

**ВЛИЯНИЕ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР
НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ
У НЕКОТОРЫХ ВЕЧНОЗЕЛЁНЫХ ВИДОВ
СЕМЕЙСТВА *OLEACEAE***

Губанова Т. Б.

Федеральное государственное учреждение науки
«Никитский ботанический сад-Национальный научный центр РАН»
г. Ялта, Россия, e-mail: gubanova-65@list.ru

Представлены результаты исследований влияния отрицательных температур на параметры индукционной кривой хлорофилла у вечнозелёных видов рода *Ligustrum*, а также сортов *Olea europaea* и подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata*, в связи с их степенью морозостойкости. Установлено, что наиболее высокая морозостойкость у видов рода *Ligustrum* приходится на конец декабря – начало января, а у генотипов *O. europaea* максимум морозостойкости отмечается во второй декаде января и сохраняется до третьей декады февраля. Относительно устойчивы к отрицательным температурам – вид *L. lucidum* и сорт *O. europaea* ‘Никитская’. Установлено, что отрицательные температуры оказывают существенное влияние на уровень максимальной флуоресценции и эффективность световой фазы фотосинтеза. Наличие условий, необходимых для прохождения второй стадии закаливания способствует сохранению нормальной работы фотосинтетического аппарата у устойчивого вида *L. lucidum*, оказывает негативное влияние на фотосинтез у генотипов *O. europaea*. У сортов *O. europaea* в таких условиях отмечено увеличение снижения максимальной флуоресценции и вариабельной флуоресценции, что свидетельствует о рассеивании энергии возбуждения в виде тепла.

Ключевые слова: *Oleaceae*, вечнозелёные виды, фотосинтез, флуоресценция хлорофилла, морозостойкость.

Южный берег Крыма отличается особыми климатическими условиями холодного периода: частыми сменами тепла и холода, продолжительными оттепелями и возвратными заморозками в течение холодных периодов. С одной стороны, безморозный период продолжается 245 дней, абсолютно безморозный – 178 дней, а вероятность наступления морозов, опасных для субтропических культур –7 °С составляет 69 %, что позволяет выращивать достаточно широкий ассортимент лиственных вечнозелёных растений [8]. С другой – частые смены волн тепла

и холода, продолжительные оттепели зимой и возвратные заморозки в начале весны оказывают негативное влияние на субтропические вечнозелёные декоративные растения и плодовые культуры. Такие погодные условия могут стать причиной нарушения процессов закаливания, раннего выхода из состояния покоя, снижения концентрации криопротекторных соединений, что особенно опасно для видов, сохраняющих фотосинтетическую активность в зимнее время. В настоящее время установлено, что морозостойкость некоторых вечнозелёных растений может быть связана с работой окислительно-восстановительных ферментов, концентрацией флавоноидов, вероятно, принимающих участие в процессах регуляции перекисного окисления липидов и виолоксантинов, обеспечивающих работу фотосинтетического аппарата в условиях действия отрицательных температур [2, 6, 7]. Поэтому, цель наших исследований заключалась в определении степени потенциальной морозостойкости, её изменения при наличии (либо отсутствии) условий для прохождения стадий закаливания, а также в выявлении особенностей работы фотосинтетического аппарата у некоторых зимневегетирующих представителей семейства *Oleaceae*, в связи с их низкотемпературной устойчивостью.

Материалы и методы исследований. В качестве объектов исследований были выбраны виды семейства *Oleaceae*, два вида рода *Ligustrum* (вечнозелёный *L. lucidum* W. T. Aiton и зимнезелёный *L. compactum* (Wall. ex G. Don) Hook. f. et Thomson ex Decne) и сорта *Olea europaea* L. ('Никитская' – местной селекции и 'Раццо' средиземноморского происхождения), а также подвид *O. europaea* subsp. *cuspidata* (Wall. and G. Don) Cif. Для определения потенциальной морозостойкости использовали метод прямого промораживания однолетних побегов в климатической камере «Votcsh VT-4004» (градиент изменения температуры 2 °С/час) в течение холодного периода при температурах от –6 °С до –14 °С [5]. Исследования проводили в течение холодных периодов 2015–2018 гг. Материал для экспериментов отбирался каждые 15 дней. Температурный режим в камере устанавливали с учётом погодных условий, предшествующих моменту отбора проб. С целью исследования влияния температурных условий на способность к закаливанию была проведена серия опытов по прямому промораживанию побегов с прохождением первой стадии закаливания 0 °С – 6 часов и дальнейшим понижением температуры в камере до –8 °С (экспозиция – 8 часов), а также двух стадий закаливания (первая: 0 °С – 6 часов и вторая: –2 °С – 6 часов) [9]. Оценку состояния фотосинтетического аппарата осуществляли по изменению характера и параметров кривой индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ). Интенсивность флуоресценции хлорофилла измеряли с

помощью портативного хронофлуориметра «Floratest». Для анализа состояния фотосинтетического аппарата анализировали следующие параметры ИФХ [1, 11]:

– F_0 – базовый уровень флуоресценции, зависящий от потерь энергии возбуждения во время миграции по пигментной матрице, а также от содержания молекул хлорофилла, не имеющих функциональной связи с реакционными центрами (РЦ).

– F_{pl} – уровень флуоресценции в момент достижения её временного замедления.

– F_m – максимальное значение флуоресценции.

– F_{st} – стационарный уровень флуоресценции, отмечаемый через три минуты после момента освещения – показатель количества хлорофиллов, не принимающих участие в передаче энергии на РЦ.

А также расчётные параметры флуоресценции:

– $F_v = F_m - F_0$ – переменная флуоресценция – индикатор фотохимических окислительно-восстановительных процессов;

– F_v/F_{st} – коэффициент спада флуоресценции, эффективность квантового выхода фотосинтеза (индекс жизнеспособности);

– F_v/F_m – эффективность световой фазы фотосинтеза;

– $(F_{pl}-F_0)/F_v$ – количество невосстановленных Q_a в реакционных центрах ФС2.

Результаты и обсуждение. В результате определения потенциальной морозостойкости в контролируемых условиях установлено, что изучаемые виды различаются по степени устойчивости к действию отрицательных температур и времени достижения её максимального уровня. Так, установлено, что *L. lucidum* обладает относительно высокой морозостойкостью (критическая температура находится в пределах $-10\text{ }^{\circ}\text{C} \dots -12\text{ }^{\circ}\text{C}$), а *L. compactum* является слабоустойчивым видом (критическая температура – $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$). Наиболее высокая морозостойкость у этих видов отмечена в конце декабря – начале января. Необходимо отметить, что устойчивость к отрицательным температурам у *L. lucidum* сохраняется на высоком уровне до второй декады февраля, а затем планомерно снижается, в отличие от зимнезелёного вида *L. compactum*. У изучаемых генотипов *O. europaea* относительно высокой морозостойкостью отличался сорт ‘Никитская’ ($-12\text{ }^{\circ}\text{C}$). Низкая степень устойчивости к действию отрицательных температур выявлена у подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* ($-8\text{ }^{\circ}\text{C}$). Сорт ‘Раццо’, по уровню низкотемпературной резистентности, занимал промежуточное положение. У сортообразцов *O. europaea* максимум морозостойкости приходится на вторую декаду января и сохраняется до третьей декады февраля. По данным агрометеостанции «Никитский сад», метеороло-

гические характеристики холодных периодов 2015–2018 гг. были близки климатическим нормам для ЮБК. Понижение температуры воздуха до значений ниже -7°C , отмечены в январе 2016 и 2017 годов. Погодные условия холодного периода 2017–2018 гг. имели более выраженные отличия от климатических норм. В декабре 2017 г. наблюдалась тёплая с осадками погода, среднесуточная температура была на 3°C выше нормы и составила $+8,9^{\circ}\text{C}$. Средняя температура января превысила многолетнюю норму на $4,6^{\circ}\text{C}$, абсолютный минимум составил $-3,5^{\circ}\text{C}$. В феврале 2018 г. среднесуточная температура воздуха составила $+4,9^{\circ}\text{C}$, превысив норму на $1,6^{\circ}\text{C}$. Минимальная температура воздуха не опускалась ниже $-2,6^{\circ}\text{C}$. После тёплой зимы, в конце первой декады марта сложились погодные условия, в определенной степени опасные для лиственных вечнозелёных субтропических растений. Абсолютный минимум в марте составил $-3,4^{\circ}\text{C}$. Понижение температуры воздуха сопровождалось сильным ветром с порывами до 20 м/с .

Визуальная оценка в процессе исследований показала, что в периоды наступления морозов, опасных для субтропических культур наиболее существенные повреждения были у слабоустойчивых генотипов: *O. europaea* subsp. *cuspidata* и *L. compactum*. У морозостойкого сорта ‘Никитская’ единичные обмерзания листьев были отмечены в январе 2016 г. Детальный анализ сопутствующих метеофакторов и уровня реального водного дефицита в тканях листьев (скорость ветра, влажность воздуха, динамика среднесуточных температур за 10-дневный период, предшествующий морозам), показал, что на реализацию потенциальной морозостойкости у изучаемых представителей семейства *Oleaceae* существенное влияние оказывают влажность воздуха и скорость ветра в момент понижения температуры воздуха до отрицательных значений. А для сортообразцов рода *Olea* выявлена отрицательная зависимость между уровнем реального водного дефицита в листьях и зимостойкостью [5].

В результате анализа состояния изучаемых видов семейства *Oleaceae* в условиях относительно тёплой зимы 2017–2018 гг. были отмечены морозные повреждения тканей листа ($10\text{--}12\%$) у таксонов с низкой степенью морозостойкости – *O. europaea* subsp. *cuspidata* и *L. compactum*, несмотря на то, что минимальная температура воздуха не достигала критических значений. У относительно слабоустойчивого сорта маслины европейской – ‘Раццо’ повреждения листового аппарата были единичными. Не выявлено обмерзаний у генотипов с высокой устойчивостью к действию отрицательных температур – *L. compactum* и сорта *O. europaea* ‘Никитская’. Причиной повреждений послужили сложившиеся погодные условия холодного периода: отсутствие условий для прохождения стадий закаливания, а также сильный ветер, спрово-

ждавший понижение температуры воздуха, что и привело к иссушению листьев. Тёплая зима оказала негативное влияние на формирование потенциальной морозостойкости у относительно устойчивых *O. europaea* 'Никитская' и *L. lucidum* и среднестойкого сорта 'Раццо'. С помощью искусственного промораживания было установлено, что в условиях холодного периода 2017–2018 гг. у этих генотипов изменились сроки достижения максимальной устойчивости и продолжительность её сохранения. Так, максимальная морозостойкость у *L. lucidum* в указанный период, была зафиксирована в третьей декаде января, а её снижение отмечено во второй половине февраля. У сортов 'Никитская' и 'Раццо' максимальная степень устойчивости наблюдалась в третьей декаде января и сохранялась до второй декады января. У слабоустойчивых *O. europaea* subsp. *cuspidata* и *L. compactum* – не выявлено изменений в уровне и продолжительности сохранения степени низкотемпературной устойчивости. Такие изменения, с нашей точки зрения, связаны с гидротермическими условиями холодного периода 2017–2018 гг., способствовавшими позднему завершению ростовых процессов.

Для определения способности к закаливанию и влияния низкотемпературного стресса на состояние фотосинтетического аппарата у изучаемых представителей семейства *Oleaceae*, в контролируемых условиях была проведена серия экспериментов по искусственному промораживанию однолетних побегов при разных температурных режимах с последующим анализом параметров кривой ИФХ. Анализ формы кривой ИФХ и её параметров показал, что у всех генотипов в течении фотосинтетических процессов имеются сходства и различия, как до воздействия отрицательных температур, так и после него (табл. 1, рис. 1). В частности, минимальный уровень базовой флуоресценции, в контрольном варианте опыта, отмечен у таксонов с низкой степенью морозостойкости – *O. europaea* subsp. *cuspidata* и *L. compactum*. Для морозостойких *L. lucidum*, *O. europaea* 'Никитская' и среднеустойчивого сорта 'Раццо' характерны более высокие значения F_0 , что с одной стороны может свидетельствовать об относительно больших потерях энергии в процессе миграции электронов, а с другой – о большем количестве хлорофиллов, не связанных с реакционными центрами.

Наиболее значительные различия в характеристиках ИФХ у изучаемых таксонов семейства *Oleaceae*, в связи с их морозостойкостью, выявлены при сравнении максимального и стационарного уровня флуоресценции. Сравнения этих параметров позволяют сделать вывод о том, что у относительно устойчивых к отрицательным температурам генотипов (*L. lucidum*, *O. europaea* 'Никитская' и 'Раццо') концентрация хлорофиллов в пределах фотосистемы превышает таковую у сла-

бостойких таксонов (*O. europaea* subsp. *cuspidata* и *L. compactum*). Также, у устойчивых образцов, имеется большее количество молекул хлорофилла, не принимающих участие в передаче световой энергии на реакционные центры (Fst). С нашей точки зрения, это явление обеспечивает генотипам, резистентным к действию отрицательных температур, некоторый запас прочности фотосистемы, и позволяет сохранять нормальную работу фотосинтетического аппарата при наступлении стрессовых условий. Подтверждением сделанного вывода, может служить параметр (Fv/Fst), значения которого близки у всех изучаемых видов и сортов.

Таблица 1

**Параметры ИФХ листьев
представителей семейства *Oleaceae* при различных
режимах низкотемпературного воздействия**

Генотип	F ₀	Fpl	Fm	Fst	Fv	Fv/Fst	Fv/Fm	(Fpl-F ₀)/Fv
	контроль							
<i>O. europaea</i> subsp. <i>cuspidata</i>	293	578	1 152	345	859	2,49	0,75	0,25
‘Раццо’	432	997	1 872	576	1 395	2,42	0,74	0,41
‘Никитская’	554	1 589	2 325	880	1 771	2,01	0,76	0,58
<i>L. compactum</i>	330	576	1 360	384	1 030	2,68	0,76	0,24
<i>L. lucidum</i>	433	746	1 834	538	1 401	2,60	0,79	0,22
0 °С – 6 часов; –8 °С – 8 часов								
<i>O. europaea</i> subsp. <i>cuspidata</i>	282	330	784	261	502	1,92	0,64	0,1
‘Раццо’	416	768	1 328	768	912	1,19	0,69	0,39
‘Никитская’	586	992	1 984	704	1 440	1,45	0,73	0,28
<i>L. lucidum</i>	304	601	859	373	555	1,49	0,65	0,53
<i>L. compactum</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
0 °С – 6 часов; –2 °С – 6 часов; –8 °С – 8 часов								
<i>O. europaea</i> subsp. <i>cuspidata</i>	224	320	384	272	160	0,59	0,42	0,6
‘Раццо’	442	768	997	854	412	0,48	0,41	0,79
‘Никитская’	352	842	1808	544	1 456	2,67	0,81	0,34
<i>L. lucidum</i>	352	752	1312	440	960	2,18	0,73	0,41
<i>L. compactum</i>	*	*	*	*	*	*	*	*

Примечание: * – расчёты параметров ИФХ не проводились в связи с гибелью листьев.

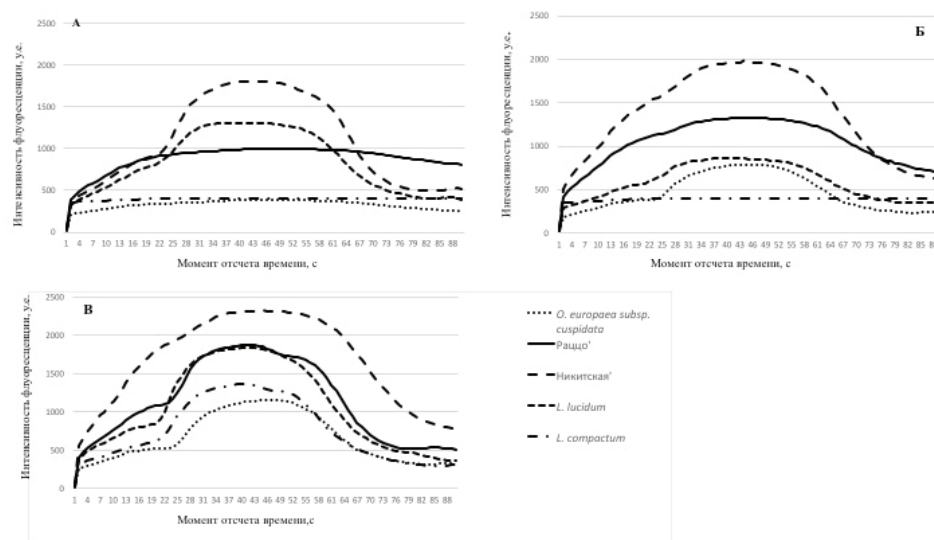


Рис. 1. Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла листьев представителей семейства *Oleaceae*: А – при предварительном закаливании до низкотемпературного воздействия (контроль); Б – без закаливания; В – до воздействия отрицательных температур (контроль)

Действие температуры $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ оказало негативное влияние на состояние фотосинтетического аппарата всех изучаемых видов. После промораживания в условиях, недостаточных для закаливания ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$ – 6 часа; $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ – 8 часов) у слабоморозостойкого *L. compactum* на кривой ИФХ отсутствовали характерные пики, что свидетельствовало о полной и необратимой инактивации фотосинтетического аппарата в листьях. У всех изучаемых видов отмечено снижение максимальной флуоресценции различной интенсивности. Наиболее значительно этот параметр изменился у *L. lucidum* – на 53 %. Необходимо отметить, что у сорта ‘Раццо’ на фоне уменьшения F_m , возросло количество хлорофилла, не принимающего участия в передаче энергии к реакционным центрам. У остальных изучаемых генотипов стационарный уровень флуоресценции снизился, причём различия в интенсивности этого процесса у устойчивого сорта ‘Никитская’ и неустойчивого *O. europaea* subsp. *cuspidata* были незначительны (20 % и 26 %, соответственно). Действие температуры $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ послужило причиной снижения квантового выхода фотосинтеза и эффективности его световой фазы. Индекс жизнеспособности в пределах нормы остался только у генотипов рода *Olea*. Величина F_v/F_{st} у *L. lucidum* свидетельствовала о начале необратимых процессов в работе фотосинтетического аппарата. Иная картина наблюдалась при режиме промораживания с

двумя стадиями закаливания. Такое низкотемпературное воздействие оказалось губительным для листьев *O. europaea* subsp. *cuspidata*, что подтверждается расчётными значениями параметров ИФХ и формой кривой. Наиболее существенно изменились уровни максимальной, стационарной, вариабельной флуоресценции. Необходимо отметить, что такие условия способствовали замедлению снижения Fm у морозостойкого вида *L. lucidum*, но усилило его же снижение у сортов *O. europaea* 'Никитская' и 'Раццо'. При этом, величина Fv уменьшилась у всех изучаемых генотипов в обоих вариантах на 40–70 %, за исключением сорта 'Никитская', у которого эти изменения составили 18 %. Снижение вариабельной флуоресценции указывает на падение фотосинтетической активности и увеличение рассеивания энергии возбуждения в виде тепла, а также может быть связано с нарушением структуры тилакоидов [3, 10]. Анализ изменения индекса жизнеспособности показал, что наличие условий для прохождения второй стадии закаливания оказало негативное влияние на сорта *O. europaea* 'Раццо' и 'Никитская' – у сорта 'Раццо' Fv/Fst оказался за пределами нижней границы нормы витальности, а у сорта 'Никитская' – за пределами верхней границы. Касательно вида *L. lucidum*, установлено, что действие закаливающих температур способствовало сохранению нормального уровня фотосинтетической активности.

Выводы. Установлено, что изученные вечнозелёные виды семейства *Oleaceae* различаются как по степени морозостойкости, так и по срокам достижения её максимума. Наиболее высокая морозостойкость у видов рода *Ligustrum* отмечена в конце декабря – начале января, а у генотипов *O. europaea* – во второй декаде января и сохраняется до третьей декады февраля. Относительно устойчивы к отрицательным температурам – вид *L. lucidum* и сорт *O. europaea* 'Никитская'. Для *O. europaea* subsp. *cuspidata*, сорта *O. europaea* 'Кореджиоло' и *L. compactum* характерна низкая морозостойкость. Сорт 'Раццо' занимает промежуточное положение. На реализацию потенциальной морозостойкости у представителей семейства *Oleaceae* существенное влияние оказывают влажность воздуха и скорость ветра в момент понижения температуры воздуха до отрицательных значений. Действие температуры -8°C , в сочетании с кратковременной закалкой при 0°C послужило причиной снижения квантового выхода фотосинтеза и эффективности его световой фазы у всех изучаемых генотипов. Однако индекс жизнеспособности в пределах нормы остался только у генотипов рода *Olea*. У морозостойкого вида *L. lucidum* значение этого параметра свидетельствовало о начале необратимых нарушений в работе фотосинтетического аппарата.

Однако, наличие условий, необходимых для прохождения второй стадии закаливания способствует сохранению нормальной работы фотосинтетического аппарата у вида *L. lucidum*, но оказывает негативное влияние на фотосинтез у генотипов *O. europaea*. У сортов *O. europaea* в таких условиях отмечены значительные снижения максимальной и вариабельной флуоресценции, что свидетельствует о рассеивании энергии возбуждения в виде тепла, а также возможном нарушении структуры тилакоидов.

Библиографический список

1. Будаговская О.Н., Будаговский А.В., Будаговский И.А.. Лазерная диагностика растений: методические рекомендации. – Мичуринск, 2010. – 54 с. – ISBN 978-5-98429-064-7
2. Бульшева М.М., Котеева Н.К., Миргородская О.Е. Два механизма структурной адаптации ассимиляционного аппарата вечнозелёных растений к низким температурам зимнего периода // Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий: материалы всероссийской науч. конф., Петрозаводск 21-26 сентября 2015 г. – Петрозаводск: Карельский науч. центр РАН, 2015. – С. 215. – ISBN 978-5-9274-0687-6.
3. Гольцев В.Н., Каладжи М.Х., Кузманова М.А., Аллахвердиев С.И. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений. – М. – Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2014. – 220 с. – ISBN 978-5-4344-0180-7.
4. Губанова Т.Б., Браилко В.А., Мязина Л.Ф. Зимостойкость некоторых видов семейства *Oleaceae* в коллекции Никитского ботанического сада // Hortus Botanicus, 2018. – Т. 13. – С. 250-259. – ISSN 1994-3849.
5. Методические указания по физиологической оценке устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды / под ред. А.И. Лищука. – М.: 1991. – С. 29-31.
6. Палий А.Е., Губанова Т.Б., Палий И.Н. Изменение активности окислительно-восстановительных ферментов в листьях *Olea europaea* L. при воздействии отрицательных температур // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: межрегиональн. сб. науч. работ. ВГУ. – 2018. – Вып. 20. – С. 168-172. – ISBN 978-5-7458-1142-7.
7. Палий А.Е., Палий И.Н., Старцева О.В. Изменение содержания фенольных соединений в листьях сортов *Olea europaea* L. с различной степенью морозостойкости // Учёные записки КФУ им В.И. Вернадского. Сер. Биология. – 2018. – Т. 4. – № 3. – С. 143-150. – ISSN 2413-1725.
8. Плугатарь Ю.В., Корсакова С.П., Ильницкий О.А. Экологический мониторинг Южного берега Крыма. – Симферополь: ИТ Ариал, 2015. – 161 с. – ISBN 978-5-906813-33-6.
9. Туманов И.И. Физиологические основы зимостойкости культурных растений. – М., Сельхозгиз. 1980. – 234 с.
10. Reigosa R.M.J., Weiss O. Fluorescence techniques. In: Handbook of Plant Ecophysiology Techniques // Acad. Publ., Dordrecht, the Netherlands. – 2001. – P. 155-171.
11. Stirbet A. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient, J. Photochem // J. Photochem and Photobiol. B: Biol. – 2011. – P. 1-22. – ISSN 1873-2682.

**THE INFLUENCE
OF NEGATIVE TEMPERATURES ON PHOTOSYNTHETIC
ACTIVITY IN SOME EVERGREEN SPECIES
OF *OLEACEAE* FAMILY**

Gubanova T. B.

*Federal State Budgetary Scientific Institution
“Nikitsky Botanical Garden – National Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences”,
c. Yalta, Russia, e-mail: gubanova-65@list.ru*

The paper represents the studies of negative temperatures effect on the chlorophyll fluorescence induction curve parameters in evergreen species of *Ligustrum* genus, as well as in the cultivars of the species *Olea europaea* and subspecies *O. europaea* subsp. *cuspidata*, due to their degree of frost resistance. It was established that the highest frost resistance in *Ligustrum* species was registered the end of December – beginning of January, while in *O. europaea* genotypes the maximum frost resistance was demonstrated in the second ten-day festival of January and lasted until the third ten-day festival of February. The species *L. lucidum* and the cultivar ‘Nikitskaya’ of *O. europaea* genus were relatively resistant to negative temperatures. It was established that negative temperatures have a significant effect on the level of maximum fluorescence and the efficiency of the photosynthesis light phase. The appropriate conditions necessary for passaging the second stage of hardening contributed to preservation of the normal operation of photosynthetic apparatus in resistant species *L. lucidum* and had a negative impact on photosynthesis in *O. europaea* genotypes. In such conditions *O. europaea* cultivars demonstrate a raising decrease in maximum and variable fluorescence which indicates the dissipation of excitation energy in the form of heat.

Key words: *Oleaceae*, evergreen species, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, frost resistance.