

PATATESTE SOĞUĞA DAYANIKLILIK VE SOĞUK AKLİMASYON SÜRECİ

Hakan ÖZER

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum

Tahsin KARADOĞAN

Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta

ÖZET : Patateste tarımının yapıldığı alanlarda karşılaşılan en önemli sorunlardan biri don stresidir. İlkbahar yada sonbahar aylarında görülen donlar sonucunda patates bitkilerinin toprak üstü aksamları zarar görmekte, verim ve kalitelerinde azalmalar olmaktadır. Günümüzde kültürü yapılan patateslerin büyük bir bölümü dona karşı hassas olarak bilinen *Solanum tuberosum* türüne girmektedir. Bununla birlikte yumru oluşturan çok sayıdaki patates türleri arasında dona dayanıklı türlerin olduğu da bilinmektedir. Bu bakımdan, dona dayanıklılığın geliştirilmesindeki başarı şüphesiz, söz konusu patates türlerinde bitki ve hücre düzeyinde yapılan ya da yapılacak araştırmalar ve bu araştırmalardan edindiğimiz bilgilere bağlıdır.

COLD RESISTANCE AND ACCLIMATION PROCESS IN POTATO

SUMMARY : One of the most important problems in the areas where potato is cultivated frost stress. Depending on the intensity of frost confronted with spring or fall in this areas potato crops can be killed or the foliage severely damaged resulting in crop failure or reduced yield. Today, *Solanum tuberosum* regarded as cold sensitive includes majority of potatoes cultivated. However, it is also known that frost resistant species exist among many tuber-bearing *Solanum* species. Therefore, success in increasing frost resistance will depend upon studies to be carried out in plant and cell level in potato species involved and understanding the knowledge from these studies.

GİRİŞ

Patates, ılıman bölgelerin bitkisi olup, dünya üzerinde özellikle Kuzey Amerika ve Avrupa'nın mutedil alanları ile Güney Amerika'daki And Bölgesinin yüksek kesimlerinde yetişmektedir. Bu alanlarda don olayı patates üretimini kısıtlayan ana faktör durumundadır. Donun şiddetine bağlı olarak yaprak dokularında zararlanmalar olmakta, bitkiler ölmekte yada verimlerinde düşmeler görülmektedir. Buna ilaveten olgunlaşmada gecikme, ürünün turfanda fiyatı ve kalitesinde düşme, bitkilerin böcek ve hastalıklara karşı duyarlılıklarında artma olmaktadır (Brown ve Blackburn, 1987).

Bugün dünya üzerinde en fazla kültürü yapılan patates türü olan *Solanum tuberosum* -3.0 °C'de canlılığını kaybetmektedir (Li, 1994). Esasen dona hassas ve dayanıklı patates tipleri arasındaki don mukavemeti farkı 3-4 °C kadardır (Chen ve Li, 1980a). Dolayısıyla dona dayanıklılığın 2-3 °C kadar artırılması, başarılı bir patates tarımının yapılmasını mümkün kılacak, böylelikle patates tarımının yapıldığı alan sınırları daha da genişleyecektir. Sonuçta dona dayanıklı patates çeşitlerinin kullanıma girmesi ile birlikte büyüme daha erken bir dönemde başlayacak ve daha gelişmiş kök sistemleri ile bitkiler uzun bir fotosentez periyodu sayesinde daha iyi gelişecek ve verimleri artacaktır.

Dona Dayanıklılıkla İlgili Terimler

Dona Dayanma : Patates yaprak dokularının herhangi bir zararlanma olmaksızın -4 °C veya daha düşük donma sıcaklıklarında canlı kalabilme kabiliyetlerini tarif etmektedir. Sadece -2.5 °C veya daha sıcak donma noktalarında canlı kalabilen türler ise dona hassas türler olarak bilinirler.

Süper Soğuma : Bitki dokularının kristalleşme veya katılaşma olmaksızın sıfırın altındaki sıcaklıklarda soğuması olayıdır.

Soğuk Aklimasyonu (Soğuga Alışma): Bitkilerin önceden düşük sıcaklık rejimlerinde tutulması olayıdır. Bu sayede bazı türler uygulama sonrası dona dayanıklılıklarını artırır. Başka bir ifadeyle aklimasyon şartlarına maruz kalındığında donma toleransındaki artıştır. Genel olarak bir çok bitki, sıcaklık kademeli olarak 10 °C'nin altına indirildikçe aklime olurlar.

Mutedil bölge bitkilerinin dona toleransları yıl boyunca farklılık göstermektedir. Bu bitkiler kışın -30 °C veya daha düşük donma derecelerine dayanabildikleri halde, bahar ve yaz aylarında -3, -5 °C gibi düşük sıcaklıklarda görülen bu artış soğuk aklimasyonuna bağlanmaktadır (Steponkus, 1978).

Geçici Don Zararı : Don olayı sonrası hasara uğramış hücreler henüz yaşama kabiliyetlerini kaybetmemiş ve yine çözülmeye anında ölmemişlerse, ortaya çıkan durum geçici don zararı olarak tanımlanır.

Dönüşümü Olmayan Don Zararı : Donma sonucu hücrelerin gerçekten ölmüş olmaları halini ifade eder.

Üşütme Zararı : Herhangi bir don olayının yaşanmadığı düşük sıcaklık derecelerinde bitkilerde görülen zararlanmalardır. Üşütme zararı genel olarak 10 °C'nin altındaki sıcaklıklarda tropik ve subtropik orijinli bitkilerde gözlenmekte olup, çoğunlukla membranlardaki lipid viskozitesinde meydana gelen değişimlerden kaynaklanmaktadır (Li, 1994).

Don Zararının Oluşumu

Don zararına uğramış patates yaprakları, hücre içi soyun hücreler arası boşluklara geçişi ve turgor kaybından dolayı kararmış ve sulu bir görünüm arzederler. Don zararının bir başka belirtisi de suyla birlikte iyon akışının özellikle K^+ iyonları sızıntısının söz konusu olmasıdır (Li ve ark., 1981).

Hücrelerarası boşluklara doğru su ve iyon geçişinin meydana gelmesinde membran yarı geçirgenliğinin bozulmasının etkili olduğu kabul edilmektedir. Don stresi altında membran elastikiyetinde gözlenen kaybın ise proteinlerin agregasyonuna neden olduğu ifade edilmiştir (Levitt, 1972).

Don olayı esnasında membran büzüşmekte, çözülme anında ise genişlemektedir. Sonuçta plasma membranı bütünlüğünü kaybetmekte ve stres sonrasında membran yıkımı olmaktadır (Steponkus, 1978).

Patates ve soğan dokuları üzerinde yapılan çalışmalar (Palta ve ark., 1977; Palta ve Li, 1978) don stresinin derecesine bağlı olarak zararlanmanın "geri dönüşümlü veya dönüşümsüz" olabileceğini göstermiştir. Geri dönüşümlü zararlanmada, don zararı iyon akışına yol açabilir. Ancak membranın yarı geçirgenliğinde veya membran yıkımında tam bir kayba neden olmaz (Palta ve ark., 1977; Palta ve Li, 1978). Don zararına uğramış *S. acaule* dokuları üzerinde yapılan çalışmalarda plasma membranı yıkımı gözlenmemiştir. Bununla beraber zararın ilerlemesi sonucu protoplazma mitokondri ve kloroplastlarda şişmeler tesbit edilmiştir (Li ve Palta, 1978). Donma çözülme olayından sonra ise hücreler arasındaki su erimiş ve elastik olan hücre duvarı hemen hemen eski şeklini almıştır.

Geriye dönüşümü olmayan zararlanmada ise hücre ölmekte yani membran yarı geçirgenliğini tamamen kaybetmekte veya membran yıkımı olmaktadır. Böyle bir zararlanma örneğinde protoplazma tekrar eski şeklini alamaz ve büzüşmüş vaziyette kalır. Bu durum "don plazmolizi" adını alır (Li ve Palta, 1978).

Genel olarak don zararı sonucunda membran yıkımından ziyade plasma membranlarında değişiklikler olmaktadır. Plasma membranlarında görülen bu değişiklikler: (1) hücrelerden iyon akışının artması (2) hücrenin turgor durumunu kaybetmesi (3) protoplazma, mitokondri ve kloroplastların şişmesi şeklinde özetlenebilir. Don zararına uğramış ancak henüz canlı olan hücreler üzerinde yapılan incelemeler, don stresi süresince plasma membranının lipid kısmının değişmediğini daha çok membran proteinlerinin değiştiğini ortaya koymuştur (Palta ve Li., 1980). Burada, değişime uğrayan membran proteinleri aktif iyon taşımada rol oynayan "integral proteinler" dir. Bu proteinler membran içine sıkıca bağlı olup, 2 katmanlı lipid tabakası boyunca uzamaktadır (Salisbury ve Ross, 1992). Palta ve Li (1980), don stresi sonrasındaki iyon akışının daha çok membran taşınım sistemindeki (proteinler) değişmelerden kaynaklandığını ifade etmişlerdir.

Yukarıda anlatılanların ışığı altında, don zararının devresine bağlı olarak; aktif membran taşınım sisteminde bozulma, hücre içi su kaybı sonucu plasma membranının deforme olması ya da plasma membranının mekanik olarak parçalanması (membran yıkımı) gibi olayların yaşandığı söylenebilir.

Soğuk Aklimasyonu ve Dona Dayanıklılık

Soğuğa dayanıklılık süreci, fizyolojik, biyokimyasal ve biyofiziksel bazı değişiklikleri de beraberinde getirir. Kuru ağırlık, şeker, aminoasit (özellikle proline) konsantrasyonundaki artış (Chu ve ark., 1978; Kaldy ve Freyman, 1984; Van Swaaij ve ark. 1985; Kushad ve Velenosky, 1987), membranların fiziksel durumu ve kimyasal kompozisyonlarında (Uemure ve Yoshida, 1984; Huner ve ark., 1989), protein kompozisyonunda (Perras ve Sarhan, 1989) ve hormonların seviyesindeki değişimler (özellikle ABA) (Chen ve ark, 1983) bunlara örnek olarak verilebilir.

Aklime olmamış birçok patates türü kültürü yapılan *S.tuberosum* için öldürücü sayılan -4 ile -6 °C civarındaki donlara karşı tolerans gösterebilmektedir (Tablo 1). Bu tolerans *S. acaule* ve *S. commersonii* gibi türlerde soğuk aklimasyonu ile artmaktadır (Chen ve Li, 1980a).

Patates bitkilerinin soğuk aklimasyonu, sıcaklıkların adım adım düşürülmesi (Chen ve Li, 1976) ya da direkt olarak sabit gündüz-gece düşük sıcaklıklara maruz bırakılmalarıyla gerçekleştirilir (Chen ve ark. 1979). Adım adım aklime etme koşullarında patates 3 haftadan daha uzun bir süre aklime olmaya devam eder. Yani daha uzun bir süreyi gerektirir. Oysa sabit düşük sıcaklıklara maruz bırakılan bitkiler yaklaşık 2 hafta içerisinde maksimum don mukavemetine ulaşırlar. Patateslerde dona mukavemetteki artış soğuk aklimasyonunun 3. gününden itibaren başlar (Chen ve Li. 1982).

Dona dayanıklı bir tür olan *S. commersonii* türünün süspansiyon kültüründeki hücreleri üzerinde ABA ve soğuk uygulamasıyla don toleransının incelendiği bir çalışmada (Lee ve ark, 1992), hem ABA, hem de 4 °C'lik düşük sıcaklık uygulamasının kültüre alınmış hücrelerin don toleransını artırdığı saptanmıştır. Soğuk teşvikli don toleransı 2 günde maksimuma ulaşmış ve 11 günlük aklimasyon süresince sabit kalmış; ancak ABA teşvikli don toleransı ABA uygulamasından 2-5 gün sonra hızla azalma göstermiştir.

Palta ve ark. (1993), soğuk aklimasyon uygulaması sonrası aklime olan (*S. commersonii*) ve aklime olmayan (*S. tuberosum*) türlerin plasma membranlarının lipidlerinde değişiklikler olduğunu bildirmişlerdir.

Lipidlerdeki bu değişiklikler her iki türde de: (1) palmitik asit içeriğinde azalma, (2) doymamış/doymuş yağ asiti oranında ve (3) serbest steroller de ve sitosterollerde artma şeklinde ortaya çıkmıştır. Palta ve ark., (1993). Soğuk aklimasyon uygulaması sonrası don toleransındaki artışla birlikte fosfolipidlerde de bir artışın meydana gelmesinin fosfolipidlerin don toleransının artırılmasındaki önemini ortaya koyduğunu belirtmişlerdir.

Tablo 1. Soğuğa Tolerans ve Soğuk Aklimasyonu Yönünden Yumru Oluşturan *Solanum* Türlerinin Sınıflandırılması.

Table 1. Classification of tuber-bearing *Solanum* Species in Terms cold tolerance and cold acclimation.

Gruplar	Türler	Öldürücü Aklimasyon Öncesi (a)	Sıcaklık (°C) Aklimasyon sonrası (b)
1. Grup	<i>S. acaule</i> (Oka 3885)	-6.0	-9.0
Dona dayanıklı ve soğuğa aklime olanlar	<i>S. commersonii</i> (Oka 5040)	-4.5	-11.5
	<i>S. multidissectum</i> (PI 210042)	-4.0	-8.5
	<i>S. chomatophilum</i> (PI 266387)	-5.0	-8.5
	<i>S. bolviense</i> (PI 265860)	-4.5	-4.5
2. Grup	<i>S. megistacrolobum</i> (Oka 3914)	-5.0	-5.0
	<i>S. sanctae-rosae</i> (Oka 5697)	-5.5	-5.5
	<i>S. oplocense</i> (Oka 4500)	-3.0	-8.0
3. Grup	<i>S. polytrichon</i> (PI 184773)	-3.0	-6.0
	<i>S. brachistotrichum</i> (PI 320265)	-3.5	-3.5
4. Grup	<i>S. cardiophyllum</i> (PI 186548)	-3.0	-3.0
	<i>S. fendleri</i> (PI 275163)	-3.0	-3.0
	<i>S. jamesii</i> (PI 275163)	-3.0	-3.0
	<i>S. kurtzianum</i> (Oka 4940)	-3.5	-3.5
	<i>S. microdontum</i> (Oka 5623)	-3.0	-3.0
	<i>S. pinnatisectum</i> (PI 275232)	-2.5	-2.5
	<i>S. stenotomum</i> (PI 195188)	-3.5	-3.5
	<i>S. stoloniferum</i> (PI 161770)	-3.0	-3.0
	<i>S. sucrense</i> (EBS 1791)	-3.0	-3.0
	<i>S. tuberosum</i> (cv. Red Pontiac)	-3.0	-3.0
	<i>S. venturii</i> (Oka 498)	-3.5	-3.5
	<i>S. vernei</i> (Oka 4476)	-3.5	-3.5
	<i>S. verrucosum</i> (PI 195170)	-3.0	-3.0
	5. Grup	<i>S. trifidum</i> (PI 255541)	-3.5

(a) Bitkiler 14 saat ışık 20/15 °C gündüz/gece sıcaklık rejiminde yetiştirilmiştir.

(b) Bitkiler 20 gün süreyle 14 saat ışık, 2 °C'lik sıcaklık rejiminde yetiştirilmiştir.

(c) Bitkiler 20 gün 2 °C'lik sıcaklıkta tutulduklarında ölmüşlerdir

Kaynak; Chen ve Li, 1980a.

Uzun zamandan beri soğuk aklimasyonu esnasında şekerlerde görülen artışın don dayanıklılığındaki artışla ilişkili olduğu düşünülmüştür (Levitt, 1980). Gerçekten de yumru oluşturan *Solanum* türlerinin yapraklarındaki şeker ve nişasta soğuk aklimasyonu süresince artmaktadır (Chen ve Li., 1980 b). Soğuk aklimasyonu esnasında şekerlerde görülen artış, *S. commersonii* 'de (aklime olan tür). *S. tuberosum* gibi aklime olamayan türlere oranla daha yüksektir (Chen ve Li. 1980b, 1982).

Genel olarak, hücresel şeker içeriğindeki artış, hücre özsuyunun donma noktasını düşürür ve böylece hücrelerin ölme sıcaklıkları düşmüş olur. Ancak, Chen ve ark. (1976), soğuğa aklime olmuş patates türleri ve onların hücre özsuyu konsantrasyonları arasında böyle bir ilişkinin olmadığını gözlemişlerdir. Nitekim Chen ve Li (1982), soğuğa aklime olmuş patateslerde, soğuk aklimasyonu süresince osmotik konsantrasyonda gözlenen değişikliklerin, dona mukavemetin artırılmasını sağlamadığını bildirmişlerdir.

Soğuk aklimasyonu esnasında patatesteki şeker içeriğinin arttığı fakat, değişimin don mukavemetindeki artışla direkt paralel bir ilişki göstermediği ortaya konmuştur. Daha ziyade, şeker birikimi ile osmotik konsantrasyondaki artış arasında paralel bir ilişki gözlenmiştir (Chen ve Li, 1982). Osmotik konsantrasyonun kritik bir seviyeye ulaştığı anda, bitkilerdeki ABA (absisik asit) konsantrasyonunda artışın görüldüğü belirlenmiştir (Rikin ve ark. 1975, 1976). ABA'nın dona mukavemeti teşvik ettirebileceği ve patates bitkilerinin aklime edici sıcaklıklara maruz kaldıklarında ABA içeriğinin arttığı da bilinmektedir (Chen ve ark., 1983). Bu nedenle, soğuk aklimasyonu esnasında şeker birikiminin bir anahtar rol oynayabileceği fakat osmotik konsantrasyonun artırılmasıyla endogen (dahili) ABA artışını başlatmada indirekt bir rol oynayabileceği düşünülebilir.

Soğuk aklimasyonu süresince *S. tuberosum* 'da osmotik konsantrasyonun yükselmesi ve şeker içeriğindeki artış, *S. commersonii* gibi soğuğa aklime olan türlere göre çok daha azdır (Chen ve Li, 1982). Soğuk aklimasyonu boyunca *S. tuberosum* 'da hiçbir ABA inşası gözlenmemiştir (Chen ve ark., 1983). Ancak dışarıdan uygulanan ABA, *S. tuberosum* 'da dona mukavemeti gerçekten artırmıştır (Chen ve ark., 1979). Dışarıdan uygulanan ABA'nın bütün (Bronman ve Jansson, 1980) ve yonca (Rikin ve ark., 1975) gibi bitkilerin soğuğa toleranslarını da artırdığı belirlenmiştir. Bütün bu sonuçlar ABA'nın bitkilerin dona adaptasyonlarında önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

ABA muhtemelen soğuğa dayanıklılığın geliştirilmesinde direkt bir rol oynamaz. Fakat protein sentezindeki etkisinden dolayı soğuk aklimasyonu süresince gerekli olduğu kabul edilmektedir (Chen ve ark., 1983).

Soğuğa aklime olan *S. acaule* ve *S. commersonii* türlerinde soğuk aklimasyonu esnasında dona dayanıklılıktaki net artışlar toplam eriyebilir proteinlerdeki artışla doğrusal bir ilişki göstermiştir. Aynı soğuk uygulamasından sonra aklime olmayan *S. tuberosum* 'da bu ilişki gözlenmemiştir (Chen ve Li, 1980b). Bu sonuçlar, soğuk aklimasyonu boyunca protein metabolizmasının dona dayanıklılığının geliştirilmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Genel olarak, sadece düşük sıcaklıklarda aktif protein sentezini gerçekleştirilebilen patates türleri soğuğa aklime olma kapasitesine sahiptirler (Chen ve ark, 1983).

RuBPCase (Ribuloz 1.5-bifosfat karboksilaz oksijenaz) yeşil bitkilerde yaprak proteininin toplam % 50 sine yakın bir kısmını oluşturan, yani en bol bulunan proteindir (Jensen ve Bahr, 1977). Bu enzim CO₂ fiksasyonunu ve fotorespirasyonda O₂ fiksasyonunu katalize eder. Son yıllarda yapılan bir laboratuvar çalışması dona dayanıklı *S. commersonii* 'den alınan RUBPCase'in dizilişi içerisinde az sayıda SH grubunun olduğu bunun ise don stresi altında RUBPCase'i agregasyondan koruyarak *S. tuberosum* 'dan elde edilen RUBPCase'e göre yapısal olarak daha stabil hale getirdiğini göstermiştir (Levitt, 1972). *S. commersonii*'den elde edilen bu enzim hakkında bildirilen yapısal ve fonksiyonel farklılıkların, proteinlerin termal stabiliteilerinin dona dayanıklı türlerin düşük sıcaklıklara adapte olmalarında rol oynadıklarını gösteren önemli bir delil olduğu kabul edilmektedir.

Don Canlılığı (Canlı Kalabilme)

Dünya üzerinde *Solanum* cinsine mensup 150 civarında yumru oluşturan tür bulunmaktadır (Burton, 1966). Patates türlerinin dona dayanıklılıkları farklılık göstermektedir. Yumru oluşturan 60 *Solanum* türünün dona mukavemetlerinin incelendiği bir çalışmada (Li, 1977), normalde düşük verimli olan kültürü yapılmayan patateslerin çoğunun dona dayanıklı oldukları belirlenmiştir. Bu türler -4 °C ve daha soğuk koşullarda canlılıklarını koruyabilmektedirler. Buna karşın, yaygın bir şekilde tarımı yapılan *Solanum tuberosum* çeşitleri -2.5 °C'nin altındaki sıcaklıklarda yaşamlarını yitirmişlerdir (Palta ve Li, 1979). *S. acaule* ile *S. tuberosum* 'un hibridi olan "Alaska Frostless" patatesi sadece -2.7 °C'ye kadar canlı kalabilmektedir (Chen ve Li, 1976). Şimdiye kadar teşhis edilen en dayanıklı tür *S. acaule* dir (Li ve Palta, 1978). Örneğin *S. acaule* türüne dahil "Oka 3878" -6 °C de yaşamını devam ettirebilmektedir. *S. acaule* ile yapılan çalışmalar, dona dayanma derecesi ile bitkinin orijin merkezinin yükseltisi arasında önemli ve pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Don anında su hücreden (çoğunlukla vakuol'den) hücre içi boşluğa hareket etmekte ve buz oluşturmaktadır. Bu olay hücrenin su kaybetmesine neden olur. Don ilerledikçe bu hücrel bir büzümeye yol açar. Böylelikle don süresince 3 tip stres yaşanır; Bunlar, donmanın neden olduğu su kaybı, vakuolden su kaybına bağlı osmotik stres ve hücre büzümemesinin sebep olduğu mekanik streştir (Levitt, 1972). Söz konusu don olayında canlı

kalabilme şansının don dehidrasyonu toleransı ve hücre içi dondan korunma kabiliyetine bağlı olduğu ileri sürülmüştür (Levitt, 1972).

Dayanıklı ve duyarlı patates türleri arasındaki don canlılığı farkı yaklaşık 3-4 °C'dir (Li ve ark, 1981). Ancak doku su içeriğindeki farklılık donma hızı ve süresi, süper soğuma derecesi ve don canlılığında farklılıklara neden olabilmektedir. Yavaş donma, hücreler içinde buz oluşumunu önleyerek zararı azaltır, hızlı donma ise artırır. Hücre içi buz oluşumu bitki hücrelerinin mekanik buz stresine maruz kalmasına, hücre dışı buz oluşumu ise hücrelerin su kaybetmesine yol açar. Burada don zararının temel nedeni hücre membranlarının özellikle plasma membranının geçirdiği zarardır (Steponkus, 1978).

Bitkiler donma olayında su, fiziksel durum ve yer değişikliğine uğrar. Sıfırın altındaki sıcaklıklara maruz kalan bitki dokuları yada hücrelerinde, hem hücredeki su hem de hücre dışını kuşatan ortamdaki su başlangıçta süper soğumaya (donmadan soğuma) uğrar. Hücre dışı ortamın solusyonu daha düşük bir eriyik madde konsantrasyonuna ve daha etkin buz nükleatörlerine sahip olduğu için başlangıçtaki buz oluşumu hücre dışı ortamda olur.

KAYNAKLAR

- Bronman, C.H. and E. Jansson 1980. *Nicotiana tabacum* callus studies: ABA increases resistance to cold damage. *Physiol. Plant.*, 48, 491-493.
- Brown, D.M. and W.J. Blackburn. 1987, Impacts of freezing temperatures on crop production in Canada, *Can. J. of Plant Sci.*, 67: 1167-1180.
- Burton, W.G., 1966. The potato, Second edition. Wageningen, Holland, p. 382.
- Chen, H-H. and P.H. Li, 1980a, Characteristics of cold acclimation and deacclimation in tuber bearing solanum species. *Plant physiol.*, 65: 1146-1148.
- Chen, H-H. and P.H., Li, 1980b, Biochemical changes in tuber-bearing solanum species in relation to frost hardiness during cold acclimation. *Plant Physiol.*, 66: 414-421.
- Chen, H-H., P. Gavinlertvatana and P.H.L., 1979. Cold acclimation of stem-cultured plants and leaf callus of solanum species. *Bot. Gaz.*, 140: 142-147.
- Chen, H-H., P.H.Li, 1982. Potato cold acclimation. In *Plant Cold Hardiness and Freezing Stress*, P.H.Li, A.Sakai, eds. Vol 2. Academic Press, New York, p. 5-22.
- Chen, H-H., P.H.Li, and M.L. Brenner, 1983. Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation. *Plant Physiol.* 71, 362-365.
- Chen, P.M. and P.H.Li, 1976. Effect of photoperiod temperature and certain growth regulators on frost hardiness of solanum species. *Bot. Gaz.*, 137: 105-109.
- Chen, P.M., M.J. Burke and P.H.Li, 1976. The frost hardiness of several solanum species in relation to the freezing of water, melting point depression and the tissue water content. *Bot. Gaz.* 137: 313-317.
- Chu, T.M., M. Jusaitis, D. Aspinall, and L.G. Paleg, 1978. Accumulation of free proline at low temperatures. *Physiol. Plant*, 43, 254-260.
- Huner, N.P.H., J. P. Williams, E.E. Maissan, E.G. Myscich, M. Krol, A. Laroche, and J. Singh, 1989. Low temperature-induced decrease in trans 3. hexadecenoic acid content is correlated with freezing tolerance in cereals. *Plant Physiol.*, 89, 144-150.
- Jensen, R.G. and J.T.Bahr. 1977. Ribulose-1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 28: 379-400.
- Kaldy, M.S., and S. Freyman, 1984. Free amino acids in unhardened and cold hardened winter wheat crowns, *J. Plant Nutrit.*, 7, 1103-1111.
- Kushad, M.M., and G. Yelenosky, 1987. Evaluation of polyamine and proline levels during low temperature acclimation of citrus. *Plant Physiol.* 84, 692-695.
- Lee ve ark., 1992. S.P., B.L. Zhu, T.H.H. Chen, and P.H.Li, 1992. Induction of freezing tolerance in potato (*Solanum commersonii*) suspension cultured cells. *Physiol. Plant.* 84: 41-48.
- Levitt, J., 1972. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York, p 697.
- Levitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses, Ed 2. Academic Press, New York.
- Li, P.H. and J.P. Palta, 1978. Frost-hardening and freezing stress in tuber-bearing Solanum species. In: *Plant Cold Hardiness and Freezing Stress*. P.H.Li and A. Sekai, eds. Academic Press, New York, P. 49-71.
- Li, P.H., 1977. Frost killing temperatures of 60 tuber-bearing solanum species. *Am. potato J.*, 54: 452-456.
- Li, P.H., 1994. Crop Plant Cold Hardiness, In *Physiology and Determination of Crop Yield*, Edited by K.J. Bode, J.M. Brennett, T.R. Sinclair, and G.M. Paulsen. American Society of Agronomy. Inc, Madison, Wisconsin, USA p. 395-416.
- Li, P.H., N.P.A. Huner, M. Toivio-Kinnucan, H.H. Chen and J.P. Palta, 1981. Potato freezing injury and survival, and their relationships to other stress. *Am. Potato J.*, 58: 15-29.
- Palta, J. P. and P.H.Li, 1980. Alterations in membrane transport properties by freezing injury in herbaceous plants: Evidence against rupture theory. *Physiol Plant*, 50: 169-175.
- Palta, J.P. and P.H.Li, 1978. Cell membrane properties in relation to freezing injury. In: *Plant Cold Hardiness and Freezing Stress*. P.H. Li and A.Sakai, eds. Academic Press, New York, P. 93-115.
- Palta, J.P. and P.H.Li, 1979. Frost hardiness in relation to leaf anatomy and natural distribution of several solanum species. *Crop Sci.*, 19 : 665-671.
- Palta, J.P., B.D. Whitaker, and L.S. Weiss, 1993. Plasma membrane lipids associated with genetic variability in freezing tolerance and cold acclimation of solanum species. *Plant Physiol.*, 103: 793-803.
- Palta, J.P., J. Levitt and E. J. Stadelmann, 1977. Freezing injury in onion bulb cells. II. Post-thawing injury or recovery. *Plant Physiol.*, 60: 398-401.
- Perras, M., and F. Sarhan, 1989. Synthesis of freezing tolerance proteins in leaves, crown, and roots during cold acclimation of wheat. *Plant Physiol.* 89, 577-585.
- Rikin, A, A. Blumenfeld, and A. Richmond, 1976. Chilling resistance as affected by stress environments and abscisic acid. *Bot. Gaz.*, 137: 307-312.

- Rikin, A., M. Waldman, A.E. Richmond, A.Dovrat, 1975. Hormonal regulation of morphogenesis and cold-resistance, I. modifications by abscisic acid and by gibberellic acid in alfalfa. *Medicago sativa* L. seedlings. J. Exp.Bot., 175-183.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross, 1992. Plant Physiology. Fourth Edition. Wadsworth Publishing Company Belmont, California. P. 682.
- Steponkus, P.L., 1978. Cold hardiness and freezing injury of agronomic crops. In "Advances in Agronomy" Ed. by N. C. Brady, Academic Press, New York, p. 51-9.
- Uemura, M., and S. Yoshida, 1984. Involvement of plasma membrane alterations in cold acclimation of winter rye seedlings (*Secale cereale* L., CV. Puma). Plant. Physiol. 75, 818-826.
- Van Swaaij, A.C., E. Jacobsen, and W.J. Feenstra, 1985. Effect of cold hardening, wilting and exogenously applied proline on leaf proline content and frost tolerance of several genotypes of Solanum. Physiol. Plant. 64, 230-236.