Journal of Stress Physiology & Biochemistry, Vol. 11 No. 4 2015, pp. 118-127 ISSN 1997-0838
Original Text Copyright © 2015 by Korsukova, Borovik, Grabelnych and Voinikov

ORIGINAL ARTICLE

The Tebuconazole-based Protectant of Seeds "Bunker" Induces the Synthesis of Dehydrins During Cold Hardening and Increases the Frost Resistance of Wheat Seedlings

A.V. Korsukova[1,2]*, O.A. Borovik[1], O.I. Grabelnych[1,2], V.K. Voinikov[1]

[1] *Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, SB RAS, Irkutsk, Russia*
[2] *Irkutsk State University, Irkutsk, Russia*

*E-Mail: *avkorsukova@gmail.com*

Received October 15, 2015

Triazole derivatives are widely used in agriculture for seed protectant of cereals against seed and soil infection. Triazole derivatives can have an effect on the biochemical and physiological functions of plants. The tebuconazole-based protectant of seeds «Bunker» (content of tebuconazole 60 grams per liter, g/L) is a systemic fungicide of preventive and therapeutic action. The effect of the seed treatment by «Bunker» preparation on the shoot growth and cell viability coleoptile, synthesis of dehydrins in shoots and frost resistance etiolated winter and spring wheat seedlings has been studied. It has been shown that treatment of winter and spring wheat seed by «Bunker» preparation induces similar concentration-dependent inhibition of the coleoptiles length. At the recommended dose (0,5 liter per tonne of seeds, L/t) growth inhibition was 28 - 30%, at a concentration of 1 L/t – 33 - 36%, at a concentration of 1,5 L/t – 40 - 42%, at a concentration of 3 L/t – 43 - 47%, at a concentration of 4 L/t – 48 - 51% and at 5 L/t – 53 - 56%. The treatment of wheat seed by «Bunker» preparation had no phytotoxic effect on coleoptile cells in any of the studied concentrations, on the contrary, with increasing concentration of preparation observed the increase in cell viability, as measured by recovery of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride. We can assume that having retardant properties, tebuconazole not only inhibits the growth of plants, but also delays their aging. The treatment of seed protectant at a concentration of 1.5 L/t induced synthesis of the dehydrins with molecular masses about 19, 21, 22, 25 and 27 kD in winter wheat shoots and 18,6, 27 and 28,5 kD in spring wheat shoots during cold hardening. Among identified dehydrins the dehydrin of 27 kD is most significantly induced both in winter and spring wheat. The treatment of seed protectant «Bunker» in the same concentration increased the frost resistance of winter and spring wheat seedlings. It is supposed that increasing of cold and frost resistance of winter and spring wheat caused by seed treatment of the tebuconazole-based protectant may be associated with increase of the abscisic acid content – one of the triggers of the low-temperature adaptation of plants. It is concluded that tebuconazole-based protectant of seeds «Bunker» increases the resistance of wheat to low temperature, affecting the growth processes and the synthesis of stress proteins.

Key words: triazole, tebuconazole, growth inhibition, frost resistance, dehydrins, winter wheat, spring wheat

Одной из важнейших сельскохозяйственных задач было и остается решение проблемы холодо-, морозо- и зимостойкости возделываемых культур. В настоящее время в сельском хозяйстве активно используются системные фунгициды – ингибиторы C^{14}-деметилирования, среди которых ведущие позиции занимают азолы, содержащие в своей молекуле триазольную или имидазольную группы. Наибольшее применение получили производные триазола – ингибиторы синтеза стеринов и терпеноидов (Popov *et al*., 2003). Производные триазола – ретарданты, которые не только подавляют биосинтез гиббереллина, но и увеличивают содержание эндогенной абсцизовой кислоты (АБК), оказывая, таким образом, ингибирующее влияние на прорастание семян и рост осевых органов растений, имеют ростостимулирующее действие на корневую систему (Prusakova and Chizhova, 1998). Триазолы характеризуются низкой фитотоксичностью по сравнению с другими ретардантами, эффективны в малых дозах и экологически безопасны (Prusakova and Chizhova, 1998).

Увеличение содержания эндогенной АБК рассматривается как один из триггеров низкотемпературной адаптации растений (Titov *et al*., 2006). АБК индуцирует синтез стрессовых белков при действии низких температур (Chinnusamy *et al*., 2006; Theocharis *et al*., 2012). АБК-зависимая экспрессия генов регулируется транскрипционными факторами, которые принадлежат к семействам bZIP, MYC и MYB (Theocharis *et al*., 2012). Одной из основных групп белков при низкотемпературном стрессе является группа COR/LEA - белков (Monroy *et al*., 2007; Hara, 2010; Hanin *et al*., 2011). Эта группа включает LEA-II белки, к которым относятся дегидрины, содержание которых возрастает при обезвоживании. Благодаря своей гидрофильности и шапероноподобной активности дегидрины предотвращают деградацию и коагуляцию ряда макромолекул клеточных структур при обезвоживании их внеклеточным льдом (Skriver and Mundy, 1990; Goyal *et al*., 2005). Кроме этого, дегидрины проявляют криопротекторную, антифризную и антиоксидантную активности (Rorat, 2006; Hara, 2010; Hanin *et al*., 2011). Показано, что содержание дегидринов увеличивается при закаливании растений в осенний период и снижается во время деакклимации весной (Bubjakina *et al*., 2011; Petrov *et al*., 2011; Ponomarev *et al.,* 2014).

Одним из представителей соединений триазолиевого ряда является тебуконазол (1-(4-хлорфенил)-4,4-диметил-3-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)-3-пентанол**)**. Тебуконазол обладает профилактическим и лечебным системным действием, эффективен против всех видов ржавчины зерновых культур, подавляет головнёвые грибы, возбудителей корневых гнилей и плесневения семян (Popov *et al*., 2003). Учитывая, что производные триазола обладают ретардантным действием и повышают содержание эндогенной АБК, можно предположить, что эти

вещества будут влиять на синтез стрессовых белков и холодо- и морозоустойчивость растений.

Тебуконазол-содержащий препарат «Бункер» (содержание тебуконазола составляет 60 г/л) является системным фунгицидом профилактического и лечебного действия для протравливания семян зерновых культур против семенной и почвенной инфекции (производитель ЗАО Фирма «Август»). В настоящей работе изучалось влияние обработки семян препаратом «Бункер» на синтез дегидринов при холодовом закаливании и морозоустойчивость проростков озимой и яровой пшеницы.

MATERIALS AND METHODS

В работе использовали этиолированные проростки мягкой яровой (сорт «Новосибирская 29») и озимой (сорт «Иркутская») пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Обработку семян протравителем проводили непосредственно перед их размещением на подложки кювет. Для обработки использовали водный раствор препарата «Бункер» разной концентрации (0,5, 1, 1,5, 3, 4 и 5 литров на тонну семян, л/т). В лабораторных экспериментах проводили пересчёт на вес семян в граммах (мкл/г).

Для определения степени ингибирования роста и жизнеспособности клеток колеоптилей семена проращивали в течение 5-ти суток на влажной фильтровальной бумаге при 24 °С в темноте. Степень ингибирования роста побегов этиолированных проростков злаков (I, %) определяли согласно (Ivanov, 1974), замеряя длину колеоптилей 5-ти суточных проростков, выращенных из необработанных (контроль) и обработанных препаратом «Бункер» семян.

Для определения жизнеспособности клеток колеоптилей использовали метод восстановления красителя 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ) (Enikeev *et al.,* 1995). Для этого колеоптили 5-ти суточных проростков злаков (0,1 г) инфильтровали раствором K-Na фосфатного буфера (pH 7,0), содержащего 0,5% ТТХ, и инкубировали в анаэробных условиях при 26 °С в течение 12 ч в темноте. Затем краситель удаляли 3-х кратным промыванием дистиллированной водой. Продукт восстановления ТТХ – формазан экстрагировали 96%-м этиловым спиртом в течение 15 мин при 60 °С. Концентрацию формазана рассчитывали по оптической плотности раствора при 490 нм. Расчёт проводили в относительных единицах (отн. ед.) на 1 г сырого веса (восстановление ТТХ, A_{490}/г сырого веса). Контролем служили колеоптили 5-ти суточных этиолированных проростков, гибель которых вызывали кипячением в течение 15 мин.

Холодовому закаливанию подвергали 3-х суточные этиолированные проростки пшеницы, выращенные из необработанных и обработанных препаратом «Бункер» семян. Закаливание проводили в темноте при температуре 2 °С в течение 7-ми суток в камере тепла/холода МКТ-240 (ЦКП Фитотрон СИФИБР СО РАН). Закалённые проростки промораживали при температурах –2, –4, –6, –8, –10 °С (снижение температуры происходило со скоростью 1 °С/ч один раз в сутки). После этого температуру повышали,

моделируя условия раззакаливания: –8, –6, –4, 0, 4 °C (продолжительность обработки каждой температурой составляла 24 ч за исключением обработок температурами –8 и 4 °C, которые длились 12 ч). Для изучения изменений в синтезе дегидринов отбирали побеги до закаливания (контроль в возрасте 3-х суток), закаленные в течение 7-ми суток при 2 °C и подвергнутые раззакаливанию 4 °C в течение 12 ч.

Для оценки морозоустойчивости проростков закалённые этилированные проростки из необработанных и обработанных препаратом «Бункер» семян промораживали при температуре –7 °C в течение 24 ч. Затем проростки оттаивали при 2 °C в течение суток, после чего оставляли растения отрастать в темноте при 24 °C в течение 3-х – 7-ми суток. Количество выживших после промораживания проростков выражали в процентах от общего числа проростков.

Выделение общего белка из побегов проростков озимой и яровой пшеницы проводили по ранее описанной методике (Pobezhimova *et al.,* 2004). Содержание дегидринов в побегах изучали с помощью электрофореза в 12,5% полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия и вестерн-блоттинга (Pobezhimova *et al.,* 2004) с поликлональными антителами против дегидринов (антитела против синтетического пептида, содержащего последовательность KIKEKLPG, являющуюся частью уникального K-сегмента дегидринов) (ADI-PLA-100, “StressGen”, США). Использовали вторичные антитела, конъюгированные с щелочной фосфатазой, а детекцию белков проводили с 5-бромо-4-хлоро-3-индолил фосфатом и нитротетразолием синим.

Проводили не менее трёх независимых экспериментов. На рисунках 1, 2 и 4 представлены средние арифметические значения и их стандартные отклонения. На рисунке 3 представлены типичные иммуноблоты. «*n*» (в подписях к рисункам) означает количество независимых экспериментов.

RESULTS AND DISCUSSION

Ретардантный эффект тебуконазол-содержащего протравителя семян «Бункер» и отсутствие его фитотоксичного эффекта

Для подтверждения данных, имеющихся в литературе, относительно наличия у тебуконазола ретардантных свойств (Prusakova and Chizhova, 1998), было изучено влияние протравителя «Бункер» на длину колеоптилей этиолированных проростков яровой и озимой пшеницы. Одновременно с изучением ретардантных свойств препарата «Бункер» проводили подбор его рабочей концентрации для дальнейших исследований. В инструкции по применению данного препарата рекомендованная концентрация для достижения фунгицидного эффекта составляет 0,5 л/т, возможно, что для проявления ретардантных свойств концентрация препарата «Бункер» будет несколько отличаться от рекомендованной для применения в качестве фунгицида.

Действительно, обработка семян препаратом «Бункер» сопровождалась ингибированием длины колеоптилей яровой и озимой пшеницы, при этом

степень ингибирования роста возрастала с увеличением концентрации препарата. Так, препарат «Бункер» приводил к ингибированию длины колеоптилей проростков яровой пшеницы и озимой пшеницы в концентрации 0,5 л/т на 28 и 30%, в концентрации 1 л/т – на 33 и 36%, в концентрации 1,5 л/т – на 42 и 40%, в концентрации 3 л/т – на 47 и 43%, в концентрации 4 л/т – на 51 и 48%, а в концентрации 5 л/т – на 56 и 53%, соответственно (рис. 1). Эти данные подтверждают, что тебуконазол-содержащий протравитель семян «Бункер» является ретардантом и оказывает концентрационно-зависимое ингибирующее действие на рост побегов озимой и яровой пшеницы.

Чтобы определить безопасность использования протравителя семян «Бункер» для растений яровой и озимой пшеницы в концентрации выше рекомендованной производителем, далее была изучена жизнеспособность клеток колеоптилей изучаемых злаков. Величина восстановления ТТХ, которая наблюдалась в колеоптилях 5-ти суточных проростков злаков, подвергнутых кипячению, считалась значением, характеризующим «погибшие» растения. Как оказалось, обработка семян препаратом «Бункер» в концентрациях 1,5, 3, 4 и 5 л/т не приводит к гибели клеток колеоптилей озимой и яровой пшеницы (рис. 2). Наоборот, с повышением концентрации препарата наблюдается увеличение восстановления ТТХ в клетках, что свидетельствует о том, что жизнеспособность клеток колеоптилей выше, по сравнению с колеоптилями проростков из необработанных семян. Наблюдаемое нами отсутствие гибели клеток колеоптилей озимой и яровой пшеницы соответствует данным, имеющимся в литературе, характеризующим производные триазола как ретарданты, обладающие низкой фитотоксичностью (Mel'nikov *et al.,* 1995; Prusakova and Chizhova, 1998). На основании результатов по увеличению степени восстановления ТТХ в клетках колеоптилей из проростков, выращенных из семян, обработанных препаратом «Бункер», можно предполагать, что обладая ретардантными свойствами, тебуконазол не только замедляет процессы роста, но и отодвигает сроки старения. В этом случае обработка семян злаков тебуконазол-содержащим препаратом «Бункер» привела к замедлению роста растений и торможению программы старения и по своим физиолого-биохимическим параметрам проростки из обработанных препаратом «Бункер» семян не соответствовали 5-ти суточным проросткам из необработанных семян. При этом, чем более выраженный ретардантный эффект оказывал препарат на проростки яровой и озимой пшеницы (рис. 1), тем выше была жизнеспособность клеток колеоптилей этих проростков (рис. 2). Ранее нами было показано, что гибель клеток колеоптилей этиолированных проростков злаков (кукурузы и озимой пшеницы) происходит на 5-6-ые сутки роста (Korsukova *et al.,* 2013*a*, *b*). Возможно, поэтому жизнеспособность клеток колеоптилей 5-ти суточных проростков озимой и яровой пшеницы из необработанных семян была ниже жизнеспособности клеток

колеоптилей злаков этого же биологического возраста, выросших из обработанных препаратом «Бункер» семян.

В дальнейшем в качестве рабочей концентрации протравителя «Бункер» была выбрана концентрация 1,5 л/т.

Индукция синтеза дегидринов и повышение морозоустойчивости пшеницы после обработки семян препаратом «Бункер»

Синтез стрессовых белков является одним из механизмов низкотемпературной адаптации растений (Chinnusamy *et al.,* 2006; Trunova, 2007; Hanin *et al.,* 2011). Закаливание индуцировало синтез дегидринов в побегах этиолированных проростков озимой и яровой пшеницы (рис. 3). В проростках озимой пшеницы после закаливания обнаруживались дегидрины с относительными молекулярными массами 209, 200, 70, 55, 51, 43, 34, 33, 17, 16 и 15,7 кДа. В побегах проростков озимой пшеницы, выросших из семян, обработанных протравителем «Бункер», при закаливании наблюдали появление новых полипептидов с относительными молекулярными массами 27, 25, 22, 21, 19 и 18,6 кДа (рис. 3). Наиболее значительно индуцировался полипептид с молекулярной массой 27 кДа. Моделируя условия раззакаливания обнаружено, что в побегах проростков озимой пшеницы, выращенных из обработанных препаратом «Бункер» семян, дегидрины с молекулярными массами 27, 25, 22, 21 и 19 кДа продолжали присутствовать и в период раззакаливания.

С помощью антител против дегидринов в побегах этиолированных проростков яровой пшеницы после закаливания обнаруживались полипептиды с относительными молекулярными массами 209, 200, 70, 56, 51, 43, 32, 12,3 и 11,5 кДа (рис. 3). Обработка семян протравителем «Бункер» приводила к появлению при закаливании в побегах яровой пшеницы трех новых полипептидов с относительными молекулярными массами 19, 27 и 28,5 кДа, при этом полипептид с молекулярной массой 27 кДа индуцировался значительнее других. После раззакаливания проростков полипептид с молекулярной массой 27 кДа продолжал детектироваться в побегах яровой пшеницы (рис. 3).

Торможение ростовых процессов и синтез дегидринов являются одними из механизмов, способствующих повышению устойчивости растений к низким неблагоприятным температурам (Trunova, 2007; Kosulina *et al.,* 2011). Поскольку обработка семян как озимой, так и яровой пшеницы протравителем «Бункер» приводила к ингибированию роста побегов (рис. 1), а также индуцировала синтез ряда дегидринов (рис. 3), то возможно, что обработка препаратом «Бункер» будет влиять и на морозоустойчивость этих зерновых культур.

Чтобы выяснить данное предположение, проанализировали выживаемость холодозакалённых проростков озимой и яровой пшеницы, выращенных из необработанных и обработанных препаратом «Бункер» семян, после их промораживания при –7 °С в течение 24 ч. Оказалось, что выживаемость проростков из

необработанных семян при данной температуре составляет 30% для яровой пшеницы и 70% для озимой пшеницы (рис. 4). В то же время выживаемость проростков, выращенных из семян, обработанных препаратом «Бункер» в концентрации 1,5 л/т, значительно выше и составляет 84,5% для яровой пшеницы и 95% для озимой пшеницы (рис. 4).

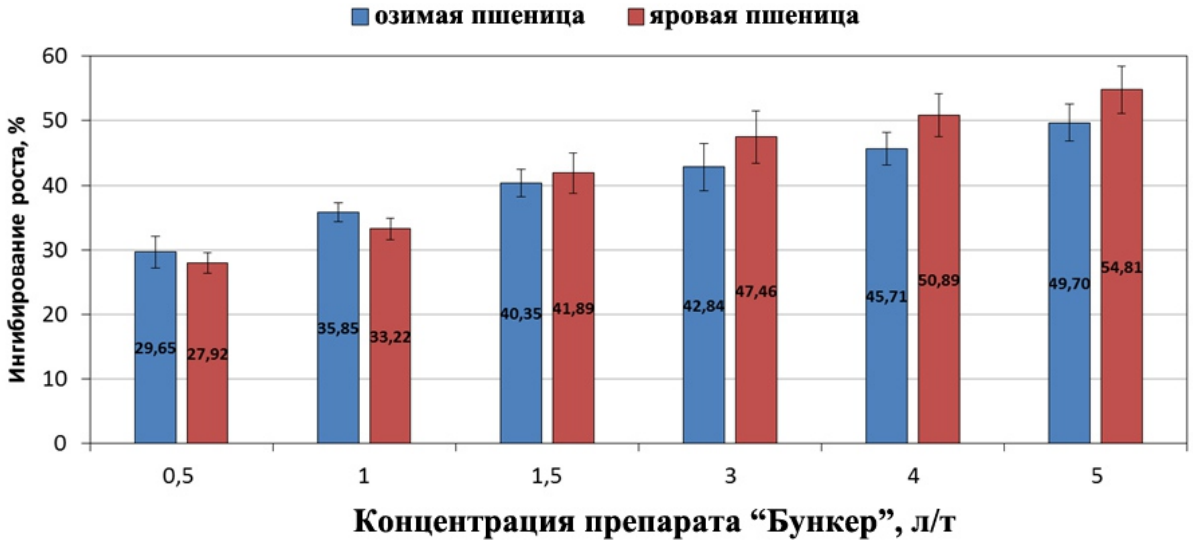

Figure 1. Ингибирование длины колеоптилей, вызванное обработкой семян озимой и яровой пшеницы препаратом «Бункер». В качестве контроля использовали колеоптили 5-ти суточных проростков, выращенных из семян, необработанных препаратом «Бункер». *n*=4. M±S.D.

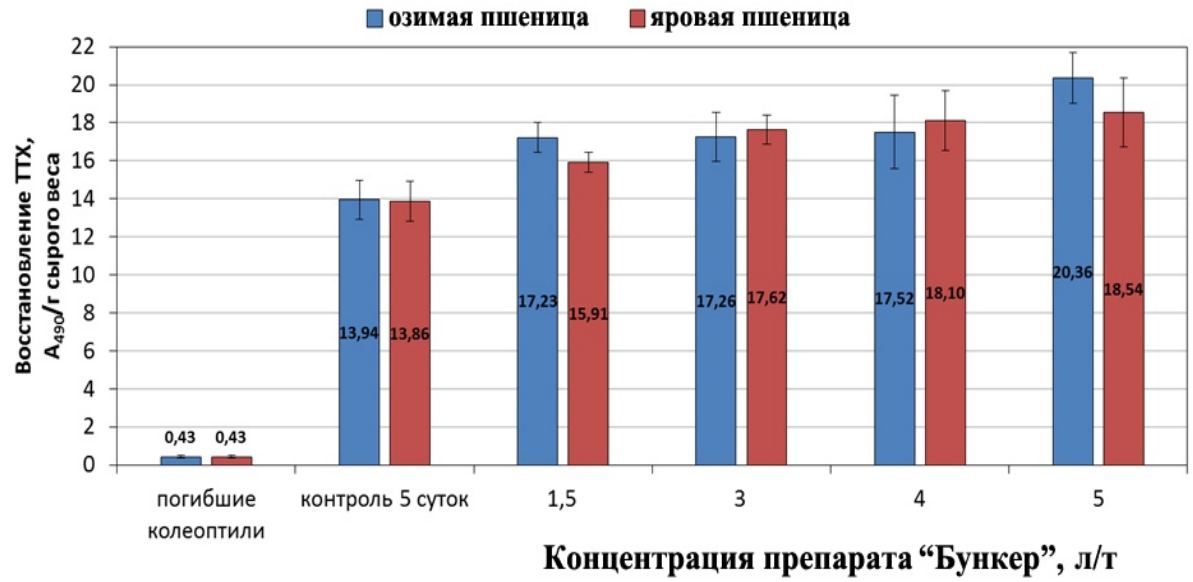

Figure 2. Влияние обработки семян препаратом «Бункер» на жизнеспособность клеток колеоптилей озимой и яровой пшеницы

Обозначения: погибшие колеоптили – колеоптили 5-ти суточных проростков злаков, подвергнутых кипячению; контроль 5 сут – колеоптили 5-ти суточных проростков злаков, выращенных из необработанных препаратом «Бункер» семян. *n*=3. M±S.D.

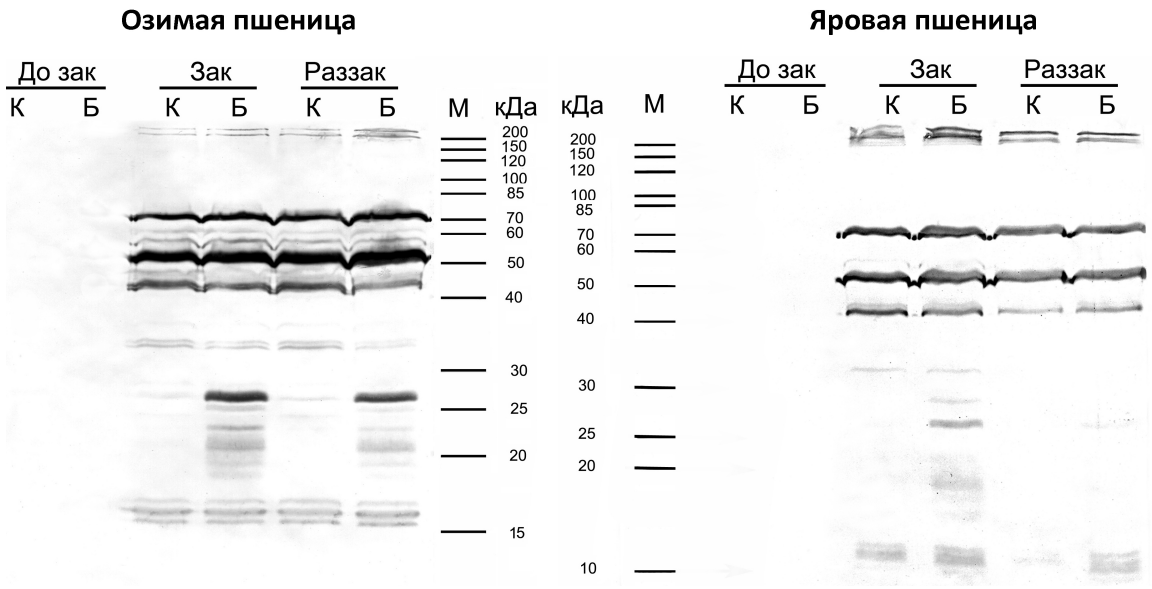

Figure 3. Влияние обработки семян препаратом «Бункер» на синтез дегидринов в побегах проростков озимой и яровой пшеницы, подвергнутых закаливанию и раззакаливанию

Обозначения: М – белковые маркеры (кДа); К – проростки, выращенные из необработанных семян (контрольные проростки); Б – проростки, выращенные из семян, обработанных препаратом «Бункер» (1,5 л/т); До зак – проростки до закаливания (24 ºС, 3 суток); Зак – 3-х суточные проростки, подвергнутые закаливанию (2 °С, 7 суток); Раззак – закалённые проростки, подвергнутые ступенчатому промораживанию при –2, –4, –6, –8, –10 °С и раззакаливанию при –8, –6, –4, 0, 4 °С (продолжительность воздействия представлена в методике). *n*=3.

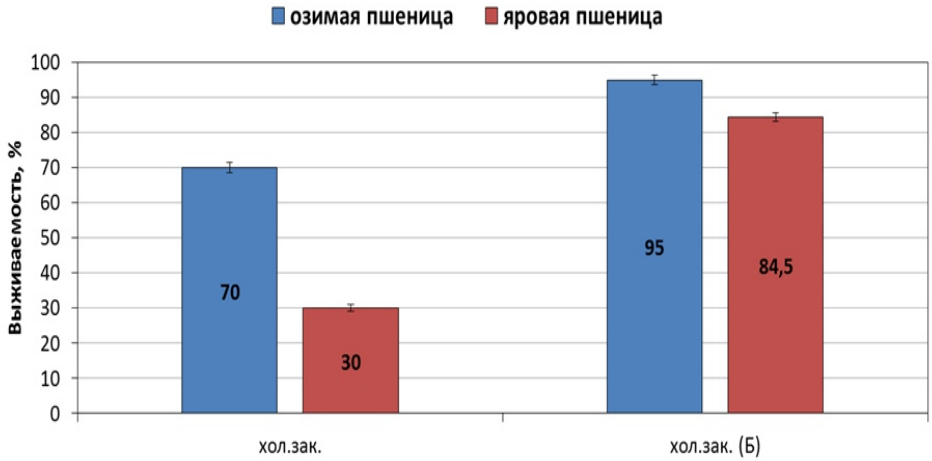

Figure 4. Влияние обработки семян препаратом «Бункер» на выживаемость проростков озимой и яровой пшеницы после действия отрицательной температуры -7 °С (24 ч)

Обозначения: хол.зак. – холодозакалённые проростки, выращенные из необработанных семян, хол.зак. (Б) – холодозакалённые проростки, выращенные из семян, обработанных препаратом «Бункер» (1,5 л/т). n=3. M±S.D.

Таким образом, обработка семян озимой и яровой пшеницы препаратом «Бункер» – фунгицидом триазольной природы, содержащим в качестве действующего вещества тебуконазол, приводит к ингибированию роста побегов, к синтезу в побегах специфических дегидринов и к

повышению морозоустойчивости проростков. Можно полагать, что наблюдаемые в работе эффекты от обработки семян озимой и яровой пшеницы препаратом триазольной природы обусловлены влиянием производных триазола на содержание в клетках АБК (Prusakova and Chizhova, 1998). Вероятно, что действие производных триазола на растительные клетки носит комплексный характер и не ограничивается их влиянием только на изученные параметры, что требует дальнейшего изучения.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что тебуконазол-содержащий препарат «Бункер» повышает устойчивость растений к низкой температуре, влияя на ростовые процессы и синтез стрессовых белков.

REFERENCES

Bubjakina V.V., Tatarinova T.D., Ponomarev A.G., Perk A.A. and Solomonov N.G. (2011) Osobennosti sezonnoj dinamiki degidrinov *Betula platyphylla* Sukacz., associirovannye s formirovaniem morozoustojchivosti v uslovijah kriolitozony. *Doklady Akademii nauk* [In Russian], **439**, 844–877.

Chinnusamy V., Zhu J. and Zhu J.-K. (2006) Gene regulation during cold acclimation in plants. *Physiol. Plant.*, **126**, 52–61.

Enikeev A.G., Gamburg K.Z., Vysockaja E.F. and Leonova L.A. (1995) Ob ispol'zovanii 2,3,5-trifeniltetrazolij hlorida dlja ocenki zhiznesposobnosti kul'tur rastitel'nyh kletok. *Fiziologija rastenij* [In Russian], **42**, 423–426.

Goyal K., Walton L.J. and Tunnacliffe A. (2005) LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress. *Biochem. J.*, **388**, 151–157.

Hanin M., Brini F., Ebel C., Toda Y., Takeda S. and Masmoudi K. (2011) Plant dehydrins and stress tolerance. Versatile proteins for complex mechanisms. *Plant Signal. Behav.*, **6**, 1503–1509.

Hara M. (2010) The multifunctionality of dehydrins. *Plant Signal. Behav.*, **5**, 1–6.

Ivanov V.B. (1974) Kletochnye osnovy rosta rasteniy. M. : Nauka [In Russian], 223 s.

Korsukova A.V, Grabel'nyh O.I., Ljubushkina I.V., Pobezhimova T.P., Koroleva N.A., Pavlovskaja N.S., Fedoseeva I.V., Voinikov V.K. (2013a) Rol' aktivnyh form kisloroda i uchastie mitohondrij v razvitii programmiruemoj kletochnoj gibeli v koleoptiljah ozimoj pshenicy. *Izvestija Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija "Biologija. Ekologija"* [In Russian], **6**, 10–18.

Korsukova A.V., Grabelnych O.I., Pobezhimova T.P., Koroleva N.A., Fedoseeva I.V., Pavlovskaya N.S., Lyubushkina I.V., Borovik O.A., Fedyaeva A.V., Voznenko S.A., Ilyushneva E.M., Voinikov V.K. (2013b) Cold hardening prevents H_2O_2-induced programmed cell death in maize coleoptiles. *J. Stress Physiol. & Biochem.*, **9**, 246–257.

Kosulina L.G., Lucenko Je.K. and Aksenova V.A. (2011) Fiziologija ustojchivosti rastenij k neblagoprijatnym faktoram sredy : Uchebnoe

posobie. Rostov n/D : Izd-vo Rost. un-ta [In Russian], 236 s.

Mel'nikov N.N., Novozhilov K.V. and Belan S.R. (1995) Pesticidy i reguljatory rosta rastenij : Spravochnik. M. : Himija [In Russian], 575 s.

Monroy A.F., Dryanova A., Malette B., Oren D.H., Farajalla M.R., Liu W., Danyluk J., Ubayasena L.W.C., Kane K., Scoles G.J., Sarhan F. and Gulick P.J. (2007) Regulatory gene candidates and gene expression analysis of cold acclimation in winter and spring wheat. *Plant Mol. Biol.*, **64**, 409–423.

Petrov K.A., Sofronova V.E., Bubjakina V.V., Perk A.A., Tatarinova T.D., Ponomarev A.G., Chepalov V.A., Ohlopkova Zh.M., Vasil'eva I.V. and Maksimov T.H. (2011) Drevesnye rastenija Jakutii i nizkotemperaturnyj stress. *Fiziologija rastenij* [In Russian], **58**, 866–874.

Pobezhimova T.P., Kolesnichenko A.V. and Grabel'nych O.I. (2004) Metody izuchenija mitohondrij rastenij. Poljarografija i elektroforez. M. : OOO «NPK Promjekspobezopasnost'» [In Russian], 98 s.

Ponomarev A.G., Tatarinova T.D., Perk A.A., Vasil'eva I.V. and Bubjakina V.V. (2014) Degidriny, associirovannye s formirovaniem morozoustojchivosti berezy ploskolistnoj. *Fiziologija rastenij* [In Russian], **61**, 144–120.

Popov S.Ja., Dorozhkina L.A. and Kalinin V.A. (2003) Osnovy himicheskoj zashhity rastenij : Uchebnoe posobie. Pod red. professora S.Ja. Popova. M.: Art-Lion [In Russian], 208 s.

Prusakova L.D. and Chizhova S.I. (1998) Primenenie proizvodnyh triazola v rastenievodstve (obzor). *Agrohimija* [In Russian], 37–44.

Skriver K. and Mundy J. (1990) Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress. *Plant Cell*, **2**, 503–512.

Theocharis A., Clément C. and Barka E.A. (2012) Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta,* **235**, 1091–1105.

Titov A.F., Akimova T.V., Talanova V.V. and Topchieva L.V. (2006) Ustojchivost' rastenij v nachal'nyj period dejstvija neblagoprijatnyh temperatur. Otv. red. N.N. Nemova. M. : Nauka [In Russian], 143 s.

Trunova T.I. (2007) Rastenie i nizkotemperaturnyj stress. M.: Nauka [In Russian], 54 s.