

<https://doi.org/10.15407/frg2020.05.401>

УДК 581.1:577.13

ВМІСТ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ У ПРОРОСТКАХ ТРИТИКАЛЕ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ ЗА УМОВ ХОЛОДОВОГО ЗАГАРТУВАННЯ

О.І. ГОРЕЛОВА¹, М.А. ШКЛЯРЕВСЬКИЙ¹, Ю.Є. КОЛУПАЄВ^{1,2}

¹Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
62483 Харків, п/в Докучаєвське-2

e-mail: plant_biology@ukr.net

²Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
61077 Харків, майдан Свободи, 4

Механізми низькотемпературної адаптації тритикале (*× Triticosecale* Wittm.) — міжродового гібриду, що поєднує високі продуктивність і морозостійкість, вивчені недостатньо. Зокрема відкритим залишається питання про внесок вторинних метаболітів у функціонування його антиоксидантної системи при формуванні морозостійкості. Досліджували динаміку загального вмісту фенольних сполук, флавоноїдів і окремо кількості антоціанів за умов холодного загартування (6 діб за температури 2–4 °С) проростків сортів з різною морозостійкістю: Букет і Раритет (озимі високоморозостійкі) та Олександра (озимий неморозостійкий) і Підзимок харківський (неморозостійкий, що належить до «дворучок»). Вміст фенольних сполук у незагартованих проростків різних генотипів відрізнявся мало, лише у сорту Підзимок харківський був дещо нижчим порівняно з іншими дослідженими генотипами. Загартування приводило до невеликого збільшення сумарного вмісту фенольних сполук в усіх досліджених сортах. Загальна кількість флавоноїдів у незагартованих проростків різних генотипів відрізнялася слабо. В результаті шестидобового загартування вміст флавоноїдів зростав у проростках усіх досліджених сортів в 1,7–1,9 раза, при цьому істотних сортових відмінностей не виявлено. Вміст антоціанів у незагартованих проростках різних сортів відрізнявся: найвищим він був у сорту Букет, найнижчим — у сорту Підзимок харківський. У процесі холодного загартування він підвищувався і досягав приблизно однакових значень у сортів Букет, Раритет і Олександра, а в найменш морозостійкого сорту Підзимок харківський цей показник був значно нижчим. Зроблено висновок про внесок антоціанів, але не вторинних метаболітів у цілому, у формування морозостійкості проростків тритикале та систему антиоксидантного захисту за низьких температур.

Ключові слова: *× Triticosecale*, морозостійкість, холодове загартування, фенольні сполуки, флавоноїди, антоціани, антиоксидантна система.

Нині тритикале використовують у світі не лише як харчову, а й як біоенергетичну культуру [1]. Його сучасні озимі сорти можуть перевершувати сорти пшениці як за морозостійкістю, так і за продук-

Цитування: Горелова О.І., Шкляревський М.А., Колупаєв Ю.Є. Вміст вторинних метаболітів у проростках тритикале різних генотипів за умов холодного загартування. *Фізіологія рослин і генетика*. 2020. 52, № 5. С. 401–411. <https://doi.org/10.15407/frg2020.05.401>

тивністю [2, 3]. Водночас не всі його генотипи достатньо стійкі до мінусових температур [4]. Зважаючи на це, дослідження особливостей формування морозостійкості тритикале та пошук фізіолого-біохімічних маркерів його резистентності є актуальними.

За дії на рослини низьких температур через підвищення в'язкості мембран створюються передумови для спонтанного генерування активних форм кисню (АФК), передусім у внутрішніх мембранах хлоропластів і мітохондрій [5]. Через це окиснювальний стрес (порушення балансу між утворенням та знешкодженням АФК і тонких механізмів редокс-регуляції) вважають однією з причин низькотемпературних пошкоджень рослин, а компоненти антиоксидантної системи розглядають як можливі маркери морозостійкості [6, 7]. Отримано відомості про зв'язки між активністю ключових антиоксидантних ферментів, вмістом низькомолекулярних антиоксидантів і морозостійкістю озимих злаків [8–11], хоча такі залежності є неоднозначними і виявляються лише за певних умов. Частіше вони характерні для рослин, що зазнали впливу загартовувальних температур [11]. При цьому внесок окремих складових антиоксидантного захисту у властивість морозостійкості залежить від видових особливостей. Зокрема показано, що вища порівняно з пшеницею морозостійкість жита може бути зумовлена збільшеним вмістом низькомолекулярних як первинних, так і вторинних метаболітів із протекторними властивостями, наприклад проліну та антоціанів [11, 12].

Відомо, що вторинні метаболіти, перш за все поліфенольні сполуки, відрізняються високою антиоксидантною активністю [13]. Особливо активними антиоксидантами вважають флавоноїди, фенольний каркас яких складається з 15 атомів вуглецю, що утворюють два ароматичні кільця, з'єднані через три вуглецеві атоми (рис. 1). Належність флавоноїдів до конкретних класів і до певної міри їх антиоксидантна активність визначаються особливостями структури молекул біля атомів вуглецю 2, 3 і 4 в межах гетероциклічного кільця С [14] (див. рис. 1).

Незважаючи на інтерес до вторинних метаболітів як сполук з антиоксидантною і мембранопротекторною активністю, їх роль у стійкості рослин до гіпотермії досліджена недостатньо. Показано, що при зниженні температури у рослин сорго індукувався синтез антоціанів [15]. У листках рослин кукурудзи вміст антоціанів також підвищувався не тільки за стресових температур, а й за відносно невеликого відхилення температури від оптимальної [16, 17].

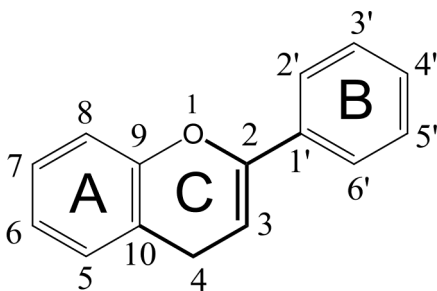


Рис. 1. Загальна формула флавоноїду

За таких умов посилювалась експресія генів фенілаланінамонійліази та інших ферментів, залучених до синтезу флавоноїдів [16]. Холодове загартування проростків пшениці спричинювало транзиторне підвищення активності фенілаланінамонійліази, що передувало зростанню загального вмісту флавоноїдів і кількості антоціанів [18]. Порівняння

вмісту антоціанів і безбарвних флавоноїдних сполук в етіюльованих проростках жита, тритикале і пшениці показало, що для тритикале як за звичайних умов, так і при загартуванні, характерний значно вищий порівняно з пшеницею, проте нижчий, ніж у жита вміст флавоноїдних сполук [19]. Водночас значення флавоноїдних сполук у прояві властивості морозостійкості тритикале різних генотипів досі залишалося недослідженим.

Метою роботи було дослідження загального вмісту фенольних сполук, флавоноїдів і окремо кількості антоціанів за умов холодowego загартування проростків сортів тритикале з різною морозостійкістю.

Методика

Відомо, що морозостійкість етіюльованих проростків значно нижча від морозостійкості дорослих злаків. Однак видові й сортові відмінності добре виявляються і в проростках, що дає змогу використовувати їх у порівняльних дослідженнях [11]. Для досліджень використовували сорти тритикале селекції Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України з різною морозостійкістю: Букет і Раритет (озимі високоморозостійкі) та Олександра (озимий неморозостійкий) і Підзмок харківський (неморозостійкий, що належить до так званих дворучок). Насіння поверхнево знезаражували протягом 40 хв у 6 %-му розчині пероксиду водню і пророщували за 20–22 °С в темряві у чашках Петрі на фільтрувальному папері, змоченому очищеною водопровідною водою.

Для холодowego загартовування 3-добові проростки вміщували на 6 діб у холодильну камеру Danfoss (Нідерланди) із температурою 2–4 °С (без освітлення). Оптимальний режим загартування був встановлений раніше [11, 12]. Для порівняння використовували 4-добові етіюльовані проростки, не піддані загартуванню. Оскільки за низької температури розвиток проростків уповільнювався, 9-добові загартовані рослини були такими самими, як і 4-добові контрольні, вирощені за 20–22 °С.

Проростки піддавали проморожуванню за відсутності світла й заданих температур (див. нижче) протягом 6 год, знижуючи температуру зі швидкістю 1 град/год. Для відтавання проростків температуру в камері підвищували до 2 °С зі швидкістю 1 град/год. Після цього проростки відрощували протягом 3 діб за 20–22 °С й освітленості 6 клк та оцінювали їх виживаність.

Через 2 і 6 діб від початку впливу загартувальної температури у проростках визначали вміст вторинних метаболітів.

Загальну кількість фенольних сполук у проростках визначали за допомогою реактиву Фоліна [20]. Наважку рослинного матеріалу розтирали в 6 мл 70 %-го етанолу, залишали для екстрагування на 20 хв при кімнатній температурі, після чого фільтрували. В пробірку вносили 0,5 мл фільтрату, 7 мл дистильованої води, 0,5 мл реактиву Фоліна, перемішували, через 3 хв добавляли 1 мл 10 %-го карбонату натрію і доливали водою до 10 мл. Через 1 год вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 725 нм. Вміст фенольних сполук виражали у мікромолях хлорогенової кислоти на 1 г сухої речовини.

Вживаність проростків тритикале після проморожування, %

Сорт	Температура проморожування	
	-7 °С	-9 °С
Без загартування		
Букет	2,1±1,1	—
Раритет	1,5±0,8	—
Олександра	0,0	—
Підзимок харківський	0,0	—
Після загартування		
Букет	54,3±2,1	5,2±0,4
Раритет	52,3±1,7	4,0±0,4
Олександра	26,6±2,2	2,3±0,3
Підзимок харківський	14,8±1,7	2,2±0,4

Примітка. Прочерк означає відсутність визначень.

Загальний вміст флавоноїдів, як і фенольних сполук, аналізували в спиртових екстрактах за утворенням комплексу з іонами алюмінію [21]. Екстракт змішували з 1 %-м розчином $AlCl_3$ у 95 %-му етанолі в пропорції 1 : 1 і через 40 хв визначали його оптичну густина за довжини хвилі 414 нм. Як стандарт використовували рутин. Вміст флавоноїдів виражали в мікромолях рутину на 1 г сухої речовини.

Для визначення вмісту антоціанів наважки пагонів гомогенізували в 1 %-му розчині HCl у метанолі. Після центрифугування гомогенату при 8000 g протягом 15 хв визначали оптичну густина супернатанту за довжини хвилі 530 нм [22]. Вміст антоціанів виражали в мікромолях ціанідин-3-глюкозиду на 1 г сухої речовини.

Досліди проводили у чотириразовому біологічному повторенні і відтворювали незалежно тричі. На рисунках і в таблиці наведено усереднені величини та їхні стандартні похибки. Крім окремо зазначених випадків обговорено відмінності, вірогідні за $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення

Проростки досліджуваних сортів тритикале практично не виявляли конститутивної морозостійкості. Вживаність зразків сортів Букет і Раритет після 6-годинного проморожування за температури -7 °С становила близько 2 %, а проростки сортів Олександра і Підзимок харківський гинули повністю (таблиця).

Після проморожування загартованих проростків при -7 °С виживало понад 50 % зразків високоморозостійких сортів Букет і Раритет. Сорт Олександра виявляв нижчу стійкість, найнижчою (до 15 %) була вживаність проростків сорту Підзимок харківський. Після впливу температури -9 °С вживаність загартованих проростків була дуже низькою, хоча сортові відмінності зберігалися (див. таблицю).

Базовий сумарний вміст фенольних сполук у проростках різних генотипів тритикале не відрізнявся (рис. 2). Дещо нижчим він був у найменш стійкого сорту Підзимок харківський, проте ця відмінність

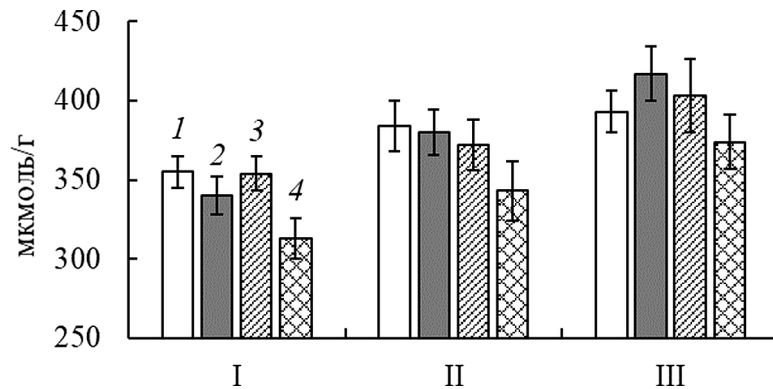


Рис. 2. Зміна вмісту фенольних сполук (мкмоль хлорогенової кислоти/г сухої речовини) у проростках тритикале в процесі холодного загартування. Тут і на рис. 3, 4:

I — без загартування; II, III — відповідно через 2 і 6 діб загартування за температури 2–4 °С; 1 — Букет; 2 — Раритет; 3 — Олександра; 4 — Підзимок харківський

від інших сортів не була вірогідною за $p \leq 0,05$. У процесі загартування виявлялася тенденція до зростання вмісту фенольних сполук у проростках, однак цей ефект для всіх досліджених сортів був вірогідним лише за $p \leq 0,1$. Відмінності між окремими сортами за вмістом фенольних сполук після загартування також не були значущими (див. рис. 2).

Сумарний вміст флавоноїдів у незагартованих проростках різних генотипів істотно не відрізнявся (рис. 3). Через 2 доби впливу загартувальної температури їх кількість змінювалася мало, проте через 6 діб загартування загальний вміст флавоноїдів у проростках усіх досліджуваних сортів зростав в 1,7–1,9 раза. При цьому вірогідних сортових відмінностей не виявлено.

Вміст антоціанів у проростках різних генотипів за звичайних умов відрізнявся, найвищим він був у сорту Букет (рис. 4). Через 2 доби загартування цей показник вірогідно зростав у всіх чотирьох сортів. При цьому морозостійкі сорти Букет і Раритет відрізнялися істотно вищим вмістом антоціанів порівняно з нестійкими сортами Олександра і Підзимок харківський. Триваліше загартування приво-

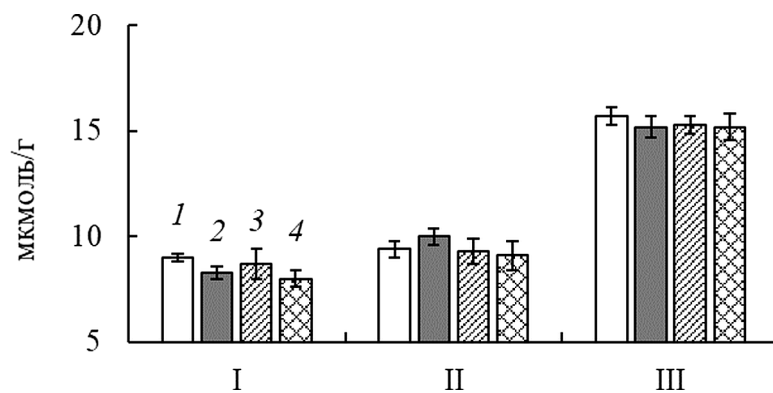


Рис. 3. Зміна вмісту флавоноїдів (мкмоль рутину/г сухої речовини) у проростках тритикале в процесі холодного загартування

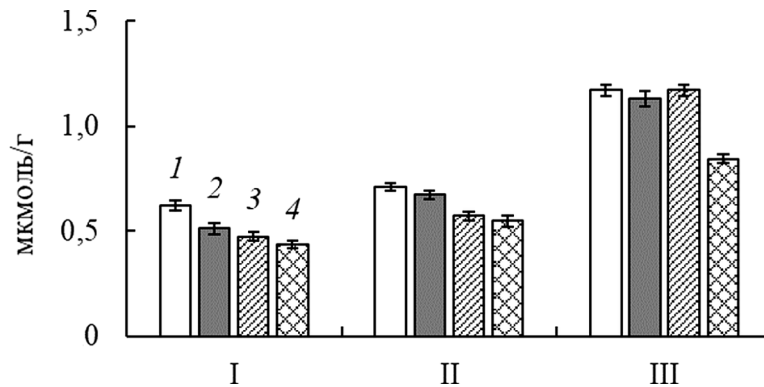


Рис. 4. Зміна вмісту антоціанів (мкмоль ціанідину/г сухої речовини) у проростках тритикале в процесі холодного загартування

діло до подальшого зростання вмісту антоціанів у проростках усіх досліджуваних сортів. Водночас абсолютні величини у найменш стійкого сорту Підзимок харківський були помітно нижчими порівняно з трьома іншими сортами (див. рис. 4).

Отже, в цілому вторинний метаболізм задіяний у формуванні морозостійкості проростків тритикале. При цьому сумарний вміст фенольних сполук, який визначають за їх взаємодією з реактивом Фоліна, в процесі загартування збільшувався мало, сортових відмінностей за цим показником також не виявлено (див. рис. 2). Значно помітнішими в процесі загартування проростків були зміни загального вмісту флавоноїдів (див. рис. 3), однак зростання цього показника під час загартування майже не залежало від морозостійкості сортів. Можна вважати, що флавоноїди причетні до формування стійкості проростків тритикале до кріостресу. Раніше на ідентичному модельному об'єкті (етіологованих проростках) було встановлено зростання сумарного вмісту флавоноїдів у пшениці [18] і жита [23]. Слід зауважити, що у тритикале виявлено значне зростання вмісту флавоноїдів за дії УФ-В [24]. У рослин цього виду встановлено також збільшення вмісту окремих флавоноїдів у відповідь на атаку *Sitobion avenae* й *Oulema melanopus* [25]. Припускають, що ці сполуки можуть бути важливими для запобігання надмірному окиснювальному стресу за дії не лише абіотичних, а й біотичних чинників. Ймовірно накопичення флавоноїдів є процесом, характерним для різних груп злаків, особливо при адаптації до дії стресорів різної природи [25].

Водночас за оцінювання зміни вмісту флавоноїдних сполук у злаків різних видів і сортів слід враховувати надзвичайну різноманітність флавоноїдних сполук, які відрізняються за антиоксидантною активністю. Не виключено, що сортові відмінності у тритикале можуть бути виявлені при визначенні лише певних флавоноїдних сполук, а не сумарного їх вмісту. Зокрема в наших експериментах виявлено накопичення проростками тритикале антоціанів (див. рис. 4). При цьому навіть у незагартованих проростків тритикале виявлялися сортові відмінності. Найпомітнішими вони були через 2 доби від початку загартування, коли вміст антоціанів у морозостійких сортів Букет і Раритет істотно перевищував такий у нестійких Олександра і

Підзимок харківський. За тривалішого загартування ці відмінності частково нівелювалися, хоча для найменш стійкого сорту був характерний найнижчий вміст антоціанів. Отже, ймовірно антоціани є одними з найважливіших вторинних метаболітів для процесу холододового загартування тритикале, а можливо й інших злаків. Примітно, що саме антоціани мають вкрай високу антиоксидантну активність і здатні ефективно деактивувати супероксидні аніон-радикали [26]. Вважають, що оцінена за різними способами антиоксидантна активність антоціанів у кілька разів перевершує ефекти аскорбінової кислоти [27].

Отже, є підстави дійти висновку про певний внесок антоціанів і, можливо, інших флавоноїдів, але не вторинних метаболітів загалом, у процесі холододової адаптації тритикале. Водночас слід наголосити, що між поодинокими показниками функціонування антиоксидантної системи і морозостійкістю навряд чи можливий тісний зв'язок. Антиоксидантна система рослин складається з великої кількості ферментативних і низькомолекулярних компонентів. Антиоксидантні властивості має і низка речовин, які не вважають класичними антиоксидантами, але вони також задіяні у запобіганні окиснювальним пошкодженням і накопичуються при холододовому загартуванні злаків у великих кількостях, передусім пролін і цукри [11, 28]. При цьому всі перелічені компоненти антиоксидантної системи функціонально взаємодіють з прооксидантами і між собою [29]. Зауважимо, що раніше нам вдалося встановити тісний зв'язок між середніми нормованими величинами антиоксидантної активності, які вираховувалися за показниками семи ферментативних і низькомолекулярних складових антиоксидантної системи, і морозостійкістю досліджуваних сортів тритикале [30]. Для скринінгу морозостійких генотипів практично цікавим може бути встановлення певного мінімуму ферментативних і неферментативних складових антиоксидантної системи, що їх як інтегральний показник можна тісно пов'язати з морозостійкістю. Вміст антоціанів, ймовірно, може бути однією зі складових такого показника.

Автори вважають своїм приємним обов'язком щиро подякувати доктору сільськогосподарських наук Н.І. Рябчун (Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України) за допомогу у виборі сортів для досліджень і визначенні їх морозостійкості.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. McGoverin C.M., Snyders F., Muller N., Botes W., Fox G., Manley M. A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. *J. Sci. Food Agric.* 2011. **91**. P. 1155—1165. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4338>
2. Рибалка О.І., Моргун В.В., Моргун Б.В., Починок В.М. Агрономічний потенціал і перспективи тритикале. *Фізіологія рослин і генетика*. 2015. **47**, № 2. С. 95—111.
3. Arseniuk E. Triticale abiotic stresses — an overview. *Triticale*. F. Eudes (ed.). Switzerland: Springer International Publishing. 2015. P. 69—80. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22551-7_4
4. Tshewang S., Jessop R., Birchall C. Effect of frost on triticale and wheat varieties at flowering in the north eastern Australian cereal belt. *Cereal Res. Commun.* 2017. **45**. P. 655—664. <https://doi.org/10.1556/0806.45.2017.042>

5. Awasthi R., Bhandari K., Nayyar H. Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops. *Front. Environ. Sci.* 2015. 3:11. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00011>
6. Klykov A.G., Moiseenko L.M., Chaikina Ye.L., Anisimov M.M., Bogdan P.M. Comparative analysis of different genotypes of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) on flavonoids content in conditions of Primorsky Krai. *Rus. Agricult. Sci.* 2015. **41**. P. 305–308. <https://doi.org/10.3103/S1068367415050092>
7. Janeczko A., Dziurka M., Pocięcha E. Increased leaf tocopherol and β -carotene content is associated with the tolerance of winter wheat cultivars to frost. *J. Agro Crop Sci.* 2018. **204** (6). P. 594–602. <https://doi.org/10.1111/jac.12287>
8. Janda T., Szalai G., Lesky K., Yordanova R., Apostol S., Popova L.P. Factors contributing to enhanced freezing tolerance in wheat during frost hardening in the light. *Phytochem.* 2007. **68**. P. 1674–1682. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.04.012>
9. Apostolova P., Yordanova R., Popova L. Response of antioxidative defence system to low temperature stress in two wheat cultivars. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 2008. **34**. P. 281–294.
10. Майор П.С., Захарова В.П., Великожон Л.Г. Активність деяких антиоксидантних ферментів у рослинах озимої пшениці у природних умовах загартування. *Фізіологія і біохімія культ. растений.* 2011. **43**, № 6. С. 507–512.
11. Kolupaev Yu.E., Ryabchun N.I., Vayner A.A., Yastreb T.O., Oboznyi A.I. Antioxidant enzyme activity and osmolyte content in winter cereal seedlings under hardening and cryostress. *Rus. J. Plant Physiol.* 2015. **62** (4). P. 499–506. <https://doi.org/10.1134/S1021443715030115>
12. Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O., Oboznyi A.I., Ryabchun N.I., Kirichenko V.V. Constitutive and cold-induced resistance of rye and wheat seedlings to oxidative stress. *Rus. J. Plant Physiol.* 2016. **63** (3). P. 346–358. <https://doi.org/10.1134/S1021443716030067>
13. Olenichenko N.A., Zagoskina N.V., Astakhova N.V., Trunova T.I., Kuznetsov Yu.V. Primary and secondary metabolism of winter wheat under cold hardening and treatment with antioxidants. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2008. **44** (5). P. 535–540. <https://doi.org/10.1134/S0003683808050141>
14. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино: Synchronbook, 2013. 312 с.
15. Shichijo C., Hamada T., Hiraoka M., Johnson C.B., Hashimoto T. Enhancement of red-light-induced anthocyanin synthesis in sorghum first internodes by moderate low temperature given in the pre-irradiation culture period. *Planta.* 1993. **191**. P. 238–245. <https://doi.org/10.1007/BF00199755>
16. Christie P.J., Alfenito M.R., Walbot V. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta.* 1994. **194**. P. 541–549. <https://doi.org/10.1007/BF00714468>
17. Pietrini F., Massacci A. Leaf anthocyanin content changes in *Zea mays* L. grown at low temperature: significance for the relationship between the quantum yield of PS II and the apparent quantum yield of CO₂ assimilation. *Photosynthesis Res.* 1998. **58**. P. 213–219. <https://doi.org/10.1023/A:1006152610137>
18. Kolupaev Yu.E., Horielova E.I., Yastreb T.O., Popov Yu.V., Ryabchun N.I. Phenylalanine ammonia-lyase activity and content of flavonoid compounds in wheat seedlings at the action of hypothermia and hydrogen sulfide donor. *Ukr. Biochem. J.* 2018. **90** (6). P. 12–20. <https://doi.org/10.15407/ubj90.06.012>
19. Горелова Е.И., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В., Попов Ю.В., Шкляревский М.А., Рябчун Н.И. Конститутивная и индуцированная холодным закаливанием антиоксидантная активность проростков озимых злаков. *Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія.* 2018. Вип. 2 (44). С. 59–68.
20. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования. *Биохимические методы в физиологии растений.* О.А. Павлинова (ред.). Москва: Наука, 1971. С. 185–207.
21. da Silva L.A.L., Pezzini B.R., Soares L. Spectrophotometric determination of the total flavonoid content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) leaves. *Pharmacogn. Mag.* 2015. **11** (41). P. 96–101. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.149721>
22. Navaux M., Kloppstech K. The protective functions of carotenoid and flavonoids pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis*

- nrq and tt mutants. *Planta*. 2001. **213**. P. 953–966. <https://doi.org/10.1007/s004250100572>
23. Горелова Е.И., Швиденко Н.В., Рябчун Н.И., Колупаев Ю.Е. Вторичный метаболизм проростков *Secale cereale* при действии донора сероводорода и холодового закаливания. *Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія*. 2018. Вип. 3 (45). С. 94–100.
 24. Skyrnska E., Szwarc W. Influence of UV-B radiation on young triticale plants with different wax cover. *Biol. Plant*. 2007. **51** (1). P. 189–192. <https://doi.org/10.1007/s10535-007-0038-4>
 25. Czerniewicz P., Sytykiewicz H., Durak R., Borowiak-Sobkowiak B., Chrzanowski G. Role of phenolic compounds during antioxidative responses of winter ritalc to aphid and beetle attack. *Plant Physiol. Biochem*. 2017. **118**. P. 529–540. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.024>
 26. Neill S.O., Gould K.S. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Functional Plant Biol*. 2003. **30**. P. 865–873. <https://doi.org/10.1071/fp03118>
 27. Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Res. Commun*. 2013. **41**. P. 185–198. <https://doi.org/10.1556/CRC.2013.0004>
 28. Моргун В.В., Майор П.С. Зимо- і морозостійкість озимих злакових культур. *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку*. Київ: Логос, 2009. Т. 2. С. 105–165.
 29. Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Kabashnikova L.F. Antioxidative system of plants: cellular compartmentation, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (Review). *Appl. Biochem. Microbiol*. 2019. **55** (5). P. 441–459. <https://doi.org/10.1134/S0003683819050089>
 30. Kolupaev Yu.E., Horielova E.I., Yastreb T.O., Ryabchun N.I. State of antioxidant system in triticale seedlings at cold hardening of varieties of different frost resistance. *Cereal Res. Commun*. 2020. **48** (2). P. 165–171. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00022-3>

Отримано 03.07.2020

REFERENCES

1. McGoverin, C.M., Snyders, F., Muller, N., Botes, W., Fox, G. & Manley, M. (2011). A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. *J. Sci. Food Agric.*, 91, pp. 1155-65. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4338>
2. Rybalka, O.I., Morgun, V.V., Morgun, B.V. & Pochynok, V.M. (2015). Agronomic potential and perspectives of triticale. *Fiziol. rast. genet.*, 47 (2), pp. 95-111 [in Ukrainian].
3. Arseniuk, E. (2015). Triticale abiotic stresses — an overview. *Triticale*. F. Eudes (ed.). Switzerland: Springer International Publishing, pp. 69-80. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22551-7_4
4. Tshewang, S., Jessop, R. & Birchall, C. (2017). Effect of frost on triticale and wheat varieties at flowering in the north eastern Australian cereal belt. *Cereal Res. Commun.*, 45, pp. 655-664. <https://doi.org/10.1556/0806.45.2017.042>
5. Awasthi, R., Bhandari, K. & Nayyar, H. (2015). Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops. *Front. Environ. Sci.*, 3:11. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00011>
6. Klykov, A.G., Moiseenko, L.M., Chaikina, Ye.L., Anisimov, M.M. & Bogdan, P.M. (2015). Comparative analysis of different genotypes of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) on flavonoids content in conditions of Primorsky Krai, Russ. *Agricult. Sci.*, 41, pp. 305-308. <https://doi.org/10.3103/S1068367415050092>
7. Janeczko, A., Dziurka, M. & Pocięcha, E. (2018). Increased leaf tocopherol and β -carotene content is associated with the tolerance of winter wheat cultivars to frost. *J. Agro Crop Sci.*, 204 (6), pp. 594-602. <https://doi.org/10.1111/jac.12287>
8. Janda, T., Szalai, G., Lesky, K., Yordanova, R., Apostol, S. & Popova, L.P. (2007). Factors contributing to enhanced freezing tolerance in wheat during frost hardening in the light. *Phytochem.*, 68, pp. 1674-1682. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.04.012>
9. Apostolova, P., Yordanova, R. & Popova, L. (2008). Response of antioxidative defence system to low temperature stress in two wheat cultivars. *Gen. Appl. Plant Physiol.*, 34, pp. 281-294.

10. Major, P.S., Zakharova, V.P. & Velykozhon, L.G. (2011). Activity of some antioxidant enzymes in wheat plants under natural conditions of hardening. *Fiziol. i Biokhim. Kult. Rast.*, 43 (6), pp. 507-512 [in Ukrainian].
11. Kolupaev, Yu.E., Ryabchun, N.I., Vayner, A.A., Yastreb, T.O. & Oboznyi, A.I. (2015). Antioxidant enzyme activity and osmolyte content in winter cereal seedlings under hardening and cryostress. *Russ. J. Plant Physiol.*, 62 (4), pp. 499-506. <https://doi.org/10.1134/S1021443715030115>
12. Kolupaev, Yu.E., Yastreb, T.O., Oboznyi, A.I., Ryabchun, N.I. & Kirichenko, V.V. (2016). Constitutive and cold-induced resistance of rye and wheat seedlings to oxidative stress. *Rus. J. Plant Physiol.*, 63 (3), pp. 346-358. <https://doi.org/10.1134/S1021443716030067>
13. Olenichenko, N.A., Zagoskina, N.V., Astakhova, N.V., Trunova, T.I. & Kuznetsov, Yu.V. (2008). Primary and secondary metabolism of winter wheat under cold hardening and treatment with antioxidants. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 44 (5), pp. 535-540. <https://doi.org/10.1134/S0003683808050141>
14. Tarakhovkii, Yu.S., Kim, Yu.A., Abdrasilov, B.S. & Muzafarov, E.N. (2013). *Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine*. Puschino: Synchrobook [in Russian].
15. Shichijo, C., Hamada, T., Hiraoka, M., Johnson, C.B. & Hashimoto, T. (1993). Enhancement of red-light-induced anthocyanin synthesis in sorghum first internodes by moderate low temperature given in the pre-irradiation culture period. *Planta*, 191, pp. 238-245. <https://doi.org/10.1007/BF00199755>
16. Christie, P.J., Alfenito, M.R. & Walbot, V. (1994). Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta*, 194, pp. 541-549. <https://doi.org/10.1007/BF00714468>
17. Pietrini, F. & Massacci, A. (1998). Leaf anthocyanin content changes in *Zea mays* L. grown at low temperature: significance for the relationship between the quantum yield of PS II and the apparent quantum yield of CO₂ assimilation. *Photosynthesis Res.*, 58, pp. 213-219. <https://doi.org/10.1023/A:1006152610137>
18. Kolupaev, Yu.E., Horielova, E.I., Yastreb, T.O., Popov, Yu.V. & Ryabchun, N.I. (2018). Phenylalanine ammonia-lyase activity and content of flavonoid compounds in wheat seedlings at the action of hypothermia and hydrogen sulfide donor. *Ukr. Biochem. J.*, 90 (6), pp. 12-20. <https://doi.org/10.15407/ubj90.06.012>
19. Gorelova, E.I., Kolupaev, Yu.E., Yastreb, T.O., Shvidenko, N.V., Popov, Yu.V., Shklyarevskiy, M.A. & Ryabchun, N.I. (2018). Constitutive and induced by cold hardening antioxidant activity in seedlings of winter cereals. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.*, 2 (44), pp. 59-68. <https://doi.org/10.35550/vbio2018.02.059> [in Russian].
20. Zaprometov, M.N. (1971). Phenolic compounds and methods of their investigation. *Biochemical Methods in Plant Physiology*. Pavlinova, O.A. (ed.). Moscow: Nauka [in Russian].
21. da Silva, L.A.L., Pezzini, B.R. & Soares, L. (2015). Spectrophotometric determination of the total flavonoid content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) leaves. *Pharmacogn Mag.*, 11 (41), pp. 96-101. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.149721>
22. Havaux, M. & Kloppstech, K. (2001). The protective functions of carotenoid and flavonoids pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis* npq and tt mutants. *Planta*, 213, pp. 953-966. <https://doi.org/10.1007/s004250100572>
23. Horielova, E.I., Shvydenko, N.V., Ryabchun, N.I. & Kolupaev, Yu.E. (2018). Secondary metabolism in *Secale cereale* seedlings at action of hydrogen sulfide donor and cold hardening. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.*, 3 (45), pp. 94-100. <https://doi.org/10.35550/vbio2018.03.094> [in Russian].
24. Skyraska, E. & Szwarz, W. (2007). Influence of UV-B radiation on young triticale plants with different wax cover. *Biol. Plant.*, 51 (1), pp. 189-192. <https://doi.org/10.1007/s10535-007-0038-4>
25. Czerniewicz, P., Sytykiewicz, H., Durak, R., Borowiak-Sobkowiak, B. & Chrzanowski, G. (2017). Role of phenolic compounds during antioxidative responses of winter triticale to aphid and beetle attack. *Plant Physiol. Biochem.*, 118, pp. 529-540. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.024>

26. Neill, S.O. & Gould, K.S. (2003). Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Functional Plant Biol.*, 30, pp. 865-873. <https://doi.org/10.1071/fp03118>
27. Khlestkina, E.K. (2013). The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Res. Commun.*, 41, pp. 185-198. <https://doi.org/10.1556/CRC.2013.0004>
28. Morgun, V.V. & Major, P.S. (2009). Winter and frost resistance of winter cereals. *Plant Physiology: Problems and Prospects for Development*, vol. 2. Kyiv: Logos [in Ukrainian].
29. Kolupaev, Yu.E., Karpets, Yu.V. & Kabashnikova, L.F. (2019). Antioxidative system of plants: cellular compartmentation, protective and signaling functions, mechanisms of regulation (Review). *Appl. Biochem. Microbiol.*, 55 (5), pp. 441-459. <https://doi.org/10.1134/S0003683819050089>
30. Kolupaev, Yu.E., Horielova, E.I., Yastreba, T.O. & Ryabchun, N.I. (2020). State of antioxidant system in triticale seedlings at cold hardening of varieties of different frost resistance. *Cereal Res. Commun.*, 48 (2), pp. 165-171. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00022-3>

Received 03.07.2020

THE CONTENT OF SECONDARY METABOLITES IN TRITICALE SEEDLINGS OF DIFFERENT GENOTYPES UNDER COLD HARDENING CONDITIONS

E.I. Horielova¹, M.A. Shkliarevskiy¹, Yu.E. Kolupaev^{1,2}

¹V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University

Dokuchaevske-2, Kharkiv, 62483, Ukraine

e-mail: plant_biology@ukr.net

²V.N. Karazin Kharkiv National University

4 Svobody Square, Kharkiv, 61077, Ukraine

The mechanisms of low-temperature adaptation of triticale (*× Triticosecale* Wittm.), an intergeneric hybrid that combining high productivity and frost resistance, are not well understood. In particular, the question remains open about the contribution of secondary metabolites to the functioning of its antioxidant system during the formation of frost resistance. The dynamics of the total content of phenolic compounds, flavonoids, and separately the amount of anthocyanins under cold hardening conditions (6 days at temperature of 2–4 °C) of seedlings of varieties with different frost resistance: Buket and Raritet (winter, high-frost-resistant), and Alexandra (winter, notfrost-resistant) and Pidzymok Kharkivskiy (facultative, less resistant) were studied. The content of phenolic compounds in non-hardened seedlings of various genotypes differed slightly, only in the Pidzymok Kharkivskiy variety was slightly lower compared with other studied genotypes. Hardening caused a slight increase in the total content of phenolic compounds in all studied varieties. The total amount of flavonoids in non-hardened seedlings of various genotypes differed slightly. Six-day hardening led to an increase in the content of flavonoids in the seedlings of all studied varieties by 1.7–1.9 times, with no significant differences between varieties. The content of anthocyanins in the non-hardened seedlings of various varieties was different: it was the highest for the Buket variety, and the lowest for the Pidzymok Kharkivskiy variety. During the process of cold hardening, it was increasing and had reached approximately the same values in the varieties Buket, Raritet and Alexandra, however, in the least frost-resistant variety Pidzymok Kharkivskiy this index was significantly lower. The conclusion about the contribution of anthocyanins, but not secondary metabolites in general, to the formation of frost resistance of triticale seedlings and the antioxidant defense system at low temperatures was made.

Key words: *× Triticosecale*, frost resistance, cold hardening, phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins, antioxidant system.