

## **ẢNH HƯỞNG CỦA LẠNH Ở THỜI KỲ NẢY MẦM ĐẾN SINH TRƯỞNG CỦA CÁC DÒNG LÚA CHỌN LỌC TỪ TỔ HỢP LAI GIỮA GIỐNG *Indica* IR24 VÀ GIỐNG *Japonica* Asominori**

Nguyễn Văn Lộc, Tăng Thị Hạnh, Phạm Văn Cường\*

*Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

*Email\*: pvcuong@vnua.edu.vn*

Ngày gửi bài: 05.05.2014

Ngày chấp nhận: 18.07.2014

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá khả năng chịu lạnh của 73 dòng lúa CSSL (dòng có đoạn thay thế nhiễm sắc thể) được chọn lọc từ phép lai giữa giống lúa *Indica* IR24 và *Japonica* Asominori. Hạt của các dòng lúa được nảy mầm 7 ngày trong các hộp thí nghiệm đặt trong hai buồng sinh trưởng (dung tích 300 lít) có nhiệt độ môi trường khác nhau: 13°C (xử lý lạnh) và 28°C (đối chứng), sau đó buồng xử lý lạnh được phục hồi ở điều kiện nhiệt độ 28°C trong vòng 3 ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhiệt độ thấp làm giảm 55-100% chiều dài rễ mầm, 82-100% chiều dài thân mầm và trên 60% lượng chất khô tích lũy của các dòng lúa thí nghiệm. Khối lượng chất khô tích lũy của thân mầm thời kỳ xử lý lạnh có liên quan đến khả năng chống chịu và khả năng phục hồi sau lạnh của các dòng lúa. Kết quả đã chọn lọc được 10 dòng lúa có khả năng chịu lạnh tốt phục vụ cho công tác chọn tạo giống là IAS 17, IAS 19, IAS 66, IAS 72, IAS 5, IAS 30, IAS 23, IAS 21, IAS 2 và IAS 26.

Từ khóa: Chịu lạnh, CSSL, nảy mầm, nhiệt độ thấp, lúa.

### **Effect of Cold Stress at Germination Stage on the Growth of Selected Rice Lines Developed from the Cross between *Indica* IR24 and *Japonica* Asominori**

#### ABSTRACT

The present study aimed to estimate the effects of cold treatment on growth of 73 chromosome segment substitution lines (CSSLs) of rice developed from the cross between *Indica* IR24 and *Japonica* Asominori. The experiment was conducted in two plant growth chambers (capacity: 300 liters) with different temperature conditions: 13°C (cold stress treatment) and 28°C (control temperature). Seeds of 73 genotypes were germinated in cold stress and control temperature conditions in 7 days and then cold recovery was done in normal condition (28°C) for 3 days. All growth parameters such as coleoptile and radicle were lower under cold treatment than those under control condition. The results showed that cold stress reduced radicle length from 55 to 100% and coleoptile length from 82 to 100% and dry matter accumulation more than 60%. A close relationship was found between dry matter accumulation of coleoptile and cold tolerance. Ten potential lines were selected namely IAS 17, IAS 19, IAS 66, IAS 72, IAS 5, IAS 30, IAS 23, IAS 21, IAS 2 and IAS 26 which could be used as materials for rice breeding.

Key words: Cold tolerance, germination, low temperature, rice, CSSL.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở miền Bắc Việt Nam, đầu vụ lúa xuân thường xảy ra hiện tượng rét đậm kéo dài, nhiệt độ trung bình thấp hơn 15°C (Đoàn Văn Điểm và cs., 1997). Yếu tố này gây thiệt hại rất lớn về kinh tế cho nông dân, đặc biệt là chi phí về giống tăng lên trên đơn vị canh tác. Nguyên nhân là do

cây lúa rất mẫn cảm với điều kiện nhiệt độ thấp, đặc biệt là giai đoạn nảy mầm (Han et al., 2006; Cruz and Milash, 2004). Mầm lúa có thể bị chết trong trường hợp nhiệt độ thấp (dưới 10°C) kéo dài trong nhiều ngày (Yoshida, 1981). Ngoài ra, nhiệt độ thấp (dưới 15°C) ảnh hưởng nghiêm trọng tới sự sinh trưởng, phát triển mầm lúa (Jiang et al., 2008; Sharifi, 2010) và làm giảm

đáng kể năng suất lúa thu hoạch trên một đơn vị diện tích (Sava, 2013).

Hiện nay, nhờ có sự phát triển của sinh học phân tử, các dòng lúa chống chịu được tạo ra có đoạn thay thế nhiễm sắc thể (CSSL), đây là phương pháp hữu dụng để chuyển gen mục tiêu vào giống lúa trồng. Các gen mục tiêu này được phân lập từ các loài hoang dại có khả năng chống chịu các yếu tố sinh học và yếu tố phi sinh học. Các CSSL sẽ mang các QTL riêng lẻ phát hiện nhờ vào Marker phân tử và đánh giá hoạt động của gen như các yếu tố đơn (Xu et al., 2010).

Nghiên cứu chọn lọc giống lúa chịu lạnh là một trong những biện pháp có hiệu quả nhằm giảm thiểu tác hại của điều kiện nhiệt độ thấp ở các vùng sản xuất. Chính vì vậy, hướng nghiên cứu này được quan tâm ở nhiều quốc gia trên thế giới, đặc biệt là khả năng chịu lạnh của lúa thời kỳ nảy mầm. Nhiều công trình nghiên cứu tiến hành so sánh các nhóm giống lúa khác nhau, chẳng hạn giữa nhóm lúa *Indica* và *Japonica* (Li et al., 1981), giữa nhóm lúa trồng và lúa dại (Suh et al., 1997). Nội dung nghiên cứu của các công trình này được tiến hành với các đặc điểm khác nhau: hình thái, sinh lý (Cruz et al., 2004; Dashtman et al., 2013); hóa sinh (Saltvit et al., 2002) và phân tử (Sato et al., 2001; Han et al., 2006; Jaing et al., 2008). Sự sinh trưởng, phát triển và sự tích lũy chất khô ở thân mầm là một cơ sở quan trọng để đánh giá khả năng chịu lạnh của các dòng lúa (Srinivasula et al., 1988; Bertin et al., 1996). Do vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá khả năng chịu lạnh của tập đoàn dòng lúa được chọn tạo ở giai đoạn nảy mầm và trên cơ sở đó chọn lọc các dòng lúa chịu lạnh tốt phục vụ công tác chọn tạo giống.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

73 dòng ngắn ngày CSSL (dòng có đoạn thay thế nhiễm sắc thể) ở thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> từ phép lai giữa giống lúa *Indica* IR24 và *Japonica* Asominori nhập nội từ Nhật Bản.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành trong các buồng sinh trưởng cây trồng có dung tích 300 lít, hai buồng sinh trưởng được điều chỉnh cùng điều kiện ẩm độ 70%, cường độ chiếu sáng 250  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , thời gian chiếu sáng ngày/đêm là 12/12h. Buồng sinh trưởng xử lý lạnh được điều chỉnh nhiệt độ 13°C (ngưỡng nhiệt độ trung bình thấp nhất trong vụ lúa xuân, Yoshida 1981), buồng còn lại điều chỉnh nhiệt độ đối chứng 28°C. Mỗi dòng gieo 100 hạt trên sáu đĩa petri có chứa 2 lớp giấy thấm nước, mỗi buồng sinh trưởng đặt 3 đĩa mỗi dòng tương ứng 3 lần nhắc lại theo cách ngẫu nhiên. Các giống lúa được nảy mầm trong 7 ngày ở cả hai buồng sinh trưởng và sau đó buồng sinh trưởng xử lý lạnh được phục hồi ở nhiệt độ 28°C trong vòng 3 ngày.

#### 2.3.2. Các chỉ tiêu theo dõi thí nghiệm

*Tỷ lệ nảy mầm:* Đếm số hạt nảy mầm ở mỗi công thức thí nghiệm. Tỷ lệ nảy mầm (GR) được xác định bằng công thức như sau:

$GR = (n/N) \cdot 100\%$ , trong đó GR là tỷ lệ nảy mầm, n là số hạt nảy mầm, N là tổng số hạt gieo (trong thí nghiệm này N = 100).

*Chỉ số nảy mầm:* Số hạt nảy mầm được quan sát và đo đếm sau bảy ngày gieo hạt. Chỉ số nảy mầm (GI) được tính bằng công thức:  $GI = \sum T_i n_i / N$ , trong công thức này GI là chỉ số nảy mầm,  $T_i$  là tổng số ngày sau khi gieo hạt,  $n_i$  là số hạt nảy mầm ngày thứ i, N là tổng số hạt gieo.

*Chiều dài rễ mầm và thân mầm:* Sau 7 ngày xử lý thí nghiệm, mỗi công thức, mỗi đĩa thí nghiệm lấy 10 cây để đo chiều dài rễ mầm và thân mầm.

*Khối lượng chất khô tích lũy:* Các mẫu được thu 10 cây, sau đó rễ mầm và thân mầm được tách riêng. Các phần này đem cân xác định khối lượng tươi bằng cân phân tích, sau đó đem sấy ở nhiệt độ 80°C trong vòng 72 giờ cho tới khối lượng không đổi để tính lượng chất khô tích lũy trong rễ mầm và thân mầm.

### 2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý theo phân tích thống kê mô tả:

Thống kê mô tả định lượng: giá trị trung bình, giá trị lớn nhất và giá trị nhỏ nhất.

Thống kê mô tả định tính: Tỷ lệ phần trăm, chỉ số và tần suất phân bố

Phân tích mối quan hệ tương quan giữa các biến định lượng: Mối quan hệ giữa các chỉ tiêu nghiên cứu được xác định thông qua hệ số tương quan  $r$ .

Chọn lọc các dòng có triển vọng bằng phần mềm SELECTION INDEX Ver. 1.0

Phần mềm này được thiết kế dựa trên nguyên lý bằng công thức tổng quát sau:

$$SI = \sum_{i=1}^n b_i P_i$$

Trong đó, SI (Selection Index) là chỉ số chọn lọc,  $n$  là số lượng tính trạng nghiên cứu.

$P_i$  là giá trị tính trạng kiểu hình ở tính trạng nghiên cứu thứ  $i$

$b_i$  là hệ số gốc của tính trạng thứ  $i$

Chỉ số chọn lọc càng nhỏ dòng đó càng gần với mục tiêu chọn lọc dòng ưu tú

Số liệu thu thập được xử lý theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) bằng phần mềm Cropstat 7.2 để kiểm tra mức độ sai khác giữa các công thức thí nghiệm.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ thấp đến sự phát triển của rễ mầm

Lạnh làm giảm chiều dài rễ mầm của các dòng lúa từ 55-100% so với công thức đối chứng. Trong đó, có 49/73 dòng lúa nghiên cứu có chiều dài rễ mầm giảm trên 90% (Hình 1A). Tuy nhiên, các dòng có khả năng phục hồi tốt sau khi xử lý nhiệt độ thấp, chiều dài thân mầm sau 3 ngày phục hồi đạt được từ 36-100% so với giá trị này ở thời kỳ xử lý lạnh (trong đó có 62/73 dòng đạt giá trị phục hồi trên 80%) (Hình 1B).

Nhiệt độ thấp cũng ảnh hưởng rất lớn đến khối lượng chất khô tích lũy của rễ mầm. Ở các

công thức xử lý lạnh, chất khô tích lũy của rễ mầm giảm từ 64-96% so với công thức đối chứng, trong đó có 54/73 dòng lúa có tỷ lệ giảm trên 80% (Hình 2A). Ở giai đoạn phục hồi, sự tích lũy chất khô ở rễ tăng nhanh so với giá trị này ở giai đoạn xử lý lạnh và đạt từ 32-95%. Trong đó, 48/73 dòng lúa đạt được giá trị phục hồi trên 80% (Hình 2B).

Như vậy, kết quả trong nghiên cứu này cho thấy nhiệt độ thấp làm giảm khả năng sinh trưởng và phát triển của bộ rễ như chiều dài và lượng chất khô tích lũy. Kết quả đạt được phù hợp với nhiều công trình đã công bố trên thế giới về ảnh hưởng của điều kiện bất thuận lạnh đến sinh trưởng, phát triển của bộ rễ lúa ở giai đoạn nảy mầm (Sharifi et al., 2010; Dashtmian et al., 2013).

### 3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ thấp đến sự phát triển của thân mầm

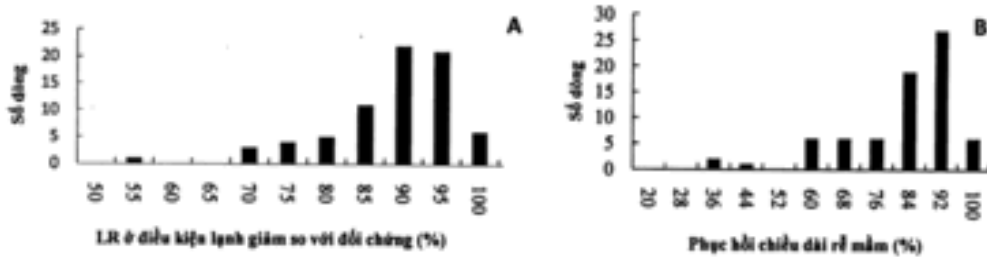
Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy nhiệt độ thấp đã làm giảm chiều dài, chất khô tích lũy của thân mầm và mức độ ảnh hưởng phụ thuộc vào các dòng lúa thí nghiệm. Xử lý lạnh làm giảm 82-100% chiều dài và 60-96% lượng chất khô tích lũy của thân mầm so với các giá trị này ở công thức đối chứng (Hình 3A, Hình 4A). Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu cho thấy thân mầm của các dòng lúa phục hồi nhanh về chiều dài và lượng chất khô tích lũy. Giá trị phục hồi chiều dài thân mầm biến động từ 82-100% và lượng chất khô tích lũy của thân mầm biến động từ 45-95% (Hình 3B, Hình 4B). Lý giải nguyên nhân ảnh hưởng của nhiệt độ thấp làm giảm khả năng sinh trưởng và phát triển của mầm lúa, nghiên cứu trước đây đã kết luận điều kiện bất thuận lạnh đã làm ức chế sự kéo dài, phân chia của tế bào (Lyons, 1973).

### 3.3. Mối quan hệ giữa một số chỉ tiêu liên quan đến khả năng chịu lạnh ở các dòng lúa

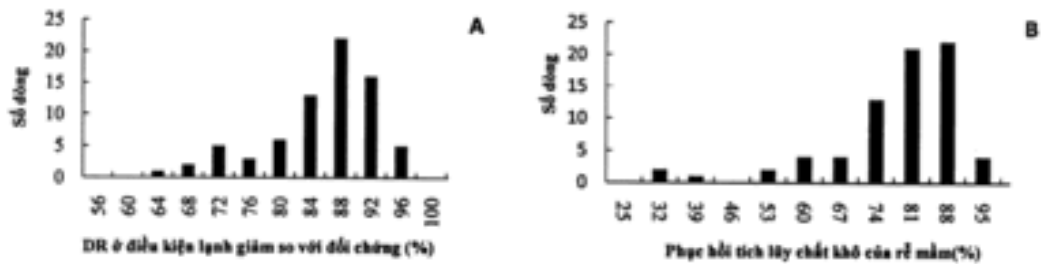
Một số công trình nghiên cứu trước đây đã chỉ ra một số đặc điểm nông sinh học liên quan đến khả năng chịu lạnh của lúa như chỉ tiêu về khả năng sinh trưởng, phát triển của thân mầm (Hanz et al., 2006; Dashtmian et al., 2013). Kết quả thí nghiệm này chỉ ra rằng chiều dài và

chất khô của rễ mầm có tương quan thuận chặt với khối lượng chất khô tích lũy của thân mầm với hệ số tương quan lần lượt là  $r = 0,75$  và  $r = 0,82$  (Hình 5A, 5B). Ở giai đoạn phục hồi, khả năng tích lũy chất khô và số lượng rễ hình thành ở giai đoạn phục hồi có liên quan đến chất khô của thân mầm ở giai đoạn xử lý lạnh (Hình 6A, 6B). Ngoài ra, các chỉ tiêu về chiều dài thân mầm, số lượng rễ và chất khô rễ mầm có tương

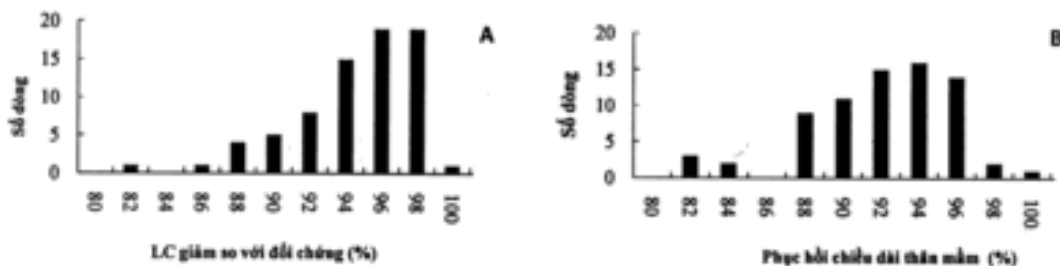
quan thuận chặt với khối lượng tích lũy chất khô của thân mầm với hệ số tương quan lần lượt là 0,69; 0,68 và 0,66 (Hình 6C, 6D, 6E). Như vậy, các dòng lúa có khả năng tích lũy chất khô cao trong điều kiện nhiệt độ thấp thì có phục hồi cao nhanh hơn, ngoài ra sự phục hồi tốt của các dòng lúa còn liên quan tới khả năng sinh trưởng về bộ rễ, và phát triển về chiều dài của thân mầm sau giai đoạn xử lý lạnh.



Hình 1. Phân bố về mức độ giảm chiều dài rễ mầm (LR) trong điều kiện lạnh (A) và phục hồi (B) so với đối chứng

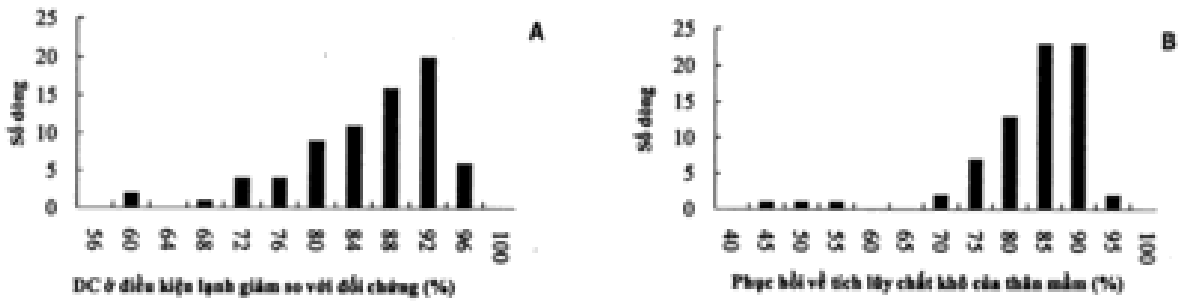


Hình 2. Phân bố về mức độ giảm chất khô tích lũy của rễ mầm (DR) trong điều kiện lạnh (A) và phục hồi (B) so với đối chứng

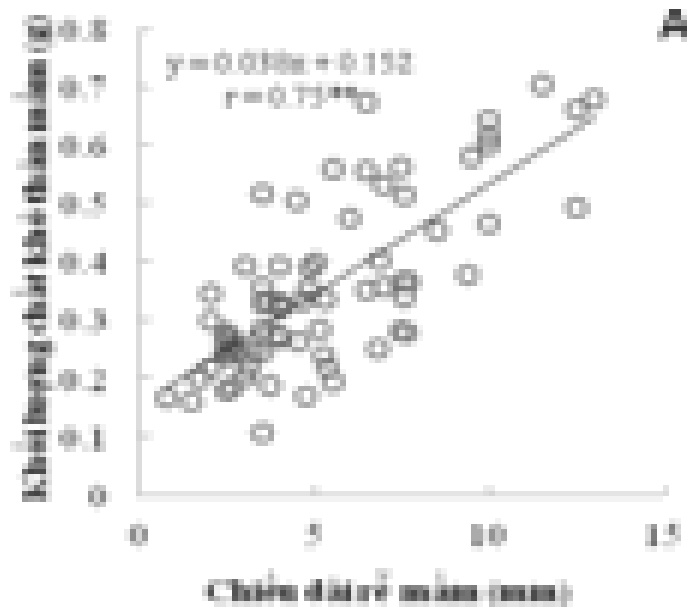


Hình 3. Phân bố về mức độ giảm chiều dài thân mầm (LC) trong điều kiện lạnh (A) và phục hồi (B) so với đối chứng

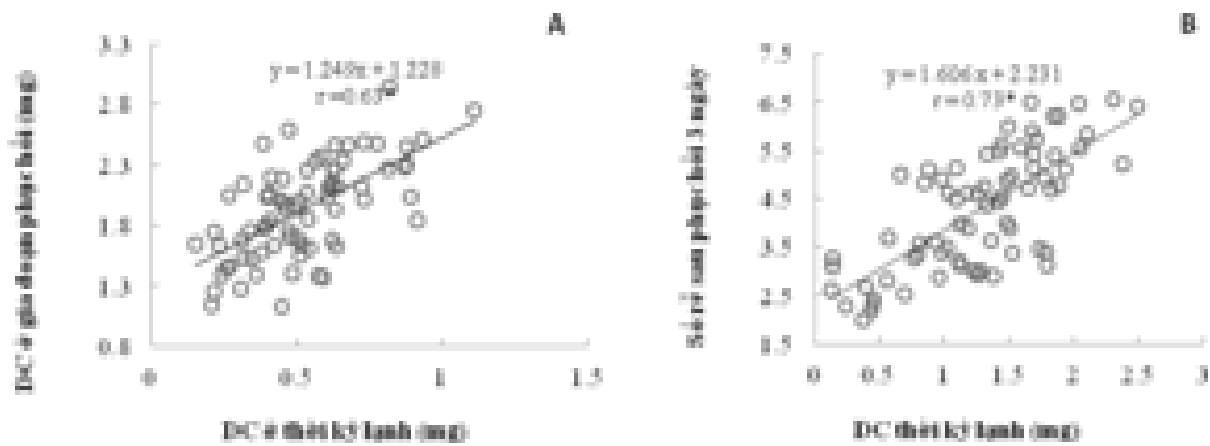
Ảnh hưởng của lạnh ở thời kỳ nảy mầm đến sinh trưởng của các dòng lúa chọn lọc từ tổ hợp lai giữa giống *Indica* IR24 và giống *Japonica* Asominori

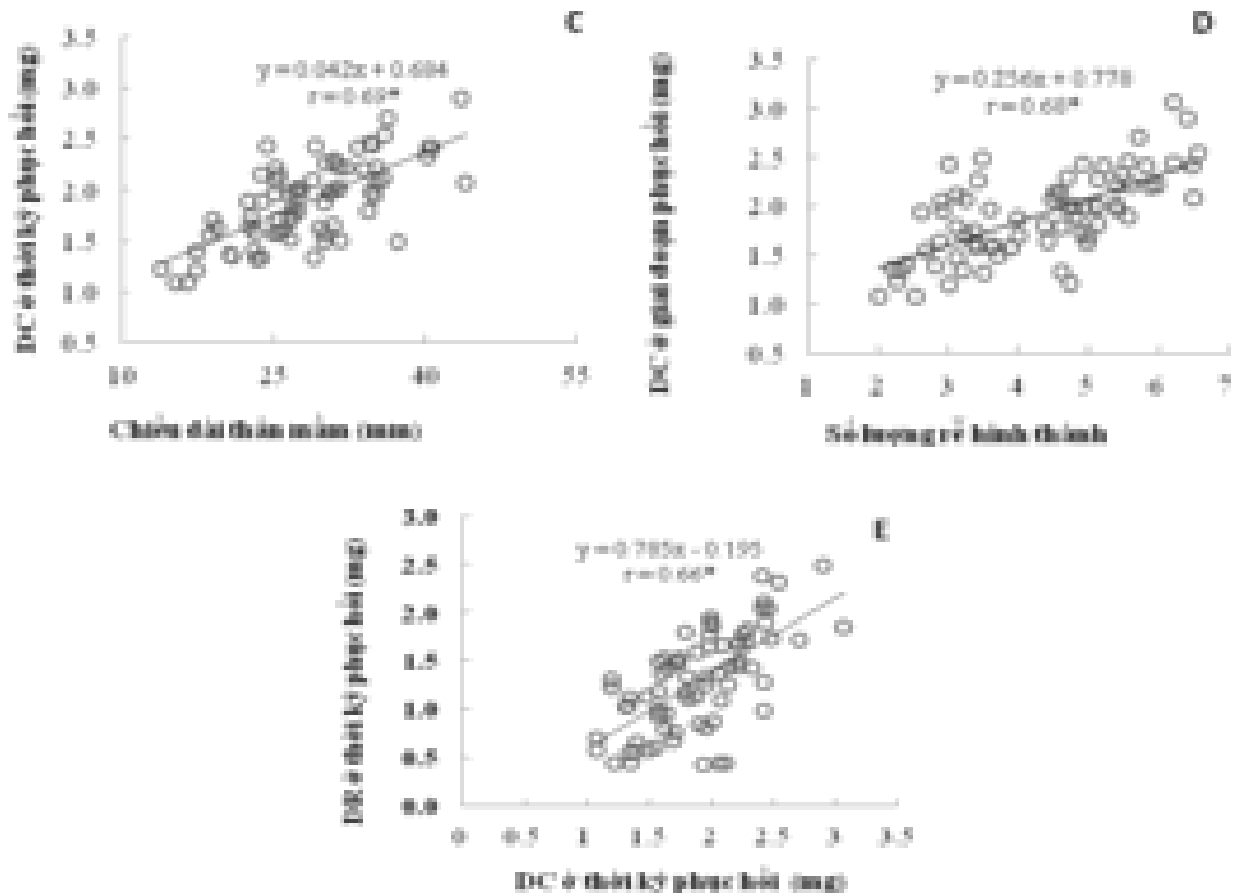


Hình 4. Phân bố về mức độ giảm chất khô thân mầm (DC) trong điều kiện lạnh (A) và phục hồi (B) so với đối chứng



Hình 5. Tương quan giữa chất khô tích lũy thân mầm với chiều dài rễ mầm (A) và giữa chất khô tích lũy rễ mầm (B) trong điều kiện xử lý lạnh





**Hình 6. Tương quan giữa chất khô tích lũy thân mầm ở thời kỳ lạnh và chất khô tích lũy thân mầm ở thời kỳ phục hồi (A); chất khô tích lũy ở thời kỳ lạnh và số lượng rễ hình thành (B); Chiều dài thân mầm và chất khô tích lũy thân mầm ở thời kỳ phục hồi (C); số lượng rễ mầm và chất khô tích lũy thân mầm thời kỳ phục hồi (D); chất khô tích lũy rễ mầm và chất khô tích lũy thân mầm thời kỳ phục hồi (E)**

Ghi chú: DC: chất khô tích lũy của thân mầm, DR: chất khô tích lũy của rễ mầm

**3.4. Chỉ số chọn lọc và đặc điểm của các dòng lúa ưu tú được chọn lọc**

Dựa vào một số chỉ tiêu liên quan tới khả năng chịu lạnh như tỷ lệ nảy mầm, chỉ số nảy mầm, kích thước của mầm, chất khô tích lũy và khả năng phục hồi và sử dụng phần mềm Selection Index, kết quả đã tìm ra 10 dòng lúa có triển vọng trong điều kiện nhiệt độ thấp là IAS 19, IAS 66, IAS 72, IAS 5, IAS 30, IAS 23, IAS 21, IAS 2, IAS 63 và IAS 26. 10 dòng lúa này có tỷ lệ về các chỉ tiêu sinh trưởng phát triển cao so với đối chứng, đặc biệt là chỉ tiêu tỷ lệ nảy mầm và chỉ số nảy mầm. Tỷ lệ nảy mầm của các dòng

này đạt trên 80% và chỉ số nảy mầm đạt trên 54%. Chỉ số INDEX của các dòng này tương đối phù hợp với mục tiêu chọn lọc (chỉ số có giá trị nhỏ biến động từ 2,6 đến 5,9). Các dòng được chọn lọc có khả năng phục hồi tốt về các chỉ tiêu như chiều dài rễ, chiều dài của thân cũng như chất khô tích lũy. Kết quả bảng 2 cho thấy chiều dài rễ mầm của 10 dòng chọn lọc đạt từ 19,0-44,30mm, khối lượng chất khô đạt được từ 0,76-2,38 mg/cây. Về các chỉ tiêu về thân mầm, các dòng lúa được chọn lọc cũng đạt được giá trị cao trong điều kiện phục hồi, chiều dài thân mầm biến động trong khoảng 19,19-54,53mm và lượng chất khô tích lũy đạt từ 0,69-3,56 mg/cây.

Ảnh hưởng của lạnh ở thời kỳ nảy mầm đến sinh trưởng của các dòng lúa chọn lọc từ tổ hợp lai giữa giống *Indica* IR24 và giống *Japonica* Asominori

**Bảng 1. Một số chỉ tiêu trong điều kiện nhiệt độ thấp của 10 dòng lúa ưu tú so với đối chứng (%) và chỉ số chọn lọc**

Thứ tự	Dòng	GR	GI	LC	LR	FWC	FWR	DWC	DWR	INDEX
1	IAS 19	98,0	61,8	11,5	27,5	36,5	21,6	26,2	18,1	2,6
2	IAS 66	98,0	66,0	10,0	28,4	19,2	29,9	12,9	24,5	4,6
3	IAS 72	83,8	53,5	11,4	19,6	16,5	36,8	23,6	29,4	4,7
4	IAS 5	93,0	55,1	9,3	16,8	34,2	23,8	23,5	16,1	4,8
5	IAS 30	90,9	59,3	4,8	28,4	25,3	17,8	20,2	14,4	5,2
6	IAS 23	81,6	55,7	7,1	19,8	33,9	37,2	17,5	24,7	5,2
7	IAS 21	92,8	59,3	10,5	23,0	45,5	41,7	30,4	37,7	5,6
8	IAS 2	91,8	54,0	14,7	25,0	36,0	32,8	32,5	22,2	5,6
9	IAS 63	90,0	55,0	12,8	18,5	13,0	21,6	15,9	19,8	5,6
10	IAS 26	82,5	53,3	13,0	16,4	43,2	34,5	28,0	28,8	5,9

Ghi chú: GR: tỷ lệ nảy mầm; GI: chỉ số nảy mầm, LC: Chiều dài thân mầm, LR: Chiều dài rễ mầm; FWR: Khối lượng tươi của rễ mầm; FWC: Khối lượng tươi của thân mầm; DWC và DWR lần lượt là khối lượng khô của thân mầm và rễ mầm, INDEX : chỉ số chọn lọc

**Bảng 2. Đặc điểm của 10 dòng được chọn lọc ở giai đoạn phục hồi**

Thứ tự	Dòng	Chiều dài thân mầm (mm)	Chiều dài rễ mầm (mm)	Số lượng rễ mầm	Khối lượng khô rễ mầm (mg)	Khối lượng khô thân mầm (mg)	Hàm lượng nước trong rễ (mg)	Hàm lượng nước trong thân mầm (mg)
1	IAS 19	36,10	19,19	5,8	2,11	2,42	21,10	17,89
2	IAS 66	26,40	36,58	5,9	1,69	2,93	26,53	15,22
3	IAS 72	40,30	50,00	5,2	2,38	2,07	21,60	18,38
4	IAS 5	26,83	25,44	4,4	1,80	1,33	17,96	13,66
5	IAS 30	34,75	32,50	3,1	1,08	0,69	21,51	15,17
6	IAS 23	44,30	12,86	6,2	1,89	3,56	31,36	20,15
7	IAS 21	34,44	35,25	3,1	1,79	1,79	15,90	16,67
8	IAS 2	19,00	16,69	3,3	0,76	1,71	13,12	11,11
9	IAS 63	31,42	32,94	5,6	1,45	2,21	23,70	14,72
10	IAS 26	30,17	54,53	3,4	1,78	2,36	20,86	15,17

#### 4. KẾT LUẬN

Nhiệt độ thấp (13°C) làm giảm 55-100% chiều dài rễ mầm, 82-100% chiều dài thân mầm và trên 60% lượng chất khô tích lũy.

Khối lượng chất khô tích lũy ở thời kỳ xử lý lạnh có liên quan tới khả năng chịu lạnh và khả năng phục hồi của các dòng lúa thí nghiệm trong giai đoạn nảy mầm.

Nghiên cứu này đã chọn lọc được 10 dòng lúa có khả năng chịu lạnh là IAS 17, IAS 19, IAS 66, IAS 72, IAS 5, IAS 30, IAS 23, IAS 21, IAS 2 và IAS 26.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bertin P, Kinet JM, Bouharmont J (1996). Evaluation of chilling sensitivity in different rice varieties. Relationship between screening procedures applied during germination and vegetative growth. *Euphytica*, 89: 201-210.
- Cruz RP, Milach SCK (2004). Cold tolerance at the germination stage of rice: Methods of evaluation and characterization of genotypes. *Science Agriculture*, 61:1-8.
- Dashtmian FP, Hosseini MK, Esfahani M (2013). Methods for rice genotypes cold tolerance evaluation at germination stage. *IJACS* 5-18: 2111-2116.

- Đoàn Văn Điềm, Nguyễn Thanh Bình, Trần Đức Hạnh, Lê Quang Vinh (1997). Giáo trình khí tượng nông nghiệp. Nhà xuất Nông nghiệp, tr. 157.
- Han LZ, Zhang YY, Qiao YL, Cao GL, Zhang SY, Kim JH, Koh HJ (2006). Genetic and QTL analysis for low temperature vigor of germination in rice. *Acta Genet Sin.*, 33: 998-1006.
- Jiang L, Xun MM, Wang JL, Wan JM (2008). QTL analysis of cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.) using recombination inbred lines. *Cereal Science*, 48: 173-179.
- Li TG, Visteras RM, Vergara BS (1981). Correlation of cold tolerance at different growth stages in Rice. *Acta Botanica Sinica*, 23: 203-207.
- Lyons JM (1973). Chilling injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 445-466.
- Miedema P (1982). The effects of low temperature on *Zea mays*. *Advances in Agronomy* 35: 93-128.
- Saltveit ME, Kang HM (2002). Antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity in chilled and heat-shocked rice (*Oryza sativa* L.) seedlings radicles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 513-518.
- Sato Y, Murakami T, Funatsuki H, Matsuba S, Saruyama H (2001). Heat shock-mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 52: 145-151.
- Sava S (2013). Cold tolerance of temperate and tropical rice varieties. *Grains research & Development corporation, WA crop updates*:1-4.
- Sharifi P. (2010). Evaluation on sixty eight rice germplasms in cold tolerance at germination. *Rice Science*, 17: 77-81.
- Srinivasulu K, Vergara BS (1988). Screening of upland and short duration rice varieties for cold tolerance at seedling emergence stage. *Oryza*, 25: 87-90.
- Suh HS., Sato YI, Yoshimura H (1997). Genetic characterization of weedy rice (*Oryza sativa* L.) based on morpho-physiology, isozymes and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 316-321.
- Xu J J, Zhao Q, Du P N, Xu C W, Wang B H, Feng Q, Liu Q Q, Tang S Z, Gu M H, Han B, Liang G H (2010). Developing high throughput genotyped chromosome segment substitution lines based on population whole-genome re-sequencing in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Genoms*, 11: 656.
- Yoshida Y (1981). *Fundamentals of rice crop science*. The International Rice Research Institute, p. 26.