

УДК 577.355.3

ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ ЯЧМЕНЯ СОРТА БРОВАР¹

Т. Г. КАЛЯГА¹), Н. В. КОЗЕЛ¹)

¹)Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Установлено существенное влияние почвенной засухи на морфометрические параметры листьев ячменя сорта Бровар, а также содержание в них фотосинтетических пигментов – хлорофилла и каротиноидов. Однако вызванные засухой значительное ухудшение ростовых показателей растений, снижение концентрации хлорофилла и в особенности каротиноидов происходили в отсутствие изменения уровня феофитина. Высказано предположение, что уменьшение количества пигментов связано в основном не с деструкцией в результате стресса, а с подавлением их синтеза, что может быть адаптационной реакцией растений, позволяющей минимизировать вероятность образования активных форм кислорода в фотосинтетических мембранах при недостатке влаги, а также оптимизировать в данных условиях использование энергии света для фотосинтетических процессов, на что указывает преимущественное снижение таких каротиноидов, как неоксантин, виолаксантин и β-каротин, активно участвующих в светосборе и передаче энергии на реакционные центры.

Ключевые слова: почвенная засуха; абиотический стресс; фотосинтез; фотосинтетические пигменты; хлорофилл; каротиноиды; феофитин; ячмень.

THE EFFECT OF SOIL DROUGHT ON THE CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN BARLEY PLANTS OF THE BROVAR VARIETY

T. G. KALIAHA^a, N. V. KOZEL^a

^aInstitute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: T. G. Kaliaha (t_kalyaga@mail.ru)

A significant effect of soil drought on the morphometric parameters of the leaves of barley plants of the Brovar variety, as well as the content of photosynthetic pigments (chlorophyll, carotenoids) in them was established. However,

¹Материал статьи представлен в виде доклада на Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем», проводившейся в рамках XIV съезда Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков (Минск, 17–19 июня 2020 г.).

Образец цитирования:

Каляга ТГ, Козел НВ. Влияние почвенной засухи на содержание фотосинтетических пигментов в растениях ячменя сорта Бровар. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2020;3:46–53.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2020-3-46-53>

For citation:

Kaliaha TG, Kozel NV. The effect of soil drought on the content of photosynthetic pigments in barley plants of the Brovar variety. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2020; 3:46–53. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2020-3-46-53>

Авторы:

Татьяна Геннадьевна Каляга – младший научный сотрудник лаборатории биофизики и биохимии растительной клетки.

Николай Владимирович Козел – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией биофизики и биохимии растительной клетки.

Authors:

Tatsiana G. Kaliaha, junior researcher at the laboratory of biophysics and biochemistry of plant cells.
t_kalyaga@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7727-3451>
Nikolay V. Kozel, PhD (biology); head of the laboratory of biophysics and biochemistry of plant cells.
koz.el.mikalai@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2958-7645>

a significant decrease in plant growth indicators under drought conditions, a decrease in the amount of chlorophyll and, to a greater extent, carotenoids occurred against the background of the absence of a change in the content of pheophytin. We assume that the decrease in the number of pigments is mainly associated not with destruction due to stress, but with a decrease in their synthesis, which can be an adaptive reaction of plants, which minimizes the likelihood of formation of reactive oxygen species in photosynthetic membranes under conditions of drought, and also optimizes the use of light energy for photosynthetic processes under such conditions, as indicated by the predominant decrease in carotenoids such as neoxanthin, violaxanthin and β -carotene, which are actively involved in light harvesting and energy transfer to reaction centers.

Keywords: soil drought; abiotic stress; photosynthesis; photosynthetic pigments; chlorophyll; carotenoids; pheophytin; barley.

Введение

Стрессовые условия, такие как засоление, засуха и высокая температура (жара), вызывают значительные изменения в протекании важных физиолого-биохимических процессов в растительном организме. Фотосинтез, как одно из фундаментальных и наиболее сложных физиологических явлений у всех растений, также подвергается сильному воздействию стрессовых факторов, в результате чего изменяется ультраструктура органелл и концентрация фотосинтетических пигментов, метаболитов и ферментов, участвующих в этом процессе [1]. Так как в фотосинтезе задействованы различные компоненты, в частности пигментный аппарат и фотосистемы в целом, электрон-транспортная система и пути утилизации CO_2 , даже незначительное повреждение, вызванное неблагоприятными факторами окружающей среды, может снизить общую фотосинтетическую способность зеленого растения, что существенным образом сказывается на сельскохозяйственном производстве.

Среди многочисленных стрессовых воздействий в последние годы именно засуха является наиболее весомым абиотическим фактором, имеющим всеобщее значение, в том числе и для Республики Беларусь, и заметно снижающим урожайность [2]. Дефицит воды вызывает серьезные изменения большинства физиологических процессов у растения: задержку роста и развития, потерю тургора, снижение скорости фотосинтеза и усвоения углерода, нарушение минерального питания и газообмена листьев и многое другое, что в значительной степени влияет на продуктивность сельскохозяйственных культур [3; 4].

В целом различные стрессовые условия, включая засуху, обычно приводят к существенному уменьшению содержания фотосинтетических пигментов – хлорофиллов (Хл, международное обозначение – Chl) и каротиноидов. Снижение концентрации Хл может быть связано с вызванными стрессом нарушениями биосинтеза пигментов или их разрушением. Однако степень повреждения растительной клетки в результате действия неблагоприятных факторов внешней среды зависит от вида, сорта растения, продолжительности воздействия и переносимости стресса [1]. Таким образом, уменьшение количества фотосинтетических пигментов, связанное с нарушением биосинтеза последних или же их разрушением, может привести к нарушению транспорта электронов и, следовательно, к снижению фотосинтетической способности у большинства зеленых растений.

В условиях засухи ключевую роль играют адаптационные механизмы, в частности механизмы адаптации фотосинтетического аппарата, позволяющие растению преодолеть стрессовое воздействие [5]. Важным аспектом повышения эффективности сельскохозяйственного производства при стремительном изменении климата, в том числе на фоне частых засух, выступает мониторинг роста и развития растений [6]. В связи с этим крайне актуальными на сегодняшний день являются исследования, направленные на разработку новых подходов по повышению устойчивости и продуктивности сельскохозяйственных культур в неблагоприятных условиях культивирования [4; 5; 7–9].

Целью данной работы было изучение действия почвенной засухи на содержание фотосинтетических пигментов в 7-дневных проростках ячменя сорта Бровар.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали первый настоящий лист зеленых проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Бровар, выращенных в лабораторных условиях под люминесцентными лампами Philips TL-D 36W/54-765 в режиме 14 ч света (интенсивность 6 тыс. лк) и 10 ч темноты при температуре $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха 30 % в нормальных условиях (контроль) и при засухе.

Исследование влияния засухи на зеленые проростки ячменя проводили в культуре, выращенной в почве. Для этого семена, обработанные в хлорсодержащем растворе и отмытые водопроводной водой, предварительно проращивали на сетках при $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 2 сут. Затем одинаковые по размеру проростки семян высаживали в сосуды, заполненные влажным грунтом «Восторг». Варианты эксперимента были следующими:

- 1) контроль – осуществляли ежедневный полив водопроводной водой объемом 25 мл;
- 2) засуха – растения не поливали с момента посадки в почву.

Длину зеленых проростков измеряли от зерновки через 7 сут после высадки в грунт. Для определения сухого веса (или массовой доли воды) навески листьев ячменя массой 1 г помещали в стеклянные бюксы. Масса бюксов была предварительно измерена. Затем бюксы с навесками листьев помещали в вакуумный сушильный шкаф VacuCell 111 Standard (МММ Medcenter Einrichtungen GmbH, Германия) и высушивали при температуре 100°C и давлении 0,05 атм в течение 2 ч. Через 1,0; 1,5 и 2,0 ч от начала сушки бюксы с навесками листьев взвешивали, чтобы зафиксировать сухую массу, которая в последних двух измерениях не менялась, что свидетельствовало о полной потере воды образцами. Массовую долю воды рассчитывали по разнице между начальной и конечной массой бюксов с образцами².

Состав и содержание Хл, феофитинов (Фео, международное обозначение – Pheo) и каротиноидов в листьях ячменя сорта Бровар определяли с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) с хроматографической колонкой Nucleodur C18 Gravity (размер частиц 3 мкм, длина 15 см) фирмы Macherey-Nagel (Германия) по методике, разработанной в лаборатории биофизики и биохимии растительной клетки Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси согласно работам [10–13]. Разделение пигментов на колонке проводили с использованием раствора А (90 % ацетонитрил, 9,9 % вода, 0,1 % триэтиламин) и раствора Б (100 % этилацетат) со скоростью потока 0,5 мл/мин. Пигменты регистрировали с помощью спектрофотометрического детектора с диодной матрицей SPD-M20A (Shimadzu, Япония) в диапазоне 200–800 нм. Визуализацию профиля хроматограммы осуществляли по спектрам поглощения при 440 нм (для Хл *a* и Хл *b*, а также каротиноидов) и 410 нм (для Фео *a* и Фео *b*). Для количественного определения пигментов использовали площади пиков хроматограммы и коэффициенты, полученные для каждого пигмента с помощью стандартов. Расчет содержания пигментов производили по формуле

$$C_{\text{пигм}} = \frac{S_{440} \cdot F_{\text{пигм}} \cdot V}{V_{\text{инъекц}} \cdot m},$$

где $C_{\text{пигм}}$ – содержание пигмента, мкг/г сухой массы; S_{440} – площадь пика поглощения при 440 нм (для Фео – 410 нм); $F_{\text{пигм}}$ – фактор (коэффициент) для расчета; V – объем супернатанта, мкл; $V_{\text{инъекц}}$ – объем инъекции, мкл; m – масса навески, г.

На рис. 1 представлена типичная для исследованных препаратов хроматограмма ацетонового экстракта из листьев ячменя с ярко выраженными пиками неоксантина (пик 1, время удержания 3,88 мин), виолаксантина (пик 2, время удержания 4,44 мин), антраксантина (пик 3, время удержания 4,97 мин), лютеина (пик 4, время удержания 5,87 мин), Хл *b* (пик 5, время удержания 7,81 мин), Хл *a* (пик 6, время удержания 8,48 мин), Фео *a* (пик 7, время удержания 9,81 мин) и β -каротина (пик 8, время удержания 10,36 мин).

На рис. 2 приведены спектры выделенных пигментов, зарегистрированные спектрофотометрическим детектором с диодной матрицей, нормированные на единицу.

В исследовании были использованы следующие реагенты: ацетон «х. ч.» ($\geq 99,8\%$) производства АО «Экос-1» (Россия), ацетонитрил для ВЭЖХ ($\geq 99,9\%$) и этилацетат для ВЭЖХ ($\geq 99,7\%$) компании Honeywell (Германия), триэтиламин ($\geq 99,5\%$) фирмы AppliChem (Германия), стандарты фотосинтетических пигментов компании Sigma-Aldrich (Германия). В ходе обработки экспериментальных данных вычисляли среднее значение, стандартное отклонение среднего значения, достоверность различий между вариантами определяли с учетом коэффициента Стьюдента для принятого уровня значимости ($p \leq 0,05$) и соответствующего числа степеней свободы. Представлены результаты трех опытов в трехкратной биологической повторности. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакеты программ Microsoft Excel 2019, SigmaPlot 12.0 и статистические методы, принятые в области биологических исследований [14].

²Вязов Е. В. Механизмы адаптации фотосинтетического аппарата и защитной системы растений огурца к светодиодному излучению различного спектрального состава : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.01.02 / Ин-т биофизики и клеточ. инженерии НАН Беларуси. Минск, 2017.

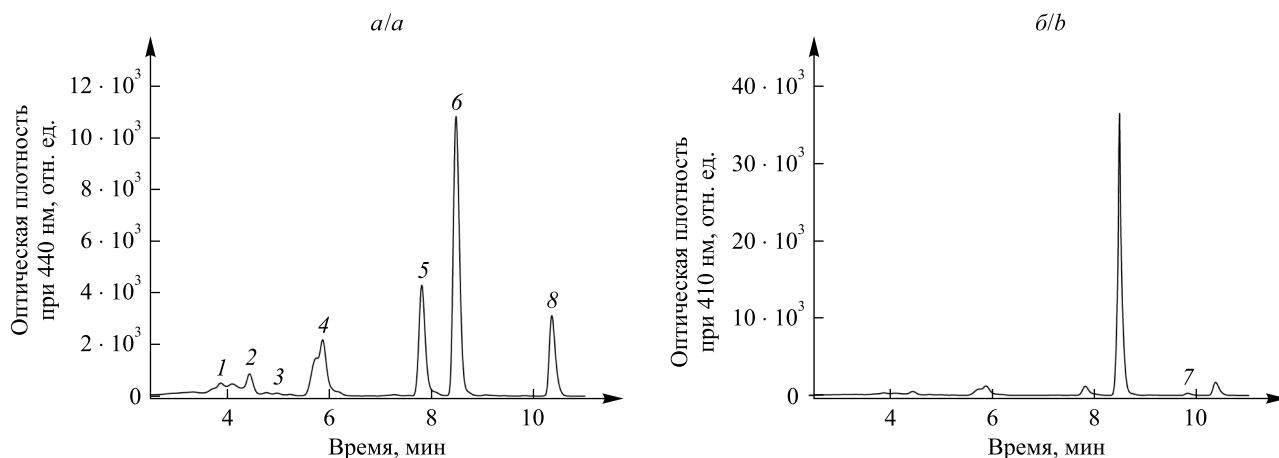


Рис. 1. Хроматограмма экстракта пигментов из листьев растений ячменя. Визуализация профиля хроматограммы осуществлена по спектрам поглощения при 440 нм (а) и 410 нм (б): 1 – неоксантин; 2 – виолаксантин; 3 – антераксантин; 4 – лютеин; 5 – Хл b; 6 – Хл a; 7 – Фео a; 8 – β-каротин

Fig. 1. Chromatogram of the extract of pigments from the leaves of barley plants. The chromatogram profile was visualized by the absorption spectra at 440 nm (a) and at 410 nm (b): 1 – neoxanthin; 2 – violaxanthin; 3 – anteraxanthin; 4 – lutein; 5 – Chl b; 6 – Chl a; 7 – Pheo a; 8 – β-carotene

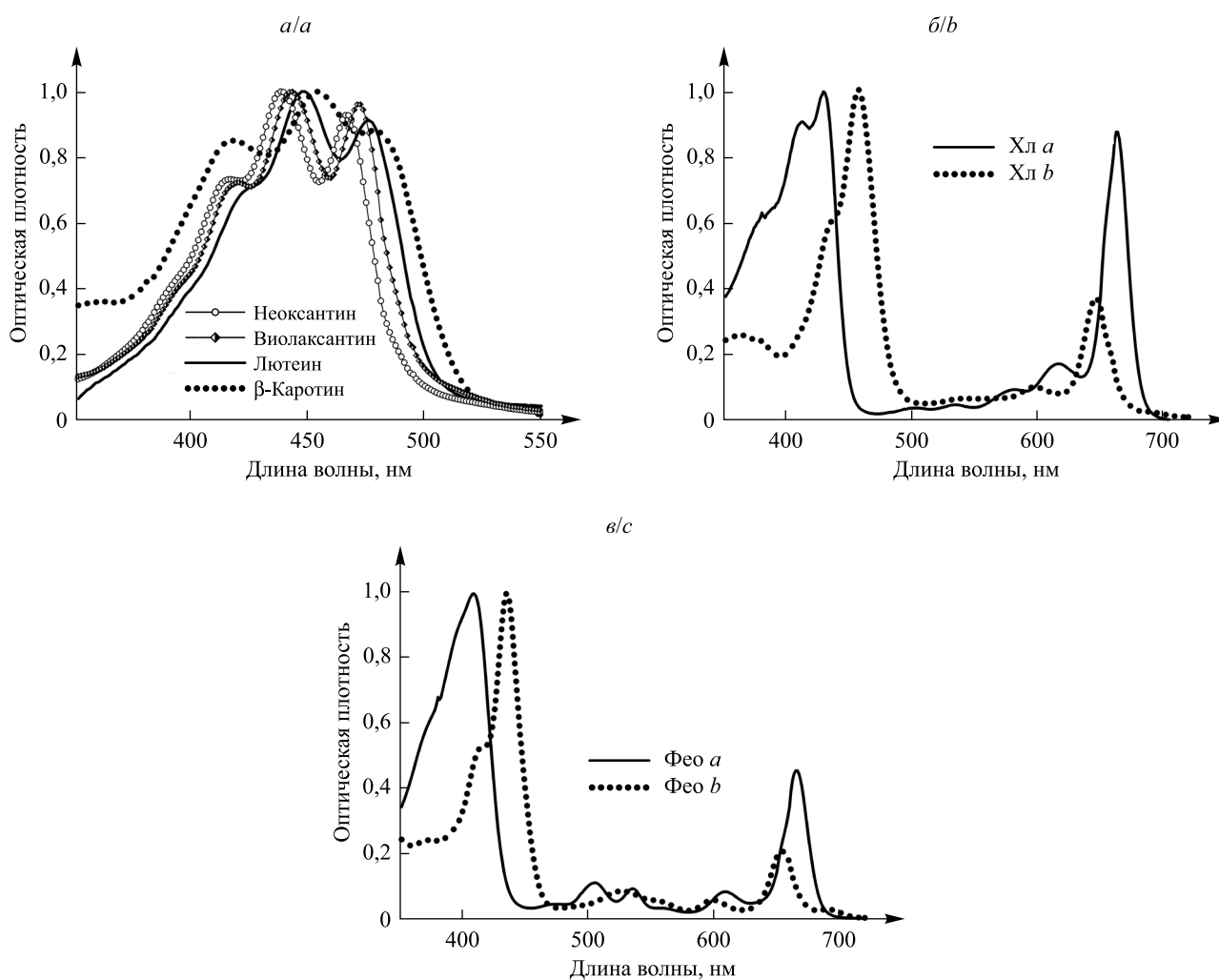


Рис. 2. Спектры поглощения пигментов, выделенных из листьев ячменя (нормированы на единицу по основному максимуму поглощения)

Fig. 2. Absorption spectra of pigments extracted from barley leaves (the spectra are normalized according to the main absorption maximum)

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования было проанализировано воздействие почвенной засухи на морфометрические параметры и содержание пигментов (Хл *a* и Хл *b*, Фео и каротиноидов) в листьях ячменя. Растения, выращенные в почве с поливом, в опытах выступали в качестве контроля.

Изучение ростовых показателей первого листа ячменя, определяемых по длине проростков от зерновки, позволило установить, что недостаток воды приводит к изменению морфометрических характеристик листьев ячменя: длина проростков снизилась на 28 % по сравнению с контрольными образцами (табл. 1). Также стоит отметить визуально наблюдаемое уменьшение ширины листовой пластинки растений ячменя, подвергшихся воздействию засухи. При этом признаков увядания растений не выявлено. Анализ массовой доли воды в проростках ячменя показал незначительное, но достоверное снижение этого параметра в условиях засухи (на 3 % по сравнению с контролем) (см. табл. 1).

Таблица 1

Изменение длины проростков ячменя и массовой доли воды в них под влиянием почвенной засухи

Table 1

Change in the length of barley seedlings and the mass fraction of water in them under the effect of soil drought

Варианты эксперимента	Длина проростков от зерновки, см	Массовая доля воды, %
Контроль	17,37 ± 0,35	92,45 ± 0,11
Засуха	12,49 ± 0,37*	89,72 ± 0,38*

*Различия по сравнению с контролем достоверны при $p \leq 0,05$.

Методом ВЭЖХ был проанализирован качественный и количественный состав фотосинтетических пигментов листьев растений ячменя в условиях почвенной засухи. Изучение пигментных экстрактов позволило идентифицировать во всех исследуемых образцах кислородсодержащие ксантофиллы – неоксантин, виолаксантин, антраксантин и лютеин, бескислородный каротиноид β-каротин, а также Хл *a* и Хл *b*, Фео *a* и следовые количества Фео *b*.

В ходе работы было рассмотрено изменение содержания Хл *a* и Хл *b*, Фео *a* и каротиноидов в 7-дневных зеленых листьях ячменя в нормальных условиях (контроль) и под воздействием абиотического стресса, вызванного недостатком влаги в почве (засуха). Данные представлены в табл. 2 и на рис. 3.

Таблица 2

Содержание каротиноидов и Фео *a* в листьях ячменя под воздействием почвенной засухи, мкг/г сухой массы

Table 2

The content of carotenoids and Pheo *a* in barley leaves under the effect of soil drought, μg/g dry weight

Пигменты	Варианты эксперимента	
	Контроль	Засуха
Неоксантин	1124,25 ± 59,93	616,73 ± 40,76*
Виолаксантин	786,82 ± 25,60	418,72 ± 29,25*
Антраксантин	89,58 ± 8,66	54,65 ± 7,62*
Лютеин	1881,93 ± 43,65	1430,14 ± 38,45*
Фео <i>a</i>	120,22 ± 1,34	121,59 ± 10,31
β-Каротин	2427,06 ± 71,68	1414,24 ± 137,59*

*Различия по сравнению с контролем достоверны при $p \leq 0,05$.

Как видно на рис. 3, *a*, в условиях засухи достоверно уменьшается общее количество Хл *a* + Хл *b* на 13,3 % относительно контроля. Такая же тенденция наблюдается для каждой формы Хл в отдельности: анализ показал, что при дефиците воды содержание Хл *a* и Хл *b* в зеленых листьях ячменя снижается

на 15,0 и 9,0 % соответственно (см. рис. 3, б). Кроме того, следует отметить, что отношение Хл *a* : Хл *b* в контрольных образцах, выращенных в почве с поливом, превышает аналогичный показатель в растениях, культивируемых при недостатке влаги, на 6,5 % (см. рис. 3, в), что может быть результатом уменьшения размера антенны фотосистем.

Также было установлено, что образцы, выращенные в условиях почвенной засухи, отличаются от контроля пониженным содержанием каротиноидов (на 37,6 % меньше в пересчете на сухой вес) (см. рис. 3, а). При этом наблюдается значительное падение концентрации как ксантофилловых каротиноидов – неоксантина, виолаксантина, антраксантина и лютеина (на 45,1; 46,8; 39,0 и 24,0 % соответственно), так и β-каротина (на 41,7 %) (см. табл. 2). Однако обращает на себя внимание меньшее снижение количества лютеина, выполняющего преимущественно функцию нейтрализации окислителей и свободных радикалов в клетке, по сравнению с неоксантином, виолаксантином и β-каротином, которые активно участвуют в светосборе и передаче энергии на реакционные центры.

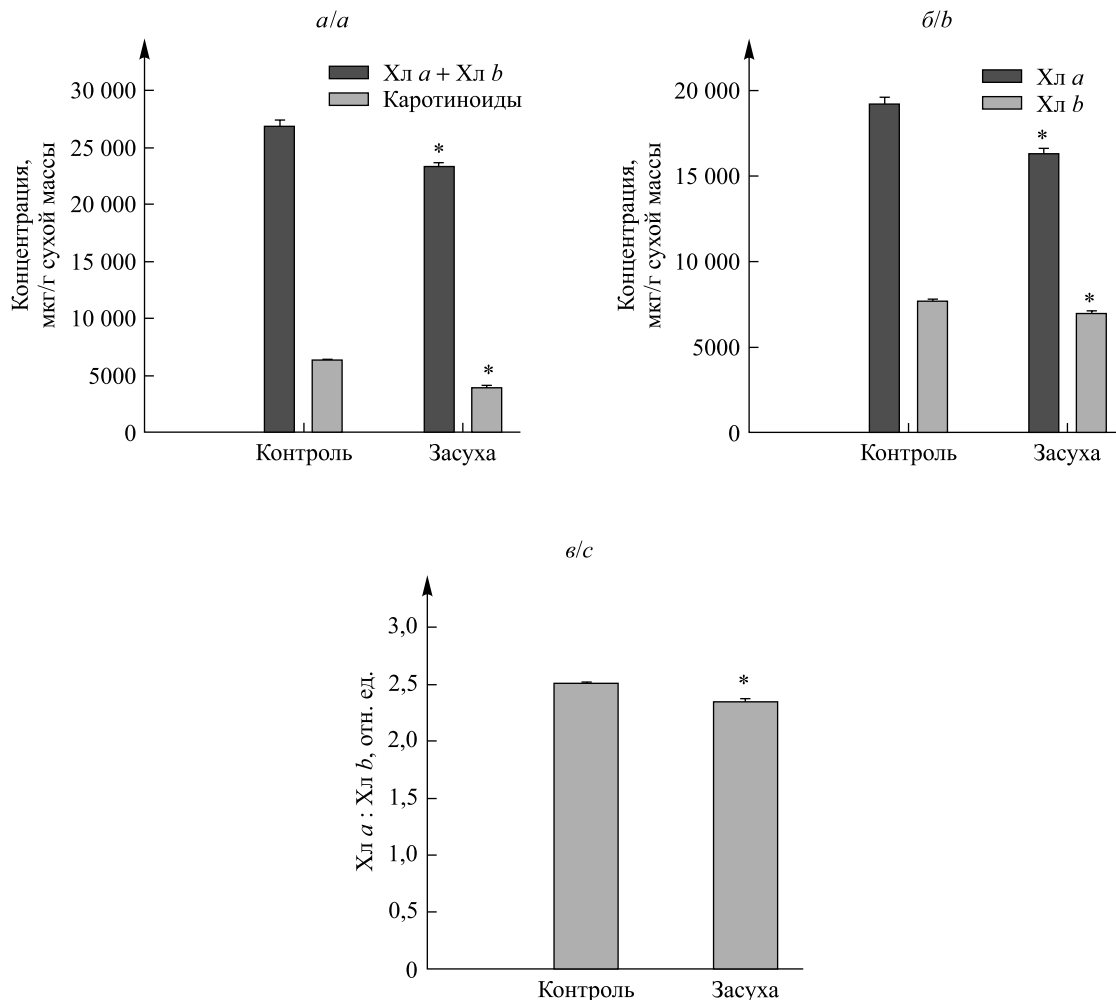


Рис. 3. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях ячменя под воздействием почвенной засухи: а – количество Хл *a* + Хл *b* и каротиноидов; б – количество Хл *a* и Хл *b*; в – отношение Хл *a* : Хл *b*; * – достоверно при $p \leq 0,05$

Fig. 3. Content of photosynthetic pigments in barley leaves under the effect of soil drought: а – the content of Chl *a* + Chl *b* and carotenoids; б – the content of Chl *a* and Chl *b*; в – the ratio of Chl *a* : Chl *b*; * – significant difference, $p \leq 0.05$

В целом приведенные выше данные свидетельствуют, что недостаток влаги в почве отрицательно влияет на накопление Хл и каротиноидов в клетках растений ячменя сорта Бровар. Однако интерес представляет неизменность содержания при этом феофитиновых пигментов (см. табл. 2). Известно, что одним из показателей развития окислительного стресса в растительной клетке служит избыточное накопление Фео, который в нормальных условиях содержится в клетке в крайне низких концентрациях и выполняет функцию первичного акцептора электронов в фотосистеме 2 [15]. Повышенное количество Фео является не просто показателем развития окислительного стресса, при котором происходит

модификация молекул Хл с образованием безметалльных порфиринов, это также потенциально опасное состояние с точки зрения усиления развития окислительного стресса, поскольку Фео – мощный фотосенсибилизатор, способный на свету генерировать синглетный молекулярный кислород [16]. Отсутствие факта накопления Фео в листьях ячменя сорта Бровар в условиях почвенной засухи может указывать на отсутствие активно идущих в клетках растений окислительных процессов. Однако прямым способом выявления окислительного стресса в клетках является регистрация изменения в них уровня активных форм кислорода. В дальнейшем планируется провести соответствующие исследования для проверки высказанного предположения.

Заключение

Таким образом, нами установлено существенное влияние почвенной засухи на морфометрические параметры листьев ячменя сорта Бровар, а также содержание в них фотосинтетических пигментов – Хл и каротиноидов. Однако значительное снижение ростовых показателей растений в условиях засухи, уменьшение количества Хл и в особенности каротиноидов происходили на фоне отсутствия изменения уровня феофитина. Мы предполагаем, что падение концентрации пигментов связано в основном не с деструкцией в результате стресса, а со снижением их синтеза, что может быть адаптационной реакцией растений, позволяющей минимизировать вероятность образования активных форм кислорода в фотосинтетических мембранах при недостатке влаги, а также оптимизировать в этих условиях использование энергии света для фотосинтетических процессов, на что указывает преимущественное снижение таких каротиноидов, как неоксантин, виолаксантин и β -каротин, активно участвующих в светосборе и передаче энергии на реакционные центры. Стоит отметить, что выбранный для исследования сорт ячменя Бровар является засухоустойчивым [17]. Обнаруженная нами тонкая подстройка компонентов фотосинтетического аппарата к действию засухи может быть одним из ключевых факторов, определяющих устойчивость этого сорта к данному виду абиотического стресса.

Библиографические ссылки

1. Ashraf M, Harris PJC. Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica*. 2013;51(2):163–190. DOI: 10.1007/s11099-013-0021-6.
2. Tanveer M, Shahzad B, Sharma A, Khan EA. 24-Epibrassinolide application in plants: an implication for improving drought stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;135:295–303. DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.12.013.
3. Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 2009;29(1):185–212. DOI: 10.1051/agro:2008021.
4. Wang X, Gao Y, Wang Q, Chen M, Ye X, Li D, et al. 24-Epibrassinolide-alleviated drought stress damage influences antioxidant enzymes and autophagy changes in peach (*Prunus persicae* L.) leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;135:30–40. DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.11.026.
5. Bartels D, Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2005;24(1):23–58. DOI: 10.1080/07352680590910410.
6. Sezgin A, Altuntaş C, Demiralay M, Cinemre S, Terzi R. Exogenous alpha lipoic acid can stimulate photosystem II activity and the gene expressions of carbon fixation and chlorophyll metabolism enzymes in maize seedlings under drought. *Journal of Plant Physiology*. 2018;232:65–73. DOI: 10.1016/j.jplph.2018.11.026.
7. Nabi RBS, Tayade R, Hussain A, Kulkarni KP, Imran QM, Mun B-G, et al. Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. *Environmental and Experimental Botany*. 2019;161:120–133. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2019.02.003.
8. Kebede A, Kang MS, Bekele E. Advances in mechanisms of drought tolerance in crops, with emphasis on barley. *Advances in Agronomy*. 2019;156:265–314. DOI: 10.1016/bs.agron.2019.01.008.
9. Cominelli E, Conti L, Tonelli C, Galbiati M. Challenges and perspectives to improve crop drought and salinity tolerance. *New Biotechnology*. 2013;30(4):355–361. DOI: 10.1016/j.nbt.2012.11.001.
10. Rodriguez-Amaya DB, Kimura M. *HarvestPlus handbook for carotenoid analysis*. Washington: HarvestPlus; 2004. 58 p. (Technical monograph series 2).
11. Milenković SV, Zvezdanović JB, Andelković TD, Marković DZ. The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies. *Advanced technologies*. 2012;1(1):16–24.
12. Forni E, Ghezzi M, Polesello A. HPLC separation and fluorimetric estimation of chlorophylls and pheophytins in fresh and frozen peas. *Chromatography*. 1988;26:120–124. DOI: 10.1007/BF02268135.
13. Olajire AA, Ameen AB, Abdul-Hammed M, Adekola FA. Occurrence and distribution of metals and porphyrins in Nigerian coal minerals. *Journal of Fuel Chemistry and Technology*. 2007;35(6):641–647. DOI: 10.1016/S1872-5813(08)60001-8.
14. Рокицкий ПФ. *Биологическая статистика*. Минск: Высшая школа; 1973. 320 с.
15. Аверина НГ, Шальго НВ, Линник НН. Изучение феофитинизации хлорофилла под действием хелаторов металлов пиридинового ряда. *Физиология растений*. 1991;38(6):1059–1065.
16. Krasnovsky AA. Singlet oxygen and primary mechanisms of photodynamic therapy and photodynamic diseases. In: Uzdensky AB, editor. *Photodynamic therapy at the cellular level*. Trivandrum: Research Signpost; 2007. p. 17–62.
17. Доманская ИН, Радюк МС, Будакова ЕА, Самович ТВ, Спивак ЕА, Шальго НВ, составители. *Технология ДНК-мутирования генов устойчивости ячменя к засухе*. Минск: Право и экономика; 2011. 31 с.

References

1. Ashraf M, Harris PJC. Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica*. 2013;51(2):163–190. DOI: 10.1007/s11099-013-0021-6.
2. Tanveer M, Shahzad B, Sharma A, Khan EA. 24-Epibrassinolide application in plants: an implication for improving drought stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;135:295–303. DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.12.013.
3. Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 2009;29(1):185–212. DOI: 10.1051/agro:2008021.
4. Wang X, Gao Y, Wang Q, Chen M, Ye X, Li D, et al. 24-Epibrassinolide-alleviated drought stress damage influences antioxidant enzymes and autophagy changes in peach (*Prunus persicae* L.) leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;135:30–40. DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.11.026.
5. Bartels D, Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2005;24(1):23–58. DOI: 10.1080/07352680590910410.
6. Sezgin A, Altuntaş C, Demiralay M, Cinemre S, Terzi R. Exogenous alpha lipoic acid can stimulate photosystem II activity and the gene expressions of carbon fixation and chlorophyll metabolism enzymes in maize seedlings under drought. *Journal of Plant Physiology*. 2018;232:65–73. DOI: 10.1016/j.jplph.2018.11.026.
7. Nabi RBS, Tayade R, Hussain A, Kulkarni KP, Imran QM, Mun B-G, et al. Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. *Environmental and Experimental Botany*. 2019;161:120–133. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2019.02.003.
8. Kebede A, Kang MS, Bekele E. Advances in mechanisms of drought tolerance in crops, with emphasis on barley. *Advances in Agronomy*. 2019;156:265–314. DOI: 10.1016/bs.agron.2019.01.008.
9. Cominelli E, Conti L, Tonelli C, Galbiati M. Challenges and perspectives to improve crop drought and salinity tolerance. *New Biotechnology*. 2013;30(4):355–361. DOI: 10.1016/j.nbt.2012.11.001.
10. Rodriguez-Amaya DB, Kimura M. *HarvestPlus handbook for carotenoid analysis*. Washington: HarvestPlus; 2004. 58 p. (Technical monograph series 2).
11. Milenković SV, Zvezdanović JB, Anđelković TD, Marković DZ. The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies. *Advanced technologies*. 2012;1(1):16–24.
12. Forni E, Ghezzi M, Polesello A. HPLC separation and fluorimetric estimation of chlorophylls and pheophytins in fresh and frozen peas. *Chromatography*. 1988;26:120–124. DOI: 10.1007/BF02268135.
13. Olajire AA, Ameen AB, Abdul-Hammed M, Adekola FA. Occurrence and distribution of metals and porphyrins in Nigerian coal minerals. *Journal of Fuel Chemistry and Technology*. 2007;35(6):641–647. DOI: 10.1016/S1872-5813(08)60001-8.
14. Rokitskii PF. *Biologicheskaya statistika* [Biological statistics]. Minsk: Vyshejshejskaja shkola; 1973. 320 p. Russian.
15. Averina NG, Shalygo NV, Linnik NN. [Study of chlorophyll pheophytinization under the influence of metal chelators of the pyridine series]. *Fiziologiya rastenii*. 1991;38(6):1059–1065. Russian.
16. Krasnovsky AA. Singlet oxygen and primary mechanisms of photodynamic therapy and photodynamic diseases. In: Uzdensky AB, editor. *Photodynamic therapy at the cellular level*. Trivandrum: Research Signpost; 2007. p. 17–62.
17. Domanskaya IN, Radyuk MS, Budakova EA, Samovich TV, Spivak EA, Shalygo NV, compilers. *Tekhnologiya DNK-tipirovaniya genov ustoichivosti yachmenya k zasukhe* [DNA typing technology for genes of barley resistance to drought]. Minsk: Pravo i ekonomika; 2011. 31 p. Russian.

Статья поступила в редколлегию 30.06.2020.
Received by editorial board 30.06.2020.