ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN BẢO QUẢN TỚI TỶ LỆ NẢY MẦM CỦA HẠT PHẤN MỘT SỐ GIỐNG DƯA LÊ (*Cucumis melo*)

Nguyễn Thị Hoà[1], Nguyễn Thanh Tuấn[1], Nguyễn Thanh Tùng[2], Phạm Văn Hoàng[1], Bùi Phương Anh[1], Nguyễn Tuấn Anh[1*]

[1]Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[2]Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

[*]Tác giả liên hệ: nguyentuananh@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 12.12.2022 Ngày chấp nhận đăng: 05.01.2024

TÓM TẮT

Dưa lê (*Cucumis melo*) là nhóm cây trồng có giá trị kinh tế, phù hợp với điều kiện trồng trong nhà màng, nhà lưới ở miền Bắc Việt Nam. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố trong môi trường bảo quản tới tỷ lệ nảy mầm hạt phấn của một số giống dưa lê nhập nội đang được trồng phổ biến, nhằm tìm ra điều kiện bảo quản hạt phấn phù hợp nhất, phục vụ mục đích tạo nguồn vật liệu cho công tác sản xuất, chọn tạo và lai giống dưa lê. Hạt phấn của 4 giống dưa lê là Bạch Ngọc, Kim Hoàng Hậu, Gia Huy và Makuwa được thu thập và bảo quản trong các điều kiện nhiệt độ (25°C, 8°C và -20°C), độ ẩm tương đối (20%, 40%, 60%) và các dung môi hữu cơ (acetone, n-hexane, cyclo-hexane, diethyl ethere, cồn tuyệt đối) khác nhau. Tỷ lệ nảy mầm của hạt phấn được đánh giá *in vitro* trên khay thạch agar 1% có bổ sung 15% đường succrose và 5ppm axit boric sau khoảng thời gian thay đổi từ 3 đến 30 ngày tuỳ theo thí nghiệm. Kết quả cho thấy hạt phấn có thể giữ được tỷ lệ nảy mầm xấp xỉ 50% sau 30 ngày nếu được bảo quản khô ở nhiệt độ -20°C và độ ẩm 20%.

Từ khoá: Dưa lê, *Cucumis melo*, sức sống hạt phấn, khả năng nảy mầm, độ ẩm, nhiệt độ, dung môi hữu cơ.

Influence of Storage Conditions on Pollen Germinability of some Melon Cultivars

ABSTRACT

Melon (*Cucumis melo*) is a crop of economic value and suitable for growing in greenhouses in North Vietnam. In the present study, we examined the influence of storage conditions on the pollen germinability of introduced melon cultivars. The research aimed to determine the optimal conditions to preserve pollens for application in the production, breeding, and selection of melons. Pollen grains of 4 melon cultivars, i.e. Bach Ngoc, Kim Hoang Hau, Gia Huy, and Makuwa were collected and preserved under different temperatures (25°C, 8°C, and -20°C), relative humidities (20%, 40%, 60%), and organic solvents (acetone, n-hexane, cyclohexane, diethyl ether, and absolute alcohol). Pollen germination rates were tested *in vitro* in 1% agar medium containing 15% sucrose and 5 ppm boric acid for 3 to 30 days depending on experiments. Results showed that when dried and kept under -20°C and 20% relative humidity, melon pollen grains sustained their germinability at approx 50% at 30 days after storage.

Keywords: Melon, *Cucumis melo*, pollen viability, pollen germinability, relative humidity, temperature, organic solvent.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhóm cây dưa *Cucumis melo* gồm hai đại diện phổ biến là dưa lưới và dưa lê. Đây cũng là các cây trồng được nhiều nhà vườn lựa chọn để canh tác trong các nhà kính, nhà màng vào vụ xuân - hè - thu ở miền Bắc Việt Nam do cây có khả năng chịu nóng tốt và sản phẩm có giá trị cao trên thị trường trái cây nội địa. Các giống dưa lưới, dưa lê quả to được trồng ở miền Bắc nói riêng và Việt Nam nói chung hầu hết đều được nhập nội, do đó việc thu thập vật liệu và phát triển các vật liệu cây dưa phù hợp với điều kiện canh tác ở Việt Nam là cấp thiết.

Các quy trình để thu thập và bảo quản hạt phấn trên cây dưa là công cụ căn bản để triển khai các công việc như thu thập vật liệu, lai giống, duy trì và sản xuất hạt giống trên cây trồng này. Cây dưa có đặc điểm nở hoa tung phấn "tập trung" nên trong công tác lai giống cũng như duy trì quần thể, kỹ thuật bảo quản hạt phấn để thụ phấn giữa các cá thể có thời gian sinh trưởng khác nhau rất cần thiết.

Có bốn kỹ thuật bảo quản hạt phấn hiện được áp dụng phổ biến gồm (1) *Bảo quản hạt phấn khô*. Hạt phấn được làm khô, sau đó bảo quản ở nhiệt độ phòng. Đây là phương pháp bảo quản đơn giản, dễ làm và cho hiệu quả cao đối với một số loại cây có sức sống hạt phấn cao, như cọ dừa (Whitehead, 1962). (2) *Bảo quản trong tủ lạnh thường có kiểm soát độ ẩm*. Hạt phấn được đặt trong một hộp kín để kiểm soát độ ẩm. Hộp sau đó được đặt trong ngăn mát tủ lạnh (có nhiệt độ 4-8°C) hoặc trong ngăn đá (-20°C) (Du & cs., 2019). Hai điều kiện này có thể cho phép lưu hạt phấn để lai giữa các cá thể không nở hoa đồng nhất trong một thời vụ (bảo quản ở 4°C), hoặc lai với các cá thể trồng ở thời vụ sau đó (bảo quản ở -20°C). (3) *Bảo quản nhiệt độ lạnh sâu*. Là phương pháp bảo quản hạt phấn ở ngưỡng -20°C đến -190°C hoặc thấp hơn. Ở nhiệt độ âm sâu, hạt phấn có thể duy trì được sức sống trong thời gian rất dài và ít bị ảnh hưởng bởi ẩm độ (Visser, 1955) (4) *Bảo quản trong dung môi hữu cơ ở nhiệt độ thấp*. Phương pháp này được khởi xướng bởi Iwanami & Nakamura (1972), sử dụng các dung môi dễ bay hơi như acetone, benzene, petroleum benzine, n-butanol, ethanol, isopropanol, methanol, diethyl ether, petroleum ether hoặc chloroform để lưu trữ hạt phấn ở nhiệt độ thấp (4-6°C). Bảo quản hạt phấn trong dung môi có lợi thế về khả năng thu thập cũng như dễ dàng chia nhỏ lượng hạt phấn.

Hiện tại chưa có nghiên cứu nào tìm hiểu và đánh giá sức sống hạt phấn của cây dưa lê trong những điều kiện bảo quản đã đề cập nhằm tìm kiếm kỹ thuật bảo quản hạt phấn phù hợp cho công tác chọn giống dưa lê nói riêng và nhóm cây dưa nói chung. Nghiên cứu này tìm hiểu ảnh hưởng của một số điều kiện ẩm độ, nhiệt độ và việc sử dụng một số loại dung môi hữu cơ đến sức sống hạt phấn của một số giống dưa lê nhằm đề xuất kỹ thuật bảo quản hạt phấn đơn giản, rẻ tiền, hiệu quả phục vụ công tác lai tạo và sản xuất dưa lê trong điều kiện canh tác ở phía Bắc Việt Nam.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu là 04 giống dưa lê (*Cucumis melo* L. var *makuwa*) gồm Bạch Ngọc (Trung Quốc), Kim Hoàng Hậu (Hai Mũi Tên Đỏ), Gia Huy (Nông Hữu) và Makuwa (Nhật Bản). Tất cả các giống nghiên cứu đều là giống lai F1, trong đó, Kim Hoàng Hậu và dưa lê Gia Huy được trồng phổ biến ở miền Bắc Việt Nam, còn Bạch Ngọc và Makuwa là các giống chất lượng cao, đang bắt đầu được trồng thử nghiệm. Cả 4 giống thí nghiệm đều được trồng trong điều kiện nhà màng tại trang trại Dfarm (Đặng Xá, Gia Lâm, Hà Nội) từ tháng 3 đến tháng 7 năm 2022 theo quy trình canh tác của trang trại. Hoa đực của các giống được thu để làm nguồn phấn phục vụ thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm 1. Nghiên cứu sức sống hạt phấn của các giống dưa lê khi bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh.

Bốn giống dưa được trồng trong nhà lưới, trên một bố trí thí nghiệm theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn (CRD) trên 3 luống với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại gồm 5 cây. Vào thời điểm các giống nở hoa đồng thời, hoa đực đã nở của mỗi giống được thu vào buổi sáng từ 7h-9h sáng. Trên mỗi lần lặp lại (gồm 5 cây), thu ba hoa trên mỗi cây rồi hỗn lại thành một mẫu phấn đại diện. Toàn bộ hoa được hong ở nhiệt độ phòng trong 2h, sau đó tách phần nhị hoa khỏi đế hoa và đặt toàn bộ phần nhị hoa vào ống effendorf 2ml. Các ống chứa nhị hoa được đặt trong cùng một hộp kín giữ trong tủ mát ở nhiệt độ 8°C và độ ẩm 60%. Vào thời điểm ngày thu phấn, sau đó 07 ngày và sau đó 14 ngày, hạt phấn của

từng mẫu được đánh giá sức nảy mầm theo mô tả ở phần phương pháp đánh giá sức nảy mầm.

Thí nghiệm 2. Ảnh hưởng của ẩm độ trong môi trường bảo quản đến sức sống hạt phấn

Nhị hoa đực của dưa lê Makuwa (là giống duy nhất cung cấp đủ số lượng hoa đực vào thời điểm thực hiện thí nghiệm này) được thu với số lượng tổng số 40 hoa trên 15 cây thí nghiệm. Hoa thu được hong ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ trước khi được chia làm 3 phần. Phần thứ nhất, 9 hoa, chia làm 3 mẫu, mỗi mẫu là hỗn phấn của 3 hoa, dùng để đánh giá sức nảy mầm hạt phấn tại thời điểm trước khi xử lý (T0). Phần thứ hai và thứ ba, mỗi phần gồm 15 hoa được bảo quản trong tủ mát ở nhiệt độ 8°C trong hai hộp nhựa dung tích 2l có nắp kín với hai điều kiện độ ẩm khác nhau là 40% và 20%. Độ ẩm 40% được duy trì bằng 50ml dung dịch glycerol đặt trong hộp kín, còn độ ẩm 20% được duy trì bằng 200g hạt hút ẩm (silica gel) đặt trong hộp cùng với nhiệt kế và ẩm kế để kiểm soát điều kiện trong các hộp thí nghiệm. Kiểm soát ẩm độ trong hộp được thực hiện mỗi hai ngày bằng cách thêm hoặc bớt lượng chất hút ẩm (glycerol/silica gel) trong hộp. Vào thời điểm 7 ngày (T7) và 14 ngày (T14) sau khi bắt đầu bảo quản, 6 hoa được lấy ra, chia thành 3 mẫu, mỗi mẫu là hỗn phấn của 2 hoa dùng để đánh giá sức nảy mầm của hạt phấn bảo quản.

Thí nghiệm 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến sức sống hạt phấn

Nhị hoa đực của giống dưa lê Makuwa được thu tương tự như ở thí nghiệm 2. Năm mươi tư hoa được thu trên 15 cây thí nghiệm và được chia làm 4 phần. Phần thứ nhất 9 hoa dùng để đánh giá tỷ lệ nảy mầm hạt phấn ở thời điểm bắt đầu thí nghiệm (T0). Ba phần còn lại mỗi phần 15 hoa được lưu giữ trong 3 điều kiện nhiệt độ là 25°C (nhiệt độ phòng điều hoà), 8°C (nhiệt độ tủ mát) và -20°C (nhiệt độ tủ đông). Độ ẩm 20% được sử dụng làm điều kiện chung cho tất cả các công thức nhiệt độ nêu trên. Tại thời điểm 7 ngày (T7) và 14 ngày (T14) sau thời điểm bắt đầu thí nghiệm, 6 hoa được lấy ra khỏi hộp bảo quản, lập thành 3 mẫu phấn, mỗi mẫu là hỗn phấn của 2 hoa để đánh giá sức sống hạt phấn.

Thí nghiệm 4. Nghiên cứu khả năng bảo quản hạt phấn của một số dung môi hữu cơ phổ biến.

Sáu mươi nhị hoa đực của dưa lê Makuwa được thu như các thí nghiệm trước đó. Hạt phấn được làm khô ở ẩm độ 20% trong hộp chứa hạt hút ẩm, tại nhiệt độ phòng 25°C trong 24 giờ trước khi đưa hạt phấn vào bảo quản trong 5 dung môi hữu cơ gồm acetone (CT1), n-hexane (CT2), cyclo-hexane (CT3), diethyl ether (CT4) và cồn tuyệt đối ethanol (CT5) ở nhiệt độ -20°C. Hai điều kiện bảo quản đối chứng gồm hạt phấn khô giữ ở nhiệt độ phòng (ĐC1) và hạt phấn khô giữ ở -20°C (ĐC2). Nhằm tránh ảnh hưởng của các chất chiết từ nhị hoa trong dung môi hữu cơ đến sức sống hạt phấn, sau khi đổ dung môi vào ống eppendorf chứa nhị hoa khô, ống đươc rung tần số cao (bằng máy vortex) để hạt phấn bung ra khỏi bao phấn trong 10 giây. Sau đó các nhị hoa được lấy ra khỏi dung môi để lại hạt phấn với dung môi hữu cơ trong ống. Các ống của 5 công thức thí nghiệm và của ĐC2 được giữ ở -20°C, với nắp đậy kín. Với các ống đối chứng, 3 hạt silica gel được cho vào ống cùng nhị hoa để loại bỏ phần hơi ẩm có thể xâm nhập vào ống trong quá trình thao tác và bảo quản trong tủ lạnh.

Mỗi công thức thí nghiệm gồm 8 nhị hoa, chia làm 2 mẫu lặp, mỗi mẫu gồm 4 nhị hoa đặt trong một ống thí nghiệm riêng biệt. Vào thời điểm 7 ngày (T7), 14 ngày (T14) và 30 ngày (T30) sau khi bắt đầu thí nghiệm, một phần tư lượng hạt phấn trong mỗi ống được lấy ra để đánh giá sức sống. Hạt phấn trong các ống chứa dung môi được lấy ra bằng pipette, sau khi khuấy đều để hạt phấn phân tán đều trong thể tích dung môi. Với các ống của ĐC1 và ĐC2, một nhị hoa của mỗi lần nhắc được sử dụng cho mỗi thời điểm đánh giá sức sống.

2.2.2. Đánh giá sức sống của hạt phấn

Nhị đực mang bao phấn được lấy ra khỏi điều kiện thí nghiệm được ngâm trong 15µl dung dịch succrose 15% và axit boric 5ppm. Sử dụng chổi lông mềm quét nhẹ lên bao phấn để hoà hạt phấn với dung dịch. Sau đó dùng chổi quét dung dịch chứa hạt phấn lên bề mặt khay thạch agar 1% có bổ sung đường succrose và

axit boric ở nồng độ tương tự như dung dịch trộn với hạt phấn (Gok & cs., 2007). Đậy nắp khay thạch và để hạt phấn nảy mầm trong 45 phút ở nhiệt độ phòng (25°C). Quan sát hạt phấn dưới kính hiển vi có độ phóng đại 100 lần và đếm tỷ lệ hạt phấn nảy mầm (là hạt phấn có chiều dài ống phấn dài hơn ít nhất hai lần đường kính hạt phấn) và hạt phấn không nảy mầm (là hạt phấn không có ống phấn hoặc ống phấn quá ngắn) như minh họa ở hình 1. Mỗi mẫu phấn được quan sát và đếm trên 1-3 quang trường, với tổng số hạt phấn tối thiểu quan sát là 60. Tỷ lệ hạt phấn nảy mầm trên tổng số hạt phấn (%) được tính và sử dụng làm chỉ số đánh giá sức sống hạt phấn.

Hạt phấn được bảo quản trong dung môi hữu cơ được lấy ra bằng pipette cùng dung môi hữu cơ. Chúng được để khô trên một lam kính sạch cho đến khi dung môi bay hơi hoàn toàn. Hạt phấn trên lam kính được giữ trong hộp có độ ẩm bão hoà, ở nhiệt độ phòng trong 30 phút trước khi được trộn với 15µl dung dịch succrose 15% và axit boric 5ppm. Sau đó hỗn hợp hạt phấn tiếp tục được quét lên khay thạch succrose 15% và axit boric 5ppm để đánh giá sức sống như mô tả ở trên.

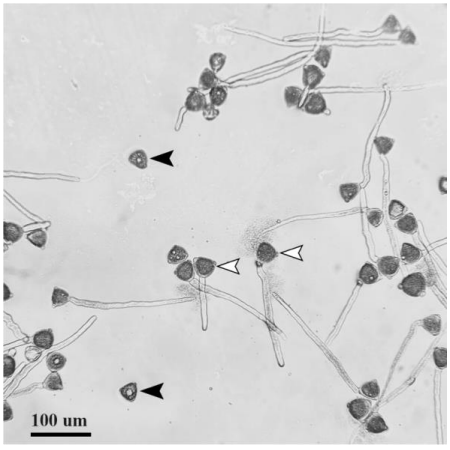
2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được xử lý trên phần mềm Microsoft Excel. Phân tích thống kê được tiến hành theo mô hình phân tích phương sai một nhân tố (1-way ANOVA) trên phần mềm STAR v2.0.1 (IRRI). So sánh cặp đôi (post-hoc test) theo tiêu chuẩn LSD, với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản và giống đến sức sống hạt phấn

Dù được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ và độ ẩm như nhau nhưng các giống dưa thể hiện khả năng duy trì sức sống hạt phấn khác nhau. Với hạt phấn mới thu, khác biệt về tỷ lệ nảy mầm giữa các giống thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ nảy mầm của các mẫu hạt phấn tươi đều vượt trên 90% (Bảng 1). Tuy nhiên có sự khác biệt lớn về sức sống hạt phấn giữa các giống vào thời điểm 7 ngày sau khi bảo quản. Hạt phấn của giống Kim Hoàng Hậu và Makuwa vẫn duy trì được sức sống cao, lần lượt là 75,8% và 76,1%, hơn hẳn tỷ lệ nảy mầm hạt phấn của Bạch Ngọc (40,9%) và Gia Huy (36,9%). Đến 14 ngày sau bảo quản, sức sống hạt phấn của các giống dưa đều giảm mạnh. Tỷ lệ hạt phấn hữu dục trong giai đoạn này chỉ dao động từ 0 đến 1,9% và không có sự khác biệt về thống kê giữa các giống (Bảng 1).



Ghi chú: Hạt phấn được coi là có sức sống khi có ống phấn dài ít nhất gấp đôi đường kính hạt phấn (mũi tên trắng). Hạt phấn không nảy ống phấn (mũi tên đen) hoặc có nảy mầm nhưng chiều dài ống phấn không vượt hơn gấp hai lần đường kính hạt phấn thì bị coi là không có sức sống.

Hình 1. Hình ảnh đại diện một trường quan sát hạt phấn tươi nảy mầm của giống dưa Bạch Ngọc

Bảng 1. So sánh tỷ lệ hạt phấn nảy mầm của 4 giống dưa lê thí nghiệm tại 3 thời điểm hoa vừa nở, sau nở 7 ngày và sau nở 14 ngày

Giống	Tỷ lệ hạt phấn nảy mầm (%)		
	Mới thu	Sau 7 ngày	Sau 14 ngày
Bạch Ngọc	90,4[a]	41,9[b]	0,4[a]
Kim Hoàng Hậu	90,0[a]	75,8[a]	1,9[a]
Gia Huy	92,5[a]	33,6[b]	0,0[a]
Makuwa	92,5[a]	76,1[a]	1,2[a]
$LSD_{0,05}$	N.S.	14,8	N.S.
$CV_{\%}$	4,8%	13,4%	202,4%

Ghi chú: Các giá trị trung bình có cùng chữ cái trong một cột là không khác nhau về mặt thống kê ở mức 5%.

3.2. Ảnh hưởng của độ ẩm đến sức sống hạt phấn

Nepi & cs. (2010) chỉ ra rằng, khi được giữ trong cùng độ ẩm tương đối, hạt phấn của các loài khác nhau có mức độ mất nước và giảm tỷ lệ nảy mầm theo thời gian rất khác nhau. Sức sống của hạt phấn là tốt nhất ngay sau khi hoa nở và giảm dần theo thời gian. Theo suy luận thông thường, việc mất sức sống theo thời gian có thể là hệ quả của việc hạt phấn bị mất nước, tuy nhiên, nhiều nghiên cứu đã cho thấy, trong điều kiện môi trường được kiểm soát, sức sống của hạt phấn tỷ lệ nghịch với độ ẩm tương đối (Nepi & cs., 2010; Aronne, 1999; Olmo, 1942). Hiện nhóm tác giả chưa tiếp cận được nghiên cứu nào về ảnh hưởng của độ ẩm của môi trường bảo quản tới tỷ lệ nảy mầm của hạt phấn dưa lê (*C. melo*), nhưng kết quả của thí nghiệm 1 cho thấy hạt phấn của các giống dưa đều bị mất sức nảy mầm gần như hoàn toàn sau 14 ngày bảo quản ở nhiệt độ 8°C và độ ẩm 60%, vì thế chúng tôi tiến hành đánh giá sức sống của hạt phấn trong điều kiện ẩm độ thấp hơn 60% trên giống Makuwa bởi giống này cho đủ số lượng hoa đực vào thời điểm tiến hành thí nghiệm.

Kết quả tại bảng 2 cho thấy, sức sống hạt phấn dưa lê tỷ lệ nghịch với độ ẩm tương đối. Tỷ lệ nảy mầm của hạt phấn sau 7 ngày bảo quản ở độ ẩm 20% là 85,3% cao hơn tỷ lệ nảy mầm 74,3% khi bảo quản ở độ ẩm 40% và không có khác biệt về thống kê so với tỷ lệ nảy mầm trung bình của hạt phấn tươi (92,5%) (Bảng 2). Tại thời điểm bảo quản 14 ngày, tỷ lệ nảy mầm của hạt phấn ở 20% độ ẩm là 36,5%, cũng cao hơn ở mức có ý nghĩa so với tỷ lệ nảy mầm của hạt phấn bảo quản ở độ ẩm 40% (23,9%). Do ảnh hưởng tích cực trong kéo dài sức sống hạt phấn ở độ ẩm 20% so với các công thức độ ẩm khác. Chúng tôi tiếp tục sử dụng nền độ ẩm 20% để thực hiện thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện nhiệt độ đến sức sống hạt phấn, sẽ được trình bày ở nội dung tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến sức sống hạt phấn

Tại thời điểm 7 ngày sau thu hạt phấn, sức sống hạt phấn trung bình của Gia Huy và Makuwa xấp xỉ 70% ở hai môi trường nhiệt độ 8°C và -20°C, cao hơn hẳn mức trung bình xấp xỉ 50% của hạt phấn được bảo quản ở 25°C (Bảng 3). Vì vậy nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ phòng có thể giúp kéo dài sức sống hạt phấn của Gia Huy và Makuwa. Trong khi đó ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến sức sống hạt phấn của Bạch Ngọc và Kim Hoàng Hậu không rõ ràng. Tỷ lệ nảy mầm hạt phấn ở nhiệt độ -20°C, 8°C và 25°C của Bạch Ngọc không có sự khác biệt về thống kê, lần lượt là 78,9%; 81,8% và 70,1%. Và của Kim Hoàng Hậu lần lượt là 90,1%; 86,9% và 82,6%, cũng không có sự khác biệt về thống kê (Bảng 3). Cần nhấn mạnh rằng ở môi trường bảo quản 25°C, sức sống hạt phấn của cặp Bạch Ngọc và Kim Hoàng Hậu đều lớn hơn 70% và cao hơn hẳn mức trung bình xấp xỉ 50% của giống Gia Huy và Makuwa.

Bảng 2. Ảnh hưởng của ẩm độ đến sức sống hạt phấn giống dưa lê Makuwa tại thời điểm 7 (T7) **và 14** (T14) **ngày sau bảo quản**

Công thức thí nghiệm	Thời điểm	Độ ẩm môi trường bảo quản	Tỷ lệ nảy mầm (%)
Đối chứng	T0	Hạt phấn tươi	92,5[a]
1	T7	20%	85,3[a]
2	T7	40%	74,3[b]
3	T14	20%	36,5[c]
4	T14	40%	23,9[d]
$LSD_{0,05}$			9,5
CV%			8,3

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong một cột có cùng chữ cái là không khác nhau về mặt thống kê ở mức 5%.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian bảo quản đến sức sống hạt phấn dưa lê

Thời điểm	Nhiệt độ bảo quản	Tỷ lệ hạt phấn nảy mầm (%)			
		Bạch Ngọc	Kim Hoàng Hậu	Gia Huy	Makuwa
T0	Hạt phấn tươi	90,4[a]	89,9[a]	92,5[a]	80,2[a]
T7	-20°C	78,9[ab]	90,1[a]	68,0[bc]	75,8[a]
T7	8°C	81,8[ab]	86,9[a]	74,1[b]	78,7[a]
T7	25°C	70,1[b]	82,6[a]	53,0[c]	47,7[b]
T14	-20°C	44,8[c]	82,1[a]	29,2[d]	51,0[b]
T14	8°C	33,0[c]	58,3[b]	25,7[d]	37,3[b]
T14	25°C	33,6[c]	28,3[c]	16,3[d]	46,8[b]
$LSD_{0,05}$		13,3	10,9	16,9	14,1
CV%		12,3	8,42	18,8	14,7

Ghi chú: Các giá trị trong một cột có cùng chữ cái là không khác nhau về mặt thống kê ở mức 5%.

Tại thời điểm 14 ngày sau thu phấn, sức sống hạt phấn của các giống ở các điều kiện bảo quản đều giảm rõ rệt so với thời điểm 7 ngày sau thu phấn, ngoại trừ mẫu phấn của giống Kim Hoàng Hậu. Vào thời điểm này, các mẫu hạt phấn của Bạch Ngọc, Gia Huy và Makuwa đều có tỷ lệ nảy nầm dưới 50% và không có sự khác biệt về thống kê giữa các điều kiện nhiệt độ bảo quản (Bảng 3). Ảnh hưởng của nhiệt độ là rõ ràng trên mẫu phấn của Kim Hoàng Hậu. Hạt phấn bảo quản ở -20°C có tỷ lệ nảy mầm là 82,1%, không có sự khác biệt về sức sống so với mẫu phấn tại thời điểm sau thu 7 ngày (90,1%) và tương đương với mẫu hạt phấn tươi (89,9%). Tỷ lệ nảy mầm của hạt phấn giống Kim Hoàng Hậu bảo quản ở 8°C và 25°C lần lượt là 58,3% và 28,3%.

Kết quả cho thấy nhiệt độ bảo quản có ảnh hưởng đến sức sống hạt phấn trên một số mẫu phấn cụ thể. Với nhóm giống có sức sống suy giảm nhanh hơn theo thời gian bảo quản như Gia Huy và Makuwa, nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ phòng (-20°C hoặc 8°C) có hiệu quả nâng cao sức sống hạt phấn trong quãng thời gian bảo quản 7 ngày trở lại. Vượt quá quãng thời gian bảo quản 7 ngày, đến 14 ngày thì sức sống hạt phấn giảm nhanh và ảnh hưởng của nhiệt độ đến sức sống không còn nữa. Ngược lại với mẫu giống có sức sống hạt phấn lớn như Kim Hoàng Hậu, ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản lên sức sống hạt phấn không rõ ràng vào thời điểm sau bảo quản 7 ngày vì sức sức hạt phấn vẫn duy trì tốt. Phải đến 14 ngày sau thu phấn thì ảnh hưởng của nhiệt độ mới thể hiện rõ trên mẫu phấn Kim Hoàng Hậu. Khi đó nhiệt độ càng thấp, sức sống hạt phấn được duy trì càng cao (Bảng 3). Đối với mẫu phấn của Bạch Ngọc, thời

điểm hạt phấn mất sức nảy mầm nhanh và nhiều có lẽ nằm giữa thời điểm 7 ngày và 14 ngày. Sức sống hạt phấn còn cao vào thời điểm 7 ngày sau thu, nhưng lại giảm mạnh vào thời điểm 14 ngày nên ảnh hưởng của nhiệt độ không được thể hiện rõ ở cả hai thời điểm này.

3.4. Khả năng bảo quản của dung môi hữu cơ đến sức sống hạt phấn

Dung môi hữu cơ được ứng dụng nhiều trong các thao tác bảo quản hạt phấn (Iwanami & Nakamura, 1972; Jain & Shivanna, 1988b; Ćalić & cs., 2021). Ngoài mục đích ban đầu là bảo quản hạt phấn, các dung môi hữu cơ dễ bay hơi đặc biệt có ưu thế trong thu hoạch và thao tác trên hạt phấn có kích thước nhỏ. Nếu như hạt phấn nhỏ rất dễ bay, tung mù và khó chia đều trong các thao tác đập, quét gom thông thường, dễ dính vào các bề mặt vật chứa, thì sử dụng dung môi hữu cơ dễ dàng cuốn và gom các hạt phấn từ đầu nhị hoa trong một khối dung dịch có thể tích nhỏ, được rung mạnh bởi máy rung tần số cao (máy vortex). Hạt phấn phân tán đều trong khối dung dịch, sau đó có thể được chia nhỏ và đều thông qua thao tác hút một thể tích tương ứng của hỗn hợp dung môi và hạt phấn.

Nghiên cứu sử dụng 5 loại dung môi hữu cơ dễ bay hơi gồm acetone, n-hexane, cyclohexane, diethyl etheren và ethanol thường được dùng trong các thí nghiệm bảo quản hạt phấn (Jain & Shivanna, 1988a; 1988b). Kết quả cho thấy cyclohexane là dung môi duy trì được sức sống hạt phấn cao nhất trong số các dung môi sử dụng sau 7 ngày bảo quản. Tỷ lệ hạt phấn nảy mầm của hạt phấn lưu trong cyclohexane 69,4% tương đương với sức sống của hạt phấn khô lưu ở -20°C (đối chứng 2) 77,8% và cao hơn 54,1% của hạt phấn khô lưu ở nhiệt độ phòng (Bảng 4). N-hexane cũng là dung môi bảo quản tốt trong khoảng 7 ngày. Hạt phấn bảo quản trong dung môi này có tỷ lệ nảy mầm 50,5%, thấp hơn của cyclohexane (69,4%) và tương đương với hạt phấn khô lưu ở nhiệt độ phòng (ĐC1) 54,1%.). Sức sống hạt phấn lưu trữ trong 3 dung môi còn lại (acetone, diethyl etheren và ethanol) đều không vượt quá 30% sau 7 ngày bảo quản. Sau 14 ngày bảo quản, chỉ duy nhất hạt phấn lưu ở cyclohexane có tỷ lệ nảy mầm vượt hơn 30%, đạt 42,6% và cao hơn đối chứng 1 (4,1%), nhưng thấp hơn rõ rệt với đối chứng 2 (76,4%). Tới thời điểm 30 ngày sau bảo quản, chỉ duy nhất hạt phấn ở đối chứng 2 còn duy trì được sức sống với tỷ lệ nảy nầm 49,1%. Các công thức xử lý khác đều không duy trì được sức sống hạt phấn.

Bảng 4. Ảnh hưởng của 5 loại dung môi hữu cơ tới sức sống của hạt phấn dưa lê Makuwa

Điều kiện bảo quản	Tỷ lệ hạt phấn nảy mầm (%) tại các thời điểm			
	T0	T7	T14	T30
25°C + 20% độ ẩm (ĐC1)	80,9	$54,1^{b}$	$4,1^{de}$	$4,7^{b}$
-20°C + 20% độ ẩm (ĐC2)	||	$77,8^{a}$	$76,4^{a}$	$49,1^{a}$
-20°C, ngâm acetone	||	$0,9^{d}$	$0,8^{e}$	0^{b}
-20°C, ngâm n-hexane	||	$50,5^{b}$	$15,4^{c}$	0^{b}
-20°C, ngâm cyclohexane	||	$69,4^{a}$	$42,7^{b}$	0^{b}
-20°C, ngâm diethyl etheren	||	$29,4^{c}$	$11,5^{cd}$	0^{b}
-20°C, ngâm ethanol	||	0^{d}	0^{e}	0^{b}
$LSD_{0,05}$	-	14,5	19,76	16,8
CV%	-	15,2	10,1	55,0

Ghi chú: Tỷ lệ hạt phấn nảy mầm được đánh giá sau 7 ngày (T7), 14 ngày (T14) và 30 ngày (T30) ngày bảo quản. Đối chứng là hạt phấn để khô và bảo quản ở nhiệt độ 25°C (ĐC1) hoặc -20°C (ĐC2). ĐC1 được đánh giá một lần ngay trước thời điểm bắt đầu thí nghiệm (T0). Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký hiệu chữ cái là không khác nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. "\|\|" là như trên. "-" là không có giá trị.

Khả năng duy trì sức sống hạt phấn cao của cyclo-hexane và n-hexane khá tương đồng với kết luận của Jain & Shivanna (1988a) nghiên cứu trên *Crotalaria saltiana* Andr. Các tác giả chỉ ra rằng các dung môi ít phân cực như n-hexane, cyclohexane và diethylether có khả năng bảo quản hạt phấn tốt hơn nhiều nhóm dung môi phân cực như butanol, isopropanol và methanol. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu gần đây của Phuong Nguyen Tran Dong & Sang Mai The (2021) trên hạt phấn dưa lưới Nhật Bản (*Cucumis melon*) bảo quản trong acetone ở 5°C lại có sức sống lên đến 87,8%, cao hơn nhiều tỷ lệ 0,9% trong nghiên cứu này. Sự khác biệt trong cách thức xử lý hạt phấn trước bảo quản (sấy ở 38°C trong 1,5 giờ), nhiệt độ bảo quản (5°C) và cách thức đánh giá sức sống hạt phấn (nhuộm hạt phấn bằng triphenyl tetrazolium chloride) trong nghiên cứu của Phuong Nguyen Tran Dong & Sang Mai The (2021) so với nghiên cứu này có thể là những giả thiết giải thích cho sự khác biệt.

4. KẾT LUẬN

Các giống dưa lê khác nhau có sức sống hạt phấn khác nhau. Trong điều kiện vụ xuân 2022, hạt phấn của hai giống Kim Hoàng Hậu và Makuwa có sức sống cao nhất khi bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Độ ẩm môi trường bảo quản có ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng duy trì sức sống hạt phấn cây dưa lê. Độ ẩm thấp duy trì sức sống hạt phấn dài hơn trong cùng một điều kiện nhiệt độ. Hạt phấn dưa lê Makuwa có thể duy trì tỷ lệ nảy mầm ở mức 35,3% ở độ ẩm 20%, cao hơn hẳn sức sống gần 0% khi bảo quản ở độ ẩm 60%, sau 14 ngày bảo quản ở nhiệt độ ngăn mát tủ lạnh (8°C).

Nhiệt độ môi trường bảo quản cũng ảnh hưởng đến khả năng duy trì sức sống hạt phấn cây dưa lê. Nhiệt độ thấp hơn giúp kéo dài sức sống hạt phấn hơn. Hạt phấn bảo quản ở -20°C và 8°C duy trì sức sống tốt hơn khi bảo quản ở 25°C. Tuy nhiên trong vòng 14 ngày bảo quản hạt phấn, không có sự khác biệt rõ ràng về sức sống hạt phấn được bảo quản ở -20°C (ngăn đá tủ lạnh) so với hạt phấn bảo quản ở 8°C (ngăn mát tủ lạnh).

Dung môi cyclo-hexane có thể bảo quản sức sống hạt phấn (với tỷ lệ nảy mầm ở mức 69,4%) tương đương điều kiện bảo quản khô (20%) ở nhiệt độ -20°C trong vòng 7 ngày. Tuy nhiên sức sống hạt phấn giảm nhanh so với hạt phấn khô sau 14 ngày và 30 ngày. Hạt phấn dưa lê được bảo quản bằng các dung môi hữu cơ khác (acetone, n-hexane, diethyl ethere và cồn tuyệt đối) đều có sức sống kém hơn hạt phấn bảo quản khô và ít có khả năng sử dụng trong công tác thu thập, bảo quản và sử dụng hạt phấn. Điều kiện bảo quản hạt phấn khô ở -20°C hiện được xác định có thể bảo quản sức sống tốt sau 14 ngày (với tỷ lệ nảy mầm hơn 70%), thậm chí là sau 30 ngày (với tỷ lệ nảy mầm ở mức 50%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được cấp kinh phí từ Học viện Nông nghiệp Việt Nam, cho đề tài khoa học cấp Học viện T2022-01-03. Xin cám ơn trang trại Dfarm - Gia Lâm, Hà Nội đã cho phép nghiên cứu được tiến hành tại trang trại. Xin chân thành cám ơn các thành viên của hội đồng nghiệm thu và các phản biện đã cho những góp ý quý báu giúp chúng tôi hoàn thiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Aronne G. (1999). Effects of relative humidity and temperature stress on pollen viability of *Cistus incanus* and *Myrtus communis*. Grana. 38(6): 364-367. doi.org/10.1080/00173130050136154.

Ćalić Dušica, Jelena Milojević, Maja Belić, Rade Miletić & Snežana Zdravković-Korać (2021). Impact of storage temperature on pollen viability and germinability of four serbian autochthon apple cultivars. Frontiers in Plant Science. 12. doi.org/10.3389/fpls.2021.709231.

Du Guangcong, Jinguang Xu, Chengrong Gao, Jie Lu, Qian Li, Jie Du, Mengwen Lv & Xia Sun (2019). Effect of low storage temperature on pollen viability of fifteen herbaceous peonies. Biotechnology Reports 21(March): e00309. doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00309.

García Cruzatty, Rivero L.M. & Droppelmann F. (2015). Effect of temperature and drying on the

longevity of stored *Nothofagus alpina* pollen. New Zealand Journal of Botany. 53(3): 155-64. doi.org/10.1080/0028825X.2015.1045528.

Gok P. Yetisir, Halit Solmaz, Ilknur Sari & Nebahat Eti (2007). Pollen viability and germination rates of 45 watermelon genotypes. Acta horticulturae. 731: 99-102. doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.731.13.

Iwanami Y. & Nakamura N. (1972). Storage in an organic solvent as means for preserving viability of pollen grains. Stain Technology. 47(3): 137-39. doi.org/10.3109/10520297209116468.

Jain Ajay & Shivanna K.R. (1988a). Storage of pollen grains in organic solvents: Effects of solvents on pollen viability and membrane Integrity. Journal of Plant Physiology. 132(4): 499-501. doi.org/10.1016/S0176-1617(88)80070-1.

Jain Ajay & Shivanna K.R. (1988b). Storage of pollen grains in organic solvents: Effect of organic solvents on leaching of phospholipids and its relationship to pollen viability. Annals of Botany. 61(3): 325-330. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087561.

Nepi Massimo, Cresti Mauro, Guarnieri Massimo & Pacini Ettore (2010). Effect of relative humidity on water content, viability and carbohydrate profile of *Petunia hybrida* and *Cucurbita pepo* pollen. Plant Systematics and Evolution. 284(1): 57-64. doi:10.1007/s00606-009-0237-x.

Phuong Nguyen Tran Dong, Sang Mai The (2021). Evaluation of the condition for storing pollen grains of Japanese melon *Cucumis melo* L. (Cucurbitaceae). Academia Journal of Biology, 43(3): 87-94. doi.org/10.15625/2615-9023/16161.

Olmo H.P. (1942). Storage of grape pollen. Proceedings of the American Society for Horticultural Science. 41: 219-224. Retrieved from https://ia802901.us.archive.org/2/items/in.ernet.dli.2015.240678/2015.240678.Proceedings-Of.pdf on Sep 20, 2022.

Visser T. (1955). Germination and storage of pollen [PhD, Wageningen]. Retrieved from https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/525569. on Sep 20, 2022.

Whitehead R. (1962). Room-temperature storage of coconut pollen. Nature. 196: 190. doi.org/10.1038/196190a0.