

УДК 581.19+577.114

ПАРАМЕТРЫ РОСТА И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПРОРОСТКАХ ОГУРЦА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ КОНЪЮГАТОВ ХИТОЗАНА С ОКСИКОРИЧНЫМИ КИСЛОТАМИ В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА

© 2022 г. Е. Л. Недведь^{1, *}, Ж. Н. Калацкая¹, И. А. Овчинников¹,
Е. И. Рыбинская¹, А. Н. Красковский², В. В. Николайчук², К. С. Гилевская²,
В. И. Куликовская², В. Е. Агабеков², Н. А. Ламан¹

¹Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, 220072 Республика Беларусь

²Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, 220141 Республика Беларусь

*e-mail: nedved_e@tut.by

Поступила в редакцию 25.02.2021 г.

После доработки 19.05.2021 г.

Принята к публикации 02.09.2021 г.

Синтезированы конъюгаты хитозана с кофейной и феруловой кислотами с соотношением хитозан : кислота 5 : 1 с помощью модифицированного карбодиимидного метода, позволяющего регулировать степень пришивки кислот от 0.5 до 3.4%. Изучена биологическая активность полученных конъюгатов на примере 7-дневных проростков огурца (*Cucumis sativus* L.). Отмечен значительный ростстимулирующий эффект обработки семян конъюгатами в бесстрессовых условиях выращивания проростков при отсутствии изменений антиоксидантного статуса по сравнению с контрольными растениями. Установлено координационное действие конъюгатов на рост органов проростков в разных условиях выращивания, проявляющееся в увеличении отношения длины корней к длине побега. Обсуждены возможные механизмы ослабления действия длительного натрий-хлоридного засоления при обработке семян конъюгатами с оксикоричными кислотами за счет снижения в семядолях проростков интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), стабилизации уровня пролина и повышения общей пероксидазной активности.

Ключевые слова: огурец (*Cucumis sativus* L.), солевой стресс, конъюгаты, хитозан, оксикоричные кислоты, морфометрические показатели, пролин, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность

DOI: 10.31857/S0555109922010068

Проблема увеличения и сохранения устойчивости растений к действию стрессовых факторов за счет активации их защитных механизмов остается актуальной [1, 2]. Одним из возможных путей решения данной проблемы является разработка новых форм экологически безопасных биodeградируемых пленкообразующих препаратов для обработки семян, сочетающих биополимерную матрицу и активное соединение в качестве структурного фрагмента полимеров.

В качестве полимерной основы наибольший интерес вызывает хитозан — гетерополимер N-ацетилглюкозамина и глюкозамина, обладающий уникальными физико-химическими свойствами, биоцидной активностью, биосовместимостью и биodeградируемостью [3]. Оксикоричные кислоты, как и большинство фенольных соединений, вызывают защитные ответные реакции у растений. В последнее время отмечается активное применение

экзогенных оксикоричных кислот в качестве индукторов устойчивости и регуляторов роста растений. Согласно литературным данным [4, 5] оксикоричные кислоты, в частности, кофейная (КК) и феруловая (ФК), оказывали стимулирующее действие на рост и развитие растений. Предобработка КК оказывала положительный эффект на растения сои в условиях солевого стресса [6, 7]. В работе [8] отмечается, что экзогенная КК в концентрации 0.1 мМ участвует в регуляции ряда физиолого-биохимических процессов, которые во многом определяют продуктивность растений картофеля. Обработка рассады огурца 25 мкМ КК стимулирует накопление свободных сахаров, что свидетельствует о формировании адаптационных реакций у растений в условиях гипотермического стресса [9].

Возможность создания композиций хитозана с оксикоричными кислотами может обеспечить

множественный эффект – защитные свойства при покрытии семян пленкой, стимуляция ростовых процессов, фунгистатический эффект, индуцирование защитных свойств растений по отношению к биотическим и абиотическим стрессам.

Цель данной работы – оценка влияния синтезированных конъюгатов хитозана с оксикоричными кислотами при обработке ими семян на физиолого-биохимические показатели растений огурца в условиях выращивания без стресса и при действии солевого стресса.

МЕТОДИКА

Объекты и методы исследования. Объектом исследования служили проростки огурца (*Cucumis sativus* L.), сорт Малышок. Семена растений обрабатывали в стеклянной колбе путем их механического перемешивания в 1%-ном водном растворе конъюгатов хитозана с оксикоричными кислотами в объеме 140 мкл на 3 г семян до равномерного распределения раствора по поверхности семян. Затем семена выдерживали при комнатной температуре в течение 24 ч. Контролем служили необработанные семена. Обработанные и контрольные семена перед закладкой опыта имели одинаковую исходную влажность.

Для синтеза конъюгатов использовали хитозан с $M_v \sim 30$ кДа, степенью деацетилирования 98.3%, “Glentham Life Sciences” (Великобритания), ФК ($M = 194.18$ г/моль) и КК ($M = 180.16$ г/моль, “Sigma-Aldrich”, США), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодииимид гидрохлорид (EDC, “Sigma-Aldrich”).

Проростки огурца выращивали рулонным способом [10] до 7-дневного возраста в условиях искусственного освещения с интенсивностью 4 тыс. люкс, фотопериод: 14 ч – свет, 10 ч – темнота. Длительный солевой стресс создавали, помещая рулоны с семенами в 100 мМ раствор хлорида натрия на весь период выращивания. В условиях отсутствия стресса растения выращивали на дистиллированной воде. Для биохимических исследований использовали семядольные листья.

Содержание пролина определяли согласно методу [11], в основе которого лежит способность нингидрина связываться с пролином с образованием продукта розового цвета. Навеску семядольных листьев (0.3 г) растирали в 3%-ной сульфосалициловой кислоте и центрифугировали 15 мин при 12000 г. К аликвоте супернатанта приливали ледяную уксусную кислоту и нингидриновый реактив в соотношении 1 : 1 : 1, нагревали в течение 60 мин при 90°C на термошейкере при постоянном перемешивании (300 об./мин). Оптическую плотность измеряли на спектрофото-

метре “Jasko V-630” (Япония) при длине волны 515 нм.

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на образовании окрашенного комплекса малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) при нагревании (ТБК-продукты). Навеску семядольных листьев (0.1 г) растирали в 2 мл 0.25%-ной ТБК, растворенной в 10%-ной трихлоруксусной кислоте. Реакцию с образованием окрашенного комплекса проводили в течение 30 мин при 95°C на термошейкере при постоянном перемешивании (300 об./мин), после чего пробы охлаждали и центрифугировали 15 мин при 12000 г. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре “Jasko V-630” (Япония) при длине волны 532 и 600 нм [12].

Для оценки активности общей пероксидазы (КФ 1.11.1.7) семядольные листья (0.2 г) растирали на холоду в 0.2 М Na-ацетатном буфере (рН 5.0), содержащем 0.1 мМ фенилметилсульфонилфторид, затем центрифугировали 20 мин при 12000 г и температуре 4°C. Активность фермента определяли по методу, основанному на измерении оптической плотности продуктов реакции, которые образуются при окислении бензидина за определенный промежуток времени [13]. Реакционная смесь содержала: супернатант, 0.2 М Na-ацетатный буфер (рН 5.0), 0.01%-ный уксуснокислый бензидин, 0.3%-ный пероксид водорода. Оптическую плотность измеряли при длине волны 590 нм на спектрофотометре “Jasko V-630” (Япония) [13].

Для определения активности супероксиддисмутазы (СОД) (КФ 1.15.1.1) семядольные листья (0.2 г) растирали на холоду в К, Na-фосфатном буфере (рН 7.8), содержащем 0.1 мМ фенилметилсульфонилфторид, центрифугировали 20 мин при 12000 г и температуре 4°C. Общую активность СОД определяли согласно методу [14]. Реакционная смесь содержала супернатант, 0.05%-ный нитросиний тетразолий, 39 мкМ L-метионин, 0.24%-ный трилон-Б, 0.025%-ный рибофлавин. Реакцию проводили при освещении люминесцентными лампами ($I = 2350$ Lm) в течение 15 мин. Поглощение раствора измеряли при 560 нм на спектрофотометре “Jasko V-630” (Япония) [14].

Концентрацию белка в полученных ферментных препаратах оценивали по методу Бредфорда.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием общепринятых методов [15]. На диаграммах приведены средние значения показателей с указанием стандартной ошибки средней, надстрочные символы обозначают достоверность различий средних значений по критерию Стьюдента при $p \leq 0.05$: а – различия достоверны относительно бесстрессового кон-

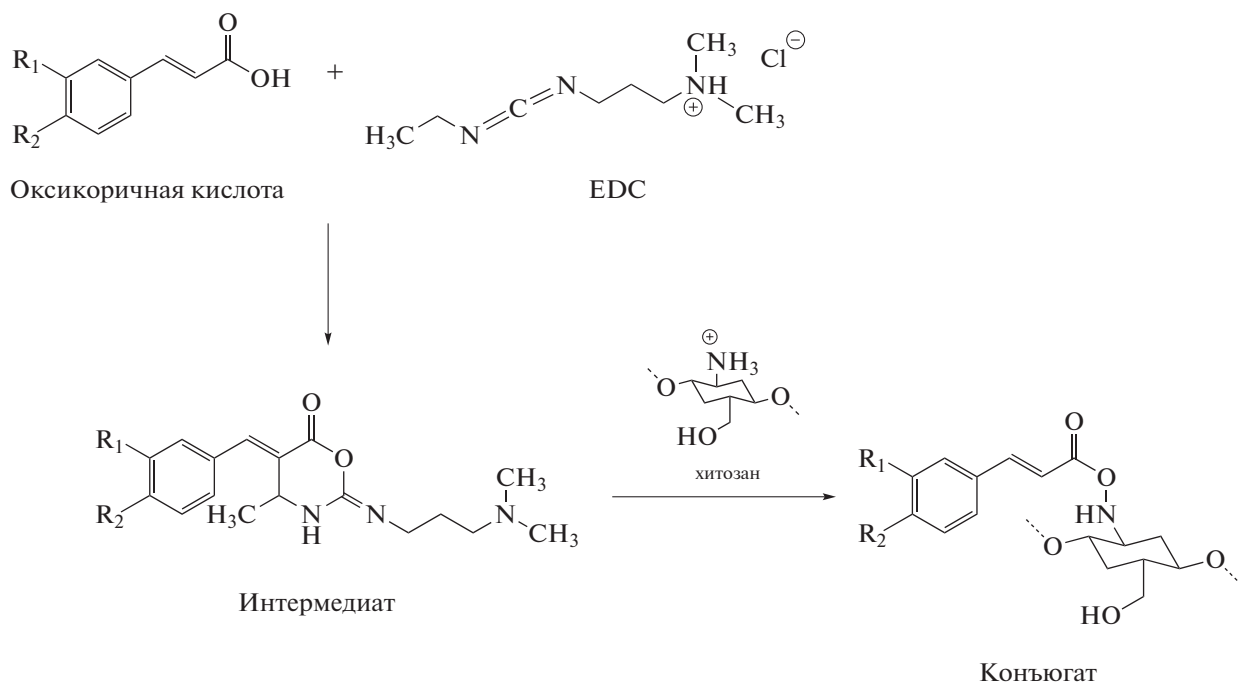


Рис. 1. Схема получения конъюгатов хитозана с оксикоричными кислотами карбодиимидным способом ($\text{R}_1=\text{OH}$, $\text{R}_2=\text{H}$ — кофейная кислота; $\text{R}_1=\text{OCH}_3$, $\text{R}_2=\text{H}$ — феруловая кислота).

троля, б — различия достоверны относительно стрессового контроля.

Получение конъюгатов. Синтез конъюгатов хитозана с молекулярной массой 30 кДа и ФК и КК в концентрации 10 мкМ проводили на основании предварительно полученных данных о влиянии хитозанов с различной молекулярной массой, оксикоричных кислот в диапазоне концентраций 0.1–100 мкМ, а также их смесей на прорастание семян и биометрические показатели растений огурца в лабораторных условиях. Конъюгаты хитозана с оксикоричными кислотами получали карбодиимидным методом с предварительной активацией карбоксильных групп кислоты EDC (рис. 1) по методике, описанной в работе [16]. ФК или КК (5 мг/мл) и EDC растворяли в диметилсульфоксиде. При этом EDC брали в трехкратном мольном избытке по отношению к оксикоричным кислотам. Раствор кислоты по каплям добавляли к раствору EDC и перемешивали на магнитной мешалке в темноте 1 ч. Далее полученный раствор, содержащий активированную кислоту, по каплям добавляли к раствору хитозана (5 мг/мл) в 0.5%-ной уксусной кислоте при постоянном перемешивании на магнитной мешалке, затем выдерживали 20 ч в темноте при комнатной температуре. Синтезированный конъюгат хитозана с ФК (или КК) очищали от реакционной смеси диализом в целлюлозных диализных трубках, размер пор 14 кДа, (Sigma D9277-100FT и D9652-100FT) против воды в течение 1 сут. В про-

цессе синтеза массовое соотношение хитозан: ФК (КК) составило 5:1. Содержание оксикоричных кислот в синтезированных конъюгатах определяли спектрофотометрически как описано в работе [16]. Для этого снимали спектр поглощения конъюгата в области 200–400 нм и рассчитывали количество кислоты по предварительно построенному калибровочному графику. Степень пришивки ФРК (КФК) к хитозану (CR, %) рассчитывали по формуле:

$$\text{CR} = n_{\text{к}} / n_{\text{NH}_2} \times 100\%,$$

где $n_{\text{к}}$ — количество ФК (КК) в конъюгате, моль; n_{NH_2} — количество мономерных звеньев хитозана, содержащих аминогруппы, моль.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценивали влияние синтезированных конъюгатов хитозан: ФК (Х-ФК) и хитозан: КК (Х-КК) на биометрические показатели 7-дневных проростков огурца в бесстрессовых и стрессовых (100 мМ NaCl) условиях. Внешний вид растений представлен на рис. 2.

В отсутствии стресса обработка семян конъюгатами приводила к увеличению длины и массы проростков. Так, в варианте Х-ФК длина и масса корней превышала контроль на 44 и 28% соответственно (рис. 3а, 3в). При обработке семян Х-КК возрастали все показатели относительно бесстрессового контроля: длина корней — на 64%,



Рис. 2. Внешний вид проростков огурца, выращенных в бесстрессовых и стрессовых условиях при обработке семян конъюгатами хитозана с оксикоричными кислотами: 1 – контроль, H₂O, 2 – контроль, 100 мМ NaCl, 3 – X-ФК, H₂O, 4 – X-ФК, 100 мМ NaCl, 5 – X-КК, H₂O, 6 – X-КК, 100 мМ NaCl.

длина побега – на 20%, масса корней – на 62%, масса побега – на 29% (рис. 3).

В условиях действия солевого стресса регистрировали значительное угнетение роста по сравнению с обычными условиями. Длительное засоление (100 мМ NaCl) приводило к снижению длины корней и побега в среднем на 34 и 31%, сырая масса корней и побега уменьшалась на 28 и 36% соответственно. При этом не наблюдалось достоверно значимых различий между контролем в стрессовых условиях и опытными вариантами по биометрическим показателям (рис. 3).

Отношение длины корней к длине побега увеличивалось в вариантах обработки X-ФК и X-КК на 34 и 10% соответственно относительно контрольных растений, находящихся в стрессовых условиях (рис.4).

Таким образом, выявлен значительный рост-стимулирующий эффект обработки семян конъюгатами на основе хитозана и оксикоричных кислот при выращивании растений огурца без стресса. При этом отмечено изменение соотношения развития надземной и подземной частей проростка в сторону увеличения корневой системы.

Механизмы влияния на растения получаемых в настоящее время конъюгатов на основе хитозана и оксикоричных кислот только начинают изучаться. Однако согласно литературным данным оксикоричные кислоты в низких концентрациях стимулируют корнеобразование в результате предотвращения декарбоксилирования индол-3-уксусной кислоты (ИУК) [5, 17]. Также показано, что феру-

ловая и кофейная кислоты, имеющие гидроксил в пара- положении, проявляют более эффективный антагонистический эффект в отношении абсцизовой кислоты в сравнении с коричной кислотой [17].

Отмечено стимулирующее действие средне- и высокомолекулярных хитозанов на высоту, количество побегов и листьев у *Freesia Eckl. ex Klatt*. [18]. Исследования Ли с соавт. [19] показали положительное влияние хитозана на проростки сои, при этом эффективность действия хитозана была прямо пропорциональна молекулярной массе. Авторы, предположили, что замачивание семян в растворе хитозана с высокой молекулярной массой (>1000 кДа) оказывало благоприятное влияние на рост проростков сои. С другой стороны, в исследованиях Луан с соавт. [20] стимулирующий эффект проявлял низкомолекулярный хитозан (16 кДа). Используемый в работе хитозан с молекулярной массой 30 кДа оказывал стимулирующее действие, увеличивая длину корней у проростков огурца в условиях без стресса. Однако наибольший эффект на рост и накопление биомассы наблюдали при совместном применении хитозана с оксикоричными кислотами [21]. На основании полученных результатов синтезировали исследуемые в работе конъюгаты.

В условиях длительного солевого стресса не отмечено активации роста проростков при применении конъюгатов хитозана с оксикоричными кислотами, однако увеличенное отношение длины корня к длине побега сохранялось, что может свидетельствовать об улучшении водопоглощаю-

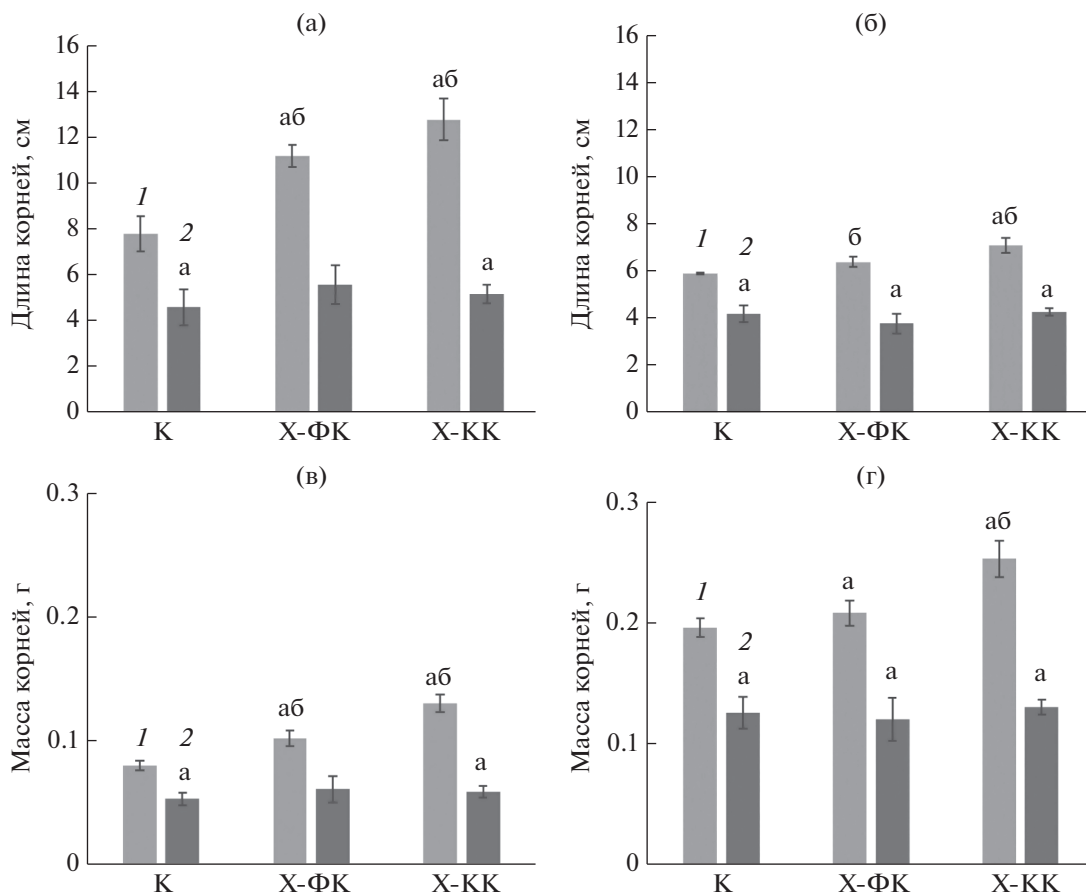


Рис. 3. Длина и масса корней (а, в) и побегов (б, г) 7-дневных проростков огурца, выращенных в бесстрессовых (1) и стрессовых условиях (2, 100 мМ NaCl) при обработке семян конъюгатами хитозана с оксикоричными кислотами.

шей способности корневой системы, предотвращающей накопление токсичных ионов и перемещение их в надземные органы, и повышении жизнеспособности проростков [22].

Накопление пролина является одной из наиболее быстрых ответных реакций клетки, а его содержание может также быть важным показателем состояния растений при действии солевого стресса [22, 23]. Кроме осмопротекторных свойств пролин регулирует кислотность цитозоля и поддерживает соотношение НАД⁺/НАДН, усиливает фотохимическую активность фотосистемы II в мембранах тилакоидов и снижает ПОЛ [24]. Дополнительный синтез этой аминокислоты повышает общую устойчивость растений к абиотическим стрессам, так как пролин защищает мембраны, макромолекулы и структурные элементы клетки, приводя, таким образом, к повышению неспецифической устойчивости. Анализируется возможность рассматривать пролин в качестве метаболического сигнала, регулирующего окислительно-восстановительный гомеостаз и экспрессию некоторых генов стрессового ответа [25–27].

Анализ содержания пролина в 7-дневных проростках огурца показал существенное увеличение его уровня при действии солевого стресса. Содерж-

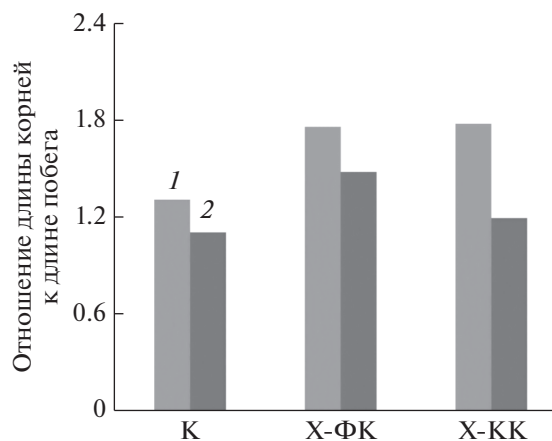


Рис. 4. Отношение длины корней к длине побега 7-дневных проростков огурца, выращенных в бесстрессовых (1) и стрессовых условиях (2, 100 мМ NaCl) при обработке семян конъюгатами хитозана с оксикоричными кислотами.

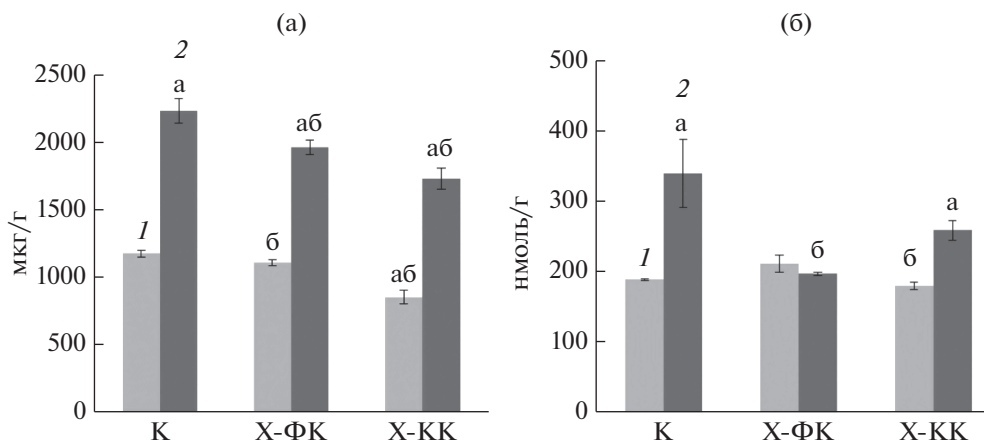


Рис. 5. Содержание пролина (а) и ТБК-продуктов (б) в 7-дневных проростках огурца, выращенных в бесстрессовых (1) и стрессовых условиях (2, 100 мМ NaCl) при обработке семян конъюгатами хитозана с оксикоричными кислотами.

жание пролина у контрольных растений было 2225.6 ± 88.9 мкг/г сухой массы, в 2 раза выше аналогичного показателя у растений в отсутствие стрессового фактора. Обработка семян X-КК в условиях выращивания без стресса приводила к снижению содержания пролина в семядольных листьях проростков на 27% относительно контроля. В вариантах обработки X-ФК и X-КК содержание пролина в условиях солевого стресса было ниже относительно стрессового контроля на 12 и 23% соответственно (рис. 5а).

Уменьшение накопления пролина, вероятно, свидетельствует о том, что обработка семян конъюгатами хитозана способствовала снижению степени повреждения семядолей огурца хлористым натрием. Похожие результаты о снижении накопления пролина при солевом стрессе были получены при обработке 24-эпибрассинолидом растений проса [28] и перца [29], а также при обработке мио-инозитолом перца в условиях засухи [30].

Одним из последствий действия засоления на растения является окислительный стресс, связанный, прежде всего, с нарушениями процессов фотосинтеза и дыхания [31]. В условиях действия солевого стресса происходит связанное с падением устьичной проводимости ингибирование фотосинтеза и снижение активности фотосистемы II. При этом нарушается функционирование электронтранспортной цепи в хлоропластах, что вызывает усиление образования АФК, таких как синглетный кислород, супероксидный анион-радикал, пероксид водорода и др. [32], что приводит к активации ПОЛ [33, 34]. Также считается, что причиной повышения уровня АФК в клетках при солевом стрессе непосредственно может быть дефицит воды, нарушающий гидратацию и функционирование биомакромолекул [35].

В условиях действия стрессового фактора в семядольных листьях проростков контрольного ва-

рианта отмечалось увеличение содержания ТБК-продуктов в 1.8 раза относительно растений, выращенных на воде. Тогда как интенсивность ПОЛ в семядолях проростков из обработанных конъюгатами семян была существенно ниже при солевом стрессе по сравнению со стрессовым контролем. Наблюдалось снижение содержания ТБК-продуктов на 42% при обработке X-ФК и на 24% при обработке X-КК (рис. 5б).

Значительная индуцируемая NaCl интенсивность процессов ПОЛ, о чем свидетельствует возрастание количества ТБК-продуктов, является маркером развивающегося в растениях огурца стресса, уровень которого значительно ниже при обработке семян конъюгатами хитозана с оксикоричными кислотами.

При стресс-зависимой генерации АФК в клетке происходит изменение активности антиоксидантных ферментов и метаболизма низкомолекулярных протекторных соединений. В настоящее время не вызывает сомнений большое значение антиоксидантной системы в формировании солеустойчивости растений [35, 36]. Во многих работах, выполненных на контрастных по устойчивости растениях, показана корреляция между активностью антиоксидантных ферментов и резистентностью к действию засоления [37, 38], хотя она не является однозначной. Как полифункциональные ферменты неспецифические пероксидазы задействованы и в адаптации растений к засолению. Установлено повышение их активности при краткосрочном воздействии солевого стресса [39], а также показана более высокая активность неспецифической пероксидазы у солеустойчивых растений при засолении по сравнению с неустойчивыми [37].

При действии солевого стресса наблюдали увеличение активности пероксидазы в 1.8 раза в контрольных растениях, в 2.4 в варианте X-ФК и 3 раза в варианте K-КК относительно растений в

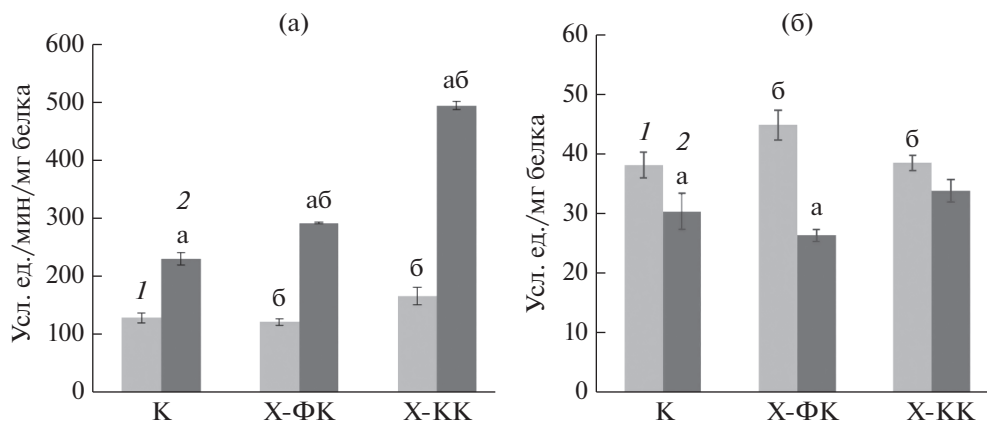


Рис. 6. Активность пероксидазы (а) и СОД (б) в 7-дневных проростках огурца, выращенных в бесстрессовых (1) и стрессовых условиях (2, 100 мМ NaCl) при обработке семян конъюгатами хитозана с оксикоричными кислотами.

условиях выращивания без стресса. При этом значительное повышение активности фермента (в 2 раза) относительно стрессового контроля в условиях засоления отмечалось при обработке семян конъюгатами Х-КК (рис. 6а). Возрастание активности этого антиоксидантного фермента в растениях огурца при засолении из опытных вариантов сопровождалось снижением интенсивности ПОЛ.

Активность СОД снижалась при действии солевого стресса в среднем на 20% при обработке семян конъюгатами относительно бесстрессового контроля. Достоверно значимых различий активности фермента между вариантами как в отсутствии стресса, так и в стрессовых условиях не наблюдалось (рис. 6б).

При действии неблагоприятных факторов активность СОД может изменяться разнонаправленно. Имеющиеся литературные данные показывают существование взаимосвязи между активностью СОД и устойчивостью растений к действию стрессоров. Так, у солетолерантного сорта сафлора (*Carthamus tinctorius* L.) активность СОД при солевом стрессе была выше, чем у чувствительного [37]. Такую же зависимость между активностью СОД и солеустойчивостью выявили у различных генотипов гороха [38]. Значительное увеличение активности СОД при действии засоления установлено у солеустойчивых сортов томата [40]. Однако при увеличении длительности действия стрессора или его интенсивности происходившая в начале активация СОД снижалась в условиях генерации АФК [41]. Наблюдаемое в настоящей работе снижение активности СОД на 7 сут действия солевого стресса могло быть вызвано длительным воздействием NaCl на проростки.

В литературных источниках сообщалось о роли экзогенных оксикоричных кислот [6, 42, 43] и хитозанов [44] в ослаблении неблагоприятного

воздействия стресса на растения, в том числе в результате изменения функционирования антиоксидантной системы растений.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в условиях выращивания без стресса обработка семян конъюгатами хитозана с ФК и КК оказывала ростстимулирующий эффект на проростки, в том числе, координируя рост органов, увеличивая отношение длины корней к надземной части. При этом не наблюдалось значительных изменений антиоксидантного статуса относительно контрольных растений. В связи с чем, можно предположить, что синтезированные конъюгаты эффективны в качестве регуляторов роста в отсутствии стрессового воздействия.

В условиях длительного засоления при обработке семян конъюгатами не выявлено изменений по длине и биомассе проростков огурца по сравнению с контрольными растениями, однако сохранялось увеличенное отношение длины корней к длине побегов. При этом в тканях семядолей не отмечено значительной аккумуляции пролина, но выявлено снижение интенсивности процессов ПОЛ на фоне высокой общей пероксидазной активности. Можно предположить, что полученные конъюгаты хитозана с ФК и КК способны повышать устойчивость проростков к длительному натрий-хлоридному засолению в результате снижения интенсивности окислительных процессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского Республиканского Фонда Фундаментальных исследований, грант № Б19-020.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Соколов Ю.А.* Элиситоры и их применение в растениеводстве. / Ред. Т.С. Климовича. Минск: Белорусская наука, 2016. 201 с.

2. *Pedrini, S., Merritt D. J., Kingsley J.S.* // Trends Plant Sci. 2017. V. 22. № 2. P. 106–116.
3. *Тютчев С.Л.* Природные и синтетические индукторы устойчивости растений к болезням. Санкт-Петербург: ВИЗР, 2014. 212 с.
4. *Li H.H., Inoue M., Nishimura H., Mizutani J., Tsuzuki E.* // J.Chem. Ecol. 1993. V. 19. № 8. P. 1775–1787.
5. *El-Awadi M.E., Dawood M.G., Abdel-Baky Y.R., El-Rokiek K.G.* // AgricEngInt: CIGR J. 2017. № 2. P. 53–60.
6. *Klein A., Keyster M., Ludidi N.* // Acta Physiologia Plantarum. 2013. V. 35. № 10. P. 3059–3066.
7. *Klein A., Keyster M., Ludidi N.* // Journal of Botany. 2015. V. 96. № 1. P. 13–18.
8. *Puzina T.* // Advances in Engineering Rescorch. 2008. V. 151. P. 584–588.
9. *Wan Y.Y., Zhang Y., Zhang L., Zhou Z.Q., Li X., Shi Q., Wang X., Bai J.* // Acta Physiologiae Plantarum. 2015. V. 37. № 61. P. 1706.
10. *Кабашишникова Л.Ф.* Способ ранней диагностики эффективности многокомпонентных капсулирующих составов для обработки семян. Методические указания. Минск: Право и экономика, 2003. 31 с.
11. *Шухалева Г.Н.* // Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия: биология. 2014. Т. 21. № 1112. С. 168–72.
12. *De Vos C.H.R.* // J. Plant Physiol. 1989. V. 135. № 3. P. 164–169.
13. *Бояркин А.Н.* Определение активности пероксидазы. / Ред. А.И. Ермакова Ленинград: Колос, 1987. С. 41–43.
14. *Beyer W.F., Fridovich I.* // Anal. Biochem. 1987. V. 161. № 2. P. 559–566.
15. *Grantz S.A.* Primer of Biostatistics / Ed S. Grantz. 7th Ed. N.Y.: McGraw-Hill, 2011. 320 p.
16. *Kraskouski A., Nikalaichuk V., Kulikouskaya V., Hileuskaya K., Kalatskaja J., Nedved H., Laman N., Agabekov V.* // Soft Materials. 2021. С. 1–8. <https://doi.org/10.1080/1539445X.2021.1877726>
17. *Marchiosi R., dos Santos W.D., Constantin R.P. et al.* // Phytochem. Rev. 2020. V. 19. P. 865–906.
18. *Salachna P., Zawadzka A.* // J. Ecol. Eng. 2014. V. 15. № 3. P. 97–102.
19. *Lee Y.S., Kim Y.H., Kim S.B.* // Hort Science. 2005. V. 40. № 5. P. 1333–1335.
20. *Luan le Q., Ha V.T.T., Nagasawa N., Kume T., Yoshii F., Nakanishi T.M.* // Biotechnol. Appl. Biochem. 2005. V. 41. (Pt 1). P. 49–57.
21. *Недведь Е.Л., Калацкая Ж.Н., Минкова В.В., Овчинников И.А., Гилевская К.С., Куликовская В.И., Красковский А.И., Ламан Н.А.* // Ботаника (исследования). 2020. № 49. С. 300–308.
22. *Acosta-Motos J.R., Ortuño M.F., Bernal-Vicente A., Diaz-Vivanco P., Sanchez-Blanco M.J., Hernandez J.H.* // Agronomy. 2017. V. 7. № 1. P. 18. <https://doi.org/10.3390/agronomy7010018>
23. *Verbruggen N., Hermans C.* // Amino Acids. 2008. V. 35. № 4. P. 753–759.
24. *Колунаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О.* // Вісник Харківського національного аграрного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. 2014. Вип. 2. № 32. С. 6–22.
25. *Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F.* // Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 19. № 9. P. 998–1011.
26. *Signorelli S., Coitin O., E.L., Borsani O., Monza J.* // J. Phys. Chem. 2014. V. 118. № 1. P. 37–47.
27. *Колунаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Кабашишникова Л.Ф.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2019. Т. 55. № 5. С. 419–440.
28. *Вайнер А.А., Колунаев Ю.Е., Хрунач В.А.* // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46. № 5. С. 428–436.
29. *Houimli S.M., Denden M., Mouhanded B.D.* // EurAsia J. BioSci. 2010. V. 4. P. 96–104.
30. *Yildizli A., Çevik S., Ünyayar S.* // Acta Physiol. Plant. 2018. V. 40. P. 122.
31. *Schmitt Fr.J., Renger G., Friedrich T., Kreslavski V.D., Zharmukhamedov S.K., Los D.A., Kuznetsov V.I., Al-lakhverdiev S.I.* // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1837. P. 835–848.
32. *Kumar V., Khare T., Sharma M., Wani S.H.* // Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress. / Ed. M.I.R. Khan, N.A. Khan. Singapore: Springer Nature, 2017. P. 179–184.
33. *Khare T., Kumar V., Kavi Kishor P.B.* // Protoplasma. 2015. V. 252. № 4. P. 1149–1165.
34. *Qureshi M.I., Abdin M.Z., Ahmad J., Iqbal M.* // Phytochemistry. 2013. V. 95. P. 215–223.
35. *Parida A.K., Das A.B.* // Ecotoxicol. Environ. Safety. 2005. V. 60. № @. P. 324–349.
36. *Радюкина Н.Л., Карташов А.В., Иванов Ю.В., Шевякова Н.И., Кузнецов В.В.* // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 6. С. 902–912.
37. *Vijayalakshmi T., Vijayakumar A.S., Kiranmai K., Nareshkumar A., Sudhakar C.* // Amer. J. Plant Sci. 2016. V. 7. P. 1802–1819.
38. *Yasar F., Uzal O., Yasar O.* // Fresenius Environ. Bull. 2016. V. 25. P. 37–42.
39. *Singh D., Roy B.K.* // Braz. J. Bot. 2016. V. 39. P. 67–76.
40. *Koleška I., Hasanagić D., Maksimović I., Bosančić B., Kukavica B.* // J. Plant Nutr. Soil Sci. 2017. V. 180. P. 105–112.
41. *Ahmad P., Jaleel C.A., Salem M.A., Nabi G., Sharma S.* // Crit. Rev. Biotechnol. 2010. V. 30. P. 161–175.
42. *Wan Y.Y., Chen S.Y., Huang Y.W.* // Sci. Hort. 2014. V. 173. P. 54–64.
43. *Yang C.M., Chang I.F., Lin S.J., Chou C.H.* // Bot. Bull. Acad. Sin. 2004. V. 45. P. 119–125.
44. *Hidangmayum A., Dwivedi P., Katiyar D., Heman-taranjan A.* // Physiol. Mol. Biol. Plants. 2019. V. 25. № 2. P. 313–326.

Growth Parameters and Antioxidant Activity in Cucumber Seedlings with Application of Chitosan and Hydroxycinnamic Acids Conjugates under Salt Stress

E. L. Nedved^{a, *}, J. N. Kalatskaja^a, I. A. Ovchinnikov^a, E. I. Rybinskaya^a, A. N. Kraskouski^b, V. V. Nikalaichuk^b, K. S. Hileuskaya^b, V. I. Kulikouskaya^b, V. E. Agabekov^b, and N. A. Laman^a

^a V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220072 Republic of Belarus

^b Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220141 Republic of Belarus
*e-mail: nedved_e@tut.by

Chitosan-ferulic and chitosan-caffeic acids conjugates with a ratio of 5:1 were synthesized by the modified carbodiimide method that allows to regulate the degree of acid cross-linking from 0.5 to 3.4%. The biological activity of the synthesized conjugates was studied in 7-day-old cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L.). A significant growth-stimulating effect of conjugates seed treatment was observed in stressful conditions of growing seedlings, in the absence of antioxidant status changes in comparison with control plants. The coordination effect of conjugates on the seedling organs growth under different growing conditions was established, which is manifested in an increase of the roots to shoot length ratio. Possible mechanisms of alleviate prolonged salinity-induced stress with chitosan and hydroxycinnamic acids conjugates seed treatment due to a decrease in the lipid peroxidation intensity in seedling cotyledons, stabilization of the proline level, and an increase in the total peroxidase activity were discussed.

Keywords: cucumber seedlings, NaCl salt stress, conjugates, chitosan, hydroxycinnamic acids, morphometric parameters, proline, lipid peroxidation, antioxidant activity