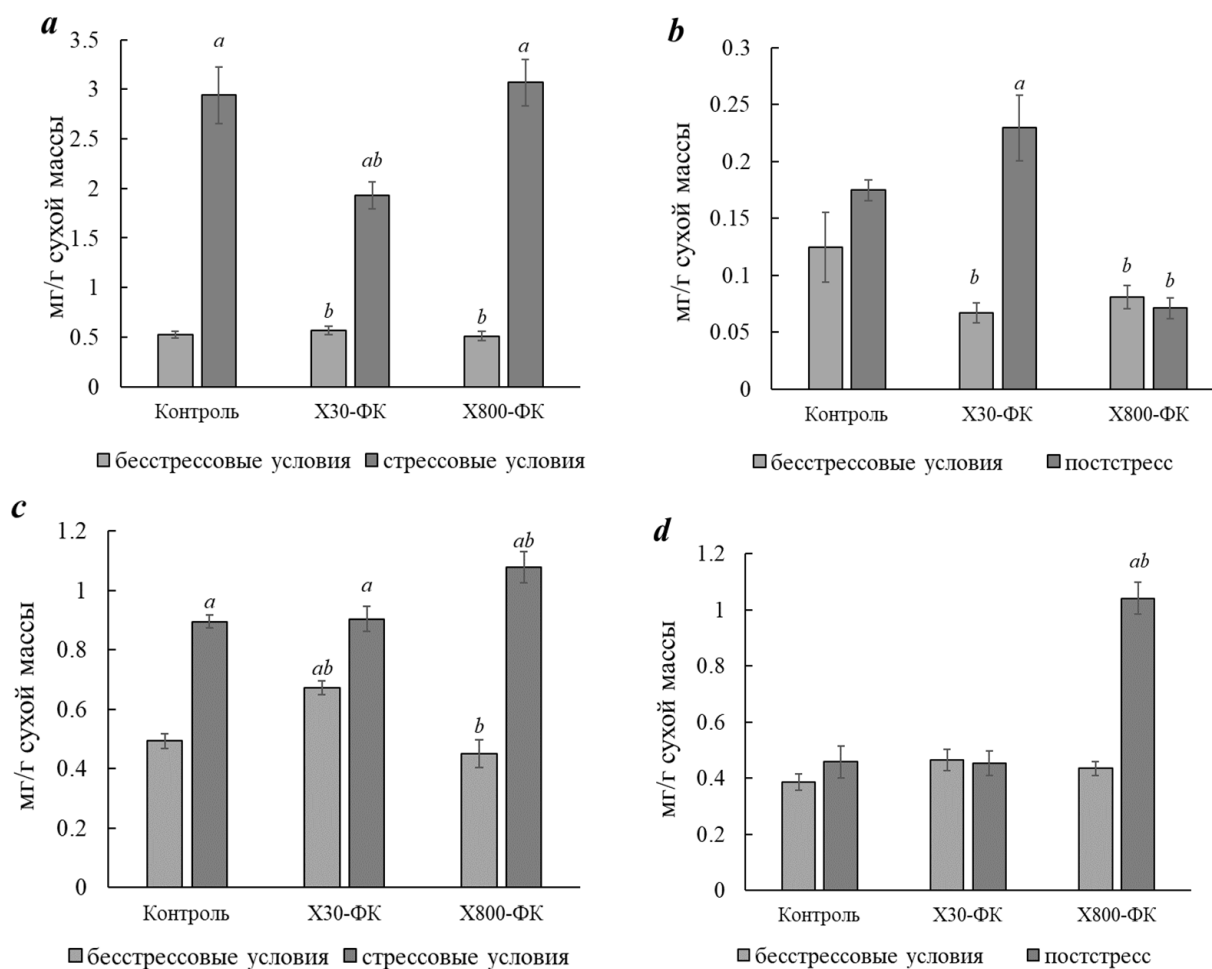


Рис. 6. Содержание пролина в корнях и листьях 6-дневных (a, c) и 10-дневных (b, d) проростков ячменя при обработке семян наночастицами хитозана и оксикоричных кислот

Fig. 6. Proline contents in the roots and leaves of 6- (a, c) and 10-day-old (b, d) barley seedlings at seed treatment with nanoparticles of chitosan and hydroxycinnamic acids

Показана неоднозначная динамика изменения содержания пролина в корнях и листьях проростков при обработке наночастицами при кратковременном действии NaCl и в постстрессовых условиях. При этом не наблюдалось различий по ростовым параметрам между проростками с применением наночастиц и контрольными растениями.

Таким образом, эффективность обработки семян конъюгатами хитозана с молекулярной массой 30 кДа и оксикоричных кислот заключалась в смягчении действия сильного и кратковременного солевого стресса, о чем свидетельствуют активный рост проростков в постстрессовый период, а также снижение стресс-индуцируемого накопления пролина относительно контрольных проростков, подвергшихся стрессовому воздействию.

Заключение. Проведенные исследования показали, что конъюгаты и наночастицы низко- и высокомолекулярного хитозана и феруловой или кофейной кислот не проявляют токсичного действия в отношении прорастающих семян ячменя. Обработка семян конъюгатами X30-КК вызывает ускорение роста проростков в благоприятных условиях прорастания, при этом в тканях содержится минимальный уровень свободного пролина в сравнении с контролем. В стрессовых условиях выращивания (24-часовое действие 4 %-ного хлорида натрия) у проростков из обработанных конъюгатами и наночастицами семян реализуются различные стратегии адаптации. Наиболее эффективная адаптация отмечается при обработке конъюгатами хитозана с молекулярной массой 30 кДа с оксикоричными кислотами. Содержание пролина значительно увеличивается в варианте X30-КК и остается высоким в постстрессовый период, при этом не наблюдается

различий в скорости роста растений в сравнении с контролем. При обработке конъюгатом Х30-ФК обнаружено ускорение роста проростков в постстрессовый период на фоне снижения содержания пролина в растительных тканях по сравнению с контролем. Эффективность обработки семян конъюгатами хитозанов с оксикоричными кислотами заключается в смягчении негативного действия сильного и кратковременного солевого стресса на развивающиеся проростки.

Список использованных источников

1. Хитин/хитозан и его производные: фундаментальные и прикладные аспекты / В. П. Варламов [и др.] // Успехи биол. химии. – 2020. – Т. 60. – С. 317–368.
2. Woranuch, S. Preparation, characterization and antioxidant property of water-soluble ferulic acid grafted chitosan / S. Woranuch, R. Yoksan // *Carbohydrate Polymers*. – 2013. – Vol. 96, N 2. – P. 495–502. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.006>
3. Preparation, characterization and antioxidant activity of phenolic acids grafted carboxymethyl chitosan / J. Liu [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2013. – Vol. 62. – P. 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.08.040>
4. Eom, T.-K. Synthesis of phenolic acid conjugated chitooligosaccharides and evaluation of their antioxidant activity / T.-K. Eom, M. Senevirathne, S.-K. Kim // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 34, N 2. – P. 519–527. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.05.004>
5. Параметры роста и антиоксидантная активность в проростках огурца при применении конъюгатов хитозана с оксикоричными кислотами в условиях солевого стресса / Е. Л. Недведь [и др.] // *Прикл. биохимия и микробиология*. – 2022. – Т. 58, № 1. – С. 74–82.
6. Synthesis and properties of hydrogel particles based on chitosan-ferulic acid conjugates / A. Kraskouski [et al.] // *Soft Materials*. – 2021. – Vol. 19, N 4. – P. 495–502. <https://doi.org/10.1080/1539445X.2021.187772>
7. Модифицированная методика определения пролина в растительных объектах / Г. Н. Шихалева [и др.] // *Вестн. Харьков. нац. ун-та им. В. Н. Каразина. Сер. Биология*. – 2014. – Т. 21, № 1112. – С. 168–172.
8. Preparation and properties of hydrogel microparticles based on chitosan / A. Kraskouski [et al.] // *Theor. Exp. Chem.* – 2020. – Vol. 56, N 4. – P. 243–252. <https://doi.org/10.1007/s11237-020-09655-1>
9. Grantz, S. A. *Primer of Biostatistics* / ed. S. Grantz. – 7th ed. – New York : McGraw-Hill, 2011. – 320 p.
10. Water stress in plants: Causes, effects and responses / S. Y. S. Lisar [et al.] // *Water Stress*. – 2012. – Vol. 1. – P. 1–14. <https://doi.org/10.5772/39363>
11. Zeng, D. Physiological effects of chitosan coating on wheat growth and activities of protective enzyme with drought tolerance / D. Zeng, X. Luo // *Open J. Soil Sci.* – 2012. – Vol. 2, N 3. – P. 282–288. <https://doi.org/10.4236/ojss.2012.23034>
12. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress / Y.-J. Guan [et al.] // *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. – 2009. – Vol. 10, N 6. – P. 427–433. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0820373>
13. Effect of seed treatment with chitosan on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings cv. inca lp-5 in saline medium / L. Martínez-González [et al.] // *Cultivos Tropicales*. – 2015. – Vol. 36, N 1. – P. 136–142.
14. Mahdavi, B. Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan (*Carum copticum*) under salt stress / B. Mahdavi, A. Rahimi // *Eurasia J. Biosci.* – 2013. – Vol. 7. – P. 69–76. <https://doi.org/10.5772/39363>
15. Chitan-induced activation of the antioxidant defense system counteracts the adverse effects of salinity in durum wheat / F. Qutitadamo [et al.] // *Plants*. – 2021. – Vol. 10. – Art. 1365. <https://doi.org/10.3390/plants10071365>
16. Mansour, M. M. F. Evaluation of proline functions in saline conditions / M. M. F. Mansour, E. F. Ali // *Photochemistry*. – 2017. – Vol. 140. – P. 52–68. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.04.016>
17. Kong-Ngem, K. Proline, hydrogen peroxide, membrane stability and antioxidant enzyme activity as potential indicators for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) / K. Kong-Ngem, S. Bunnag, P. Theerakulpisut // *Int. J. Bot.* – 2012. – Vol. 8, N 2. – P. 54–65. <https://doi.org/10.3923/ijb.2012.54.65>
18. Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress / L. Ma [et al.] // *Protoplasma*. – 2012. – Vol. 249, N 2. – P. 393–399. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0290-5>
19. LiQiang, G. Effects of chitosan on physiological characteristics of tomato seedlings under salt stress / G. LiQiang // *Agricult. Sci. Technol.-Hunan*. – 2012. – Vol. 13, N 3. – P. 551–553.
20. Chitosan improves osmotic potential tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings / B. S. Mahdavi [et al.] // *J. Crop Improv.* – 2011. – Vol. 25, N 6. – P. 728–741. <https://doi.org/10.1080/15427528.2011.606354>
21. Shams Peykani, L. Effect of chitosan on antioxidant enzyme activity, proline, and malondialdehyde content in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L. under salt stress condition / L. Shams Peykani, M. Farzami Sepehr // *Iran. J. Plant Physiol.* – 2018. – Vol. 9, N 1. – P. 2661–2670.

References

1. Varlamov V. P., Il'ina A. V., Shagdarova B. Ts, Lun'kov A. P., Mysyakina I. S. Chitin/chitosan and its derivatives: fundamental and applied aspects. *Uspekhi biologicheskoi khimii* [Advances in biological chemistry], 2020, vol. 60, pp. 317–368 (in Russian).
2. Woranuch S., Yoksan R. Preparation, characterization and antioxidant property of water-soluble ferulic acid grafted chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 2013, vol. 96, no. 2, pp. 495–502. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.006>

3. Liu J., Lu J.-F., Kan J., Tang Y. Q., Jin C.-H. Preparation, characterization and antioxidant activity of phenolic acids grafted carboxymethyl chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013, vol. 62, pp. 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.08.040>
4. Eom T.-K., Senevirathne M., Kim S.-K. Synthesis of phenolic acid conjugated chitoooligosaccharides and evaluation of their antioxidant activity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2012, vol. 34, no. 2, pp. 519–527. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.05.004>
5. Nedved' E. L., Kalatskaya Zh. N., Ovchinnikov I. A., Rybinskaya E. I., Kraskovskii A. N., Nikolaichuk V. V., Gilevskaya K. S., Kulikovskaya V. I., Agabekov V. E., Laman N. A. Growth parameters and antioxidant activity in cucumber seedlings with application of chitosan and hydroxycinnamic acids conjugates under salt stress. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied biochemistry and microbiology], 2022, vol. 58, no. 1, pp. 74–82 (in Russian).
6. Kraskouski A. N., Nikolaichuk V. V., Kulikovskaya V. I., Hileuskaya K. S., Kalatskaja J. N., Nedved H. L., Laman N. A., Agabekov V. E. Synthesis and properties of hydrogel particles based on chitosan-ferulic acid conjugates. *Soft Materials*, 2021, vol. 19, no. 4, pp. 495–502. <https://doi.org/10.1080/1539445X.2021.1877726>
7. Shikhaleeva G. N., Budnyak A. K., Shikhaleev I. I., Ivashchenko O. L. Modified method for the determination of proline in plant objects. *Visnik Kharkivs'kogo natsional'nogo universitetu imeni V. N. Karazina. Seriya "Biologiya" = The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 2014, vol. 21, no. 1112, pp. 168–172 (in Russian).
8. Kraskouski A. N., Nikolaichuk V. V., Kulikovskaya V. I., Hileuskaya K. S., Kalatskaja J. N., Nedved E. L., Laman N. A., Agabekov V. E. Preparation and properties of hydrogel microparticles based on chitosan. *Theoretical and Experimental Chemistry*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 243–252. <https://doi.org/10.1007/s11237-020-09655-1>
9. Grantz S. A. *Primer of biostatistics. 7th ed.* New York, McGraw-Hill, 2011. 320 p.
10. Lisar S. Y. S., Motafakkerzad R., Hossain M. M., Rahman I. M. M. Water stress in plants: Causes, effects and responses. *Water Stress*, 2012, vol. 1, pp. 1–14. <https://doi.org/10.5772/39363>
11. Zeng D., Luo X. Physiological effects of chitosan coating on wheat growth and activities of protective enzyme with drought tolerance. *Open Journal of Soil Science*, 2012, vol. 2, no. 3, pp. 282–288. <https://doi.org/10.4236/ojss.2012.23034>
12. Guan Y.-J., Hu J., Wang X.-J., Shao C.-X. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2009, vol. 10, no. 6, pp. 427–433. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0820373>
13. Martínez-González L., Yanelis R. G., Alejandro F. R., Miriam N. V. Effect of seed treatment with chitosan on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings cv. inca lp-5 in saline medium. *Cultivos Tropicales*, 2015, vol. 36, no. 1, pp. 136–142.
14. Mahdavi B., Rahimi A. Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan (*Carum copticum*) under salt stress. *Eurasian Journal of Biosciences*, 2013, vol. 7, pp. 69–76 <https://doi.org/10.5772/39363>
15. Qutitadamo F., de Simone V., Beleggia R., Trono D. Chitan-induced activation of the antioxidant defense system counteracts the adverse effects of salinity in durum wheat. *Plants*, 2021, vol. 10, art. 1365 <https://doi.org/10.3390/plants10071365>
16. Mansour M. M. F., Ali E. F. Evaluation of proline functions in saline conditions. *Photochemistry*, 2017, vol. 140, pp. 52–68 <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.04.016>
17. Kong-Ngem K., Bunnag S., Theerakulpisut P. Proline, hydrogen peroxide, membrane stability and antioxidant enzyme activity as potential indicators for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Botany*, 2012, vol. 8, no. 2, pp. 54–65. <https://doi.org/10.3923/ijb.2012.54.65>
18. Ma L., Li Y., Yu C., Wang Y., Li X., Li N., Chen Q., Bu N. Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress. *Protoplasma*, 2012, vol. 249, no. 2, pp. 393–399. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0290-5>
19. LiQiang, G. Effects of chitosan on physiological characteristics of tomato seedlings under salt stress. *Agricultural Science and Technology-Hunan*, 2012, vol. 13, no. 3, pp. 551–553.
20. Mahdavi B. S. A., Modarres Sanavy M., Aghaalikhani M., Sharifi M. Chitosan improves osmotic potential tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings. *Journal of Crop Improvement*, 2011, vol. 25, no. 6, pp. 728–741. <https://doi.org/10.1080/15427528.2011.606354>
21. Shams Peykani L., Farzami Sepehr M. Effect of chitosan on antioxidant enzyme activity, proline, and malondialdehyde content in *Triticum aestivum* L. and *Zea maize* L. under salt stress condition. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 2018, vol. 9, no. 1, pp. 2661–2670.

Информация об авторах

Герасимович Константин Михайлович – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: herasimovichkm@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1255-2545>

Рыбинская Екатерина Игоревна – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kate.rybinskaya@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1677-2836>

Information about the authors

Kanstantsin M. Herasimovich – Junior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: herasimovichkm@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1255-2545>

Katsiaryna I. Rybinskaya – Junior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kate.rybinskaya@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1677-2836>

Овчинников Игорь Алексеевич – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: igor-1606@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-8662-3908>

Недведь Елена Леонардовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nedved_e@tut.by. <https://orcid.org/0000-0002-9973-6549>

Калацкая Жанна Николаевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalatskayaj@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-6395-0757>

Гилевская Ксения Сергеевна – канд. хим. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: k_hilevskay@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3121-0014>

Николайчук Виктория Викторовна – мл. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vical0bcn@gmail.com

Ламан Николай Афанасьевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: laman.nikolai@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1067-4936>

Igor A. Ovchinnikov – Junior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: igor-1606@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-8662-3908>

Helen L. Nedved – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nedved_e@tut.by. <https://orcid.org/0000-0002-9973-6549>

Joanna N. Kalatskaja – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kalatskayaj@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-6395-0757>

Kseniya S. Hileuskaya – Ph. D. (Chem.), Associate Professor, Leading Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: k_hilevskay@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3121-0014>

Viktoria V. Nikalaichuk – Junior Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vical0bcn@gmail.com

Nikolai A. Laman – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: laman.nikolai@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1067-4936>