

HÀNH VI LỰA CHỌN CÂY CHỦ CỦA LOÀI MỘT MANG NẤM *Platypus quercivorus* Murayama (Coleoptera: Platypodidae) THÔNG QUA CÁC HỢP CHẤT HOÁ HỌC DỄ BAY HƠI TỪ THỰC VẬT

Phạm Duy Long, Đào Ngọc Quang

Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Một mang nấm là một nhóm các loài côn trùng cánh cứng nguy hiểm cho cây trồng lâm nghiệp. Trong rừng tự nhiên, cây chủ ưa thích của một mang nấm thường được phân bố xen lẫn cùng với cây chủ không ưa thích của chúng. Nhiều nghiên cứu cho rằng để tìm kiếm và lựa chọn được cây chủ ưa thích một mang nấm đã dựa vào các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ thực vật. Loài một mang nấm *Platypus quercivorus* Murayama thường gây hại nặng cho các loài cây thuộc họ Sồi tại Nhật Bản từ những năm 1980. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm kiểm tra phản ứng hành vi của một *P. quercivorus* đến các hợp chất dễ bay hơi từ lá của sáu loài thực vật và giữa trạng thái sinh lý khác nhau của các loài thực vật này thông qua một khứu giác kế hình chữ Y. Thành phần hóa học của các hợp chất dễ bay hơi từ mẫu lá được thu thập và phân tích bằng máy sắc ký khí - khối phổ. Kết quả nghiên cứu cho thấy loài một *P. quercivorus* bị dẫn dụ bởi các hợp chất dễ bay hơi từ thực vật và chúng phân biệt được các hợp chất bay hơi giữa cây khỏe mạnh và cây bị suy yếu. Có sự khác biệt rõ rệt về thành phần các hợp chất dễ bay hơi giữa các loài thực vật và giữa trạng thái sinh lý của mỗi loài cây. Kết quả nghiên cứu này gợi ý rằng các hợp chất hóa học dễ bay hơi là một loại tín hiệu giao tiếp quan trọng mà một *P. quercivorus* sử dụng để lựa chọn cây chủ trong rừng.

Từ khóa: Chất hữu cơ dễ bay hơi, Một mang nấm, *Platypus quercivorus*, sắc ký khí - khối phổ

Host recognition of the ambrosia beetle *Platypus quercivorus* Murayama (Coleoptera: Platypodidae) based on volatile substances

Stem-boring beetles (Coleoptera: Scolytidae & Platypodidae) are an important group of insect pests causing severe damage to forestry trees throughout the world. In a mixed forest, suitable host trees of these beetles are often scattered with their unsuitable host trees. Previous studies have shown that the host location and selection process of stem-boring beetles is mediated by plant-derived volatiles. *Platypus quercivorus* Murayama is a serious pest of oak trees in Japan since 1980s. In this study, we used a Y-tube olfactometer to examine the olfactory responses of *P. quercivorus* to the chemical volatiles emitted from the leaves of different six tree species, and from fresh and stressed leaves of its host trees. In addition, the profiles of leaf volatiles from the six plant species were identified. Results showed that *P. quercivorus* beetles were attracted to the chemical volatiles from the fresh leaves and were repelled by those from the stressed leaves. These findings indicate that the leaf volatiles are essential cues for host selection of *P. quercivorus*.

Keywords: Volatile substance, stem-borer, *Platypus quercivorus*, Gas chromatography mass spectrometry

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Côn trùng ăn thực vật được phân loại thành các nhóm khác nhau dựa trên mức độ ưa thích của chúng đối với cây chủ (Bernays & Chapman, 1994). Một số nhóm côn trùng giới hạn phạm vi cây chủ trong một chi thực vật. Tuy nhiên, một số nhóm khác ăn các loài thực vật thuộc nhiều họ khác nhau. Các nghiên cứu chỉ ra rằng côn trùng ăn thực vật có khả năng phân biệt các hợp chất hóa học dễ bay hơi do chính thực vật tiết ra để tìm kiếm và lựa chọn cây chủ ưa thích (Visser, 1986).

Một mang nấm là một nhóm côn trùng cánh cứng nguy hiểm cho các loài cây thân gỗ trên thế giới. Chúng thường đào đường hang xuyên qua vỏ cây vào trong phần gỗ của cây chủ (Ciesla, 2011). Nhiều loài một là véc tơ truyền nấm bệnh gây chết cây rừng trên diện rộng (Rudinsky, 1962), qua đó làm hệ sinh thái rừng bị xáo trộn đáng kể (Morris *et al.*, 2016). Các loài một mang nấm gây hại nhiều loài cây thuộc các họ khác nhau, trong khi một số loài chỉ gây hại một loài duy nhất hoặc các loài cây khác nhau thuộc một họ thực vật (Kelley & Farrel, 1998). Bên cạnh đó, một mang nấm thường gây hại cây chủ đã chết hoặc bị suy yếu về sinh lý, trong khi một số loài có khả năng gây hại các cây chủ khỏe mạnh (Paine *et al.*, 1997). Nói tóm lại, hành vi chọn cây chủ của một mang nấm không chỉ bị ảnh hưởng bởi thành phần cây mà cả đặc điểm sinh lý cá thể loài cây chủ.

Do giới hạn không gian sống bên trong đường hang mà một trưởng thành thường rời bỏ cây chủ gây hại ban đầu để tìm kiếm cây chủ mới (Raffa *et al.*, 2015). Trong rừng hỗn giao, loài cây chủ và các cá thể cây chủ khỏe mạnh của một mang nấm có xu hướng phân bố rải rác với các loài không phải cây chủ và các cá thể

cây chủ đã bị suy yếu (Byers, 1995). Bất kỳ sai sót mà một mang nấm gây ra trong quá trình lựa chọn cây chủ có thể dẫn đến hậu quả bất lợi cho sự sống của chúng như chết do nhựa tiết từ cây chủ khỏe mạnh, mất cơ hội, thất bại trong sinh sản do năng lượng giảm sút hoặc chất lượng thấp của cây chủ được chọn. Các hợp chất hóa học dễ bay hơi do thực vật tạo ra đã được chứng minh là những tín hiệu quan trọng làm trung gian cho các phản ứng khứu giác của một số loài một mang nấm bao gồm: chất dẫn dụ (Ahmad, 1983) và chất xua đuổi (Zhang & Schlyter, 2004). Ví dụ điển hình là α -pinen, một chất bay hơi có tính dẫn dụ đặc hiệu cho các loài một mang nấm ưa thích gây hại các loài cây lá kim (Schroeder, 1988). Thêm nữa, Ethanol là một chất bay hơi dẫn dụ mạnh đối với hầu hết các loài một mang nấm ưa thích cây bị suy yếu (Moeck, 1970). Trong khi đó, các chất bay hơi từ cây lá rộng là những chất dễ bay hơi xua đuổi các loài một mang nấm ưa thích cây lá kim (Zumr, 1989).

Loài một mang nấm có tên khoa học là *Platypus quercivorus* (Murayama) truyền nấm *Raffaelea quercivora* gây bệnh héo cho các loài cây thuộc họ Sồi ở Nhật Bản từ những năm 1980 (Ito & Yamada, 1998). Loài một này ban đầu được các nhà khoa học cho rằng nó ưa thích gây hại cây chủ suy yếu (Ito & Yamada, 1998). Thời gian gần đây những cây chủ khỏe mạnh cũng bị loài một này gây hại (Ito & Yamada, 1998). Nghiên cứu trước cho thấy rằng hành vi lựa chọn cây chủ của một *P. quercivorus* gồm các bước như sau: trưởng thành được tìm kiếm và định vị cây chủ phù hợp, khởi động đào đường hang và tiết ra pheromone để tập hợp đồng loại (Kashiwagi *et al.*, 2006). Trưởng thành cái bay đến sau để giao phối, mở rộng đường hang và cây bào tử nấm vào bên trong cây.

Cho đến nay, ít thông tin về hành vi tìm kiếm và lựa chọn các cây chủ ưa thích của loài mọt *P. quercivorus* cũng như vai trò của các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ thực vật đến quá trình lựa chọn cây chủ của loài mọt này. Mục tiêu của bài báo này nhằm làm rõ ảnh hưởng của các hợp chất bay hơi từ các loài thực vật (cây chủ và cây không phải cây chủ) đến mọt *P. quercivorus*. Ngoài ra, nghiên cứu phân tích thành phần hóa học các hợp chất bay hơi. Kết quả nghiên cứu được mong đợi để bổ sung hiểu biết về cơ chế tương tác giữa mọt *P. quercivorus* với các thực vật.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Loài mọt mang nấm *Platypus quercivorus*.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm sinh học rừng - Đại học Kyoto, Nhật Bản

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị côn trùng thí nghiệm

Hai cây Sồi (*Q. serrata*) được xác định là bị chết do một mang nấm *P. quercivorus* ở một khu rừng cảnh quan tại tỉnh Hyogo, Nhật Bản (34°54,72'N, 135°16,45'E) (hình 1a) vào ngày 24 tháng 11 năm 2016, được đốn hạ và vận chuyển đến Đại học Kyoto (35°01,44'N, 135°47,15'E) vào ngày 11 tháng 5 năm 2017. Đầu tiên, lớp vỏ trên bề mặt thân cây Sồi được loại bỏ (hình 1b). Sau đó, các bẫy xuất hiện (đường kính 16 mm, dài 6 cm) được gắn vào các cửa đường hang. Một mang nấm thường xuất hiện ở trong bẫy vào buổi sáng các ngày thí nghiệm sẽ được đưa ngay đến phòng thí nghiệm.

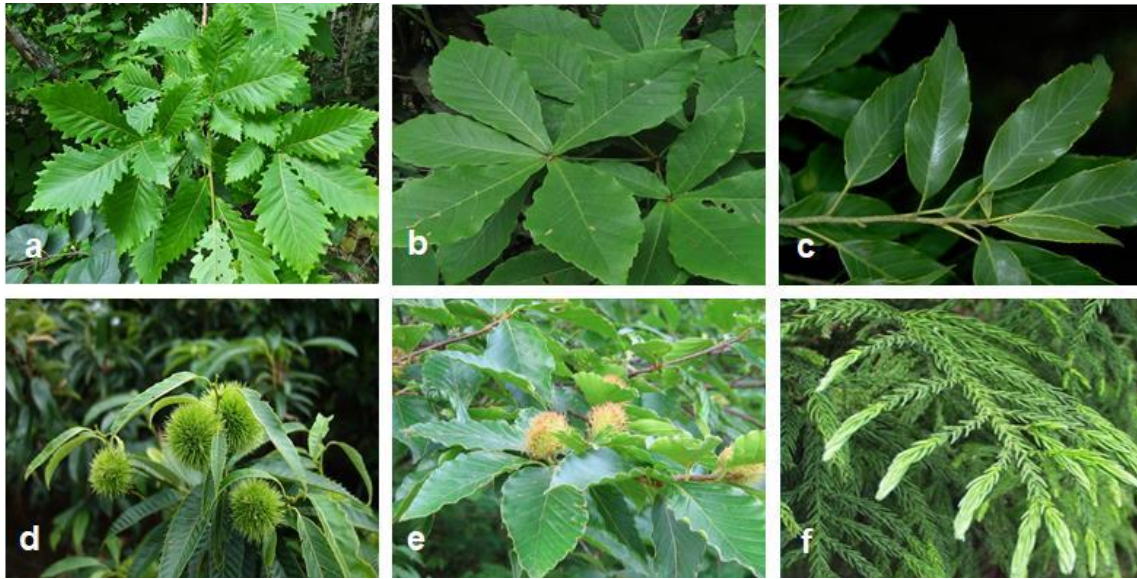


Hình 1. Một mang nấm *P. quercivorus*: **a.** đào gốc cây bị mọt gây hại tại rừng tự nhiên; **b.** gắn bẫy xuất hiện vào cửa đường hang của mọt.

2.2.2. Chuẩn bị lá cây thí nghiệm

Quercus crispula (Qcri), *Q. serrata* (Qser), *Q. salicina* (Qsal), *Castanea crenata* (Cast), *Fagus crenata* (Fagu) và *Cryptomeria japonica* (Crypt) (hình 2) được sử dụng làm

nguồn phát thải ra các hợp chất hóa học dễ bay hơi. Các thí nghiệm được tiến hành với việc sử dụng các lá cây được tách ra từ cành cây được cắt thành đoạn dài 40 - 60 cm, đường kính 1 - 1,3 cm. Đối với *C. japonica*, các chồi dài được sử dụng.

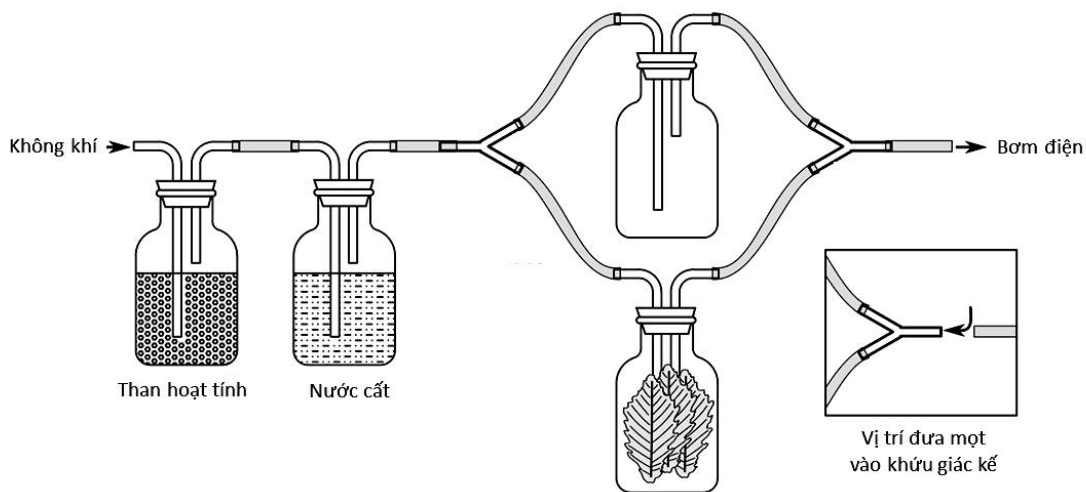


Hình 2. Sáu loài thực vật được sử dụng trong thí nghiệm. **a.** *Quercus crispula* (Qcri); **b.** *Quercus serata* (Qser); **c.** *Quercus salicina* (Qsal); **d.** *Castanea crenata* (Cast); **e.** *Fagus crenata* (Fagu); **f.** *Cryptomeria japonica* (Crypt)

2.2.3. Thiết kế khứu giác kế hình chữ Y

Phản ứng của một *P. quercivorus* đến các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá được kiểm tra sử dụng khứu giác kế hình chữ Y (hình 3). Thiết bị này gồm một ống nhựa trong suốt hình chữ Y với thân ống có đường kính bên trong là 5 mm,

chiều dài là 2,7 cm và hai chạc bên có đường kính trong là 5 mm, chiều dài là 5 mm tạo thành một góc 60°. Hai cánh tay được kết nối với hai buồng chứa có thể tích 250 ml (AS ONE Corporation, Osaka, Nhật Bản). Một buồng được sử dụng để chứa lá cây và buồng còn lại làm đối chứng. Mỗi buồng có một cửa



Hình 3. Cấu tạo của khứu giác kế hình chữ Y dùng để kiểm tra phản ứng hành vi của một mạng nấm *P. quercivorus* đến các hợp chất hoá học bay hơi từ lá cây

vào để lấy không khí sạch được đi qua than hoạt tính và nước cất để giảm thiểu tạp chất trước khi bay vào ống chữ Y, và một cửa ra để thoát khí đi qua buồng chứa lá. Sự lưu thông của không khí trong máy khứ giác kể được hỗ trợ bởi một máy bơm điện (MP-2N, Mã: 8086 - 2, Shibata Scientific Technology Ltd.). Tốc độ không khí được kiểm soát bằng đồng hồ đo lưu lượng (RK-1350V, KOFLOC Co., Ltd.). Một mang nắm được đưa vào khứ giác kể thông qua một lỗ nằm ở đáy của thân ống chữ Y. Phần đáy được lót bằng giấy thấm để một đi lại dễ dàng. Sau mỗi lần thí nghiệm, buồng lá được rửa bằng nước cất và sấy khô ở 25°C trong 24 giờ. Để loại trừ ảnh hưởng thị giác lên phản ứng hành vi của một *P. quercivorus*, khứ giác kể được đặt trong một hộp giấy vuông màu trắng (50 × 50 × 50 cm) trong khi thí nghiệm. Tất cả các bộ phận của khứ giác kể được rửa sạch bằng nước cất và để khô tự nhiên trong 24 giờ giữa các lần thí nghiệm. Buồng lá được chỉ định cụ thể cho từng loài thực vật ở mỗi thí nghiệm.

2.2.4. Bố trí thí nghiệm

Mười lá cây được nhẹ nhàng tách ra khỏi cành và đặt vào ống khứ giác kể hình chữ Y. Những lá cây này được giả định là lá khỏe mạnh. Phần còn lại của lá trong mỗi cành được bảo quản trong nhiệt độ kiểm soát 25°C, trong 2 ngày cho đến khô. Lá khô đã được chứng minh là có khả năng xua đuổi *P. quercivorus* mạnh nhất (Pham *et al.*, 2019). Trong nghiên cứu này, ba kiểu thí nghiệm được áp dụng lần lượt cho từng cá thể một *P. quercivorus* để kiểm tra phản ứng của nó đến các hợp chất hóa học dễ bay hơi. Ở thí nghiệm đầu tiên, một *P. quercivorus* được thí nghiệm để lựa chọn giữa các hợp chất bay hơi từ lá tươi và không khí sạch. Tiếp theo, cá thể một này được thí nghiệm để lựa chọn giữa các hợp chất bay hơi từ lá cây được xử lý khô và không khí

sạch. Cuối cùng, cá thể một này được thí nghiệm để lựa chọn giữa các hợp chất bay hơi từ lá tươi và lá khô của cùng một loài cây. Mỗi kiểu thí nghiệm được lặp lại 10 lần đối với một cá thể một. Tổng số, 150 cá thể một (85 cái và 65 đực) được thí nghiệm.

Khi bắt đầu thí nghiệm, một cá thể một *P. quercivorus* đã được lấy từ bẫy xuất hiện và đặt vào một lọ thủy tinh có đường kính 14 mm, chiều dài 4 cm. Giới tính của một được xác định để quan sát sự khác biệt về giới trong các phản ứng hành vi. Vị trí của hai nhánh chữ Y được hoán vị sau khi 5/10 lần kiểm tra đã hoàn thành, sử dụng cùng một cá thể một để giảm thiểu sự hình thành thói quen theo định hướng. Ở mỗi thí nghiệm, nếu một cá thể một lựa chọn một trong hai nhánh, vượt qua chiều dài của ống, nó được coi là đã hoàn thành lựa chọn. Ngay lập tức, nó được chuyển trở lại ống Y và thí nghiệm mới được bắt đầu. Nếu một cá thể một duy trì ở phần thân của nhánh chữ Y và không di chuyển hoặc không lựa chọn bất kỳ nhánh nào trong khoảng 5 phút thì nó được coi là không hoàn thành lựa chọn và dữ liệu hành vi của cá thể một từ trước đó sẽ được loại bỏ khỏi phân tích dữ liệu. Tất cả các thí nghiệm được thực hiện từ 07:00 AM đến 02:00 PM từ ngày 12 tháng 6 đến ngày 13 tháng 7 năm 2017 tại phòng thí nghiệm Sinh học Rừng, Đại học Kyoto, ở nhiệt độ 25°C, độ ẩm 85%, phòng được chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang 25W.

2.2.5. Thu thập và phân tích thành phần các hợp chất hóa học dễ bay hơi

Mẫu lá tươi được sử dụng để nhận dạng các hợp chất hóa học dễ bay hơi được thu thập từ 6:00 AM - 10:00 AM. Mẫu lá khô được chuẩn bị bằng cách giữ các cành cây có lá tươi ở nhiệt độ 25°C, trong 24 giờ tại phòng thí nghiệm. Các bước chọn lá, cắt lá và chuẩn bị lá khô được thực hiện tương tự như trong các thí nghiệm kiểm tra phản ứng hành vi của một

sử dụng khướu giác kể trước đó. Mười lá được đặt vào một buồng của khướu giác kể. Một bể thu hợp chất dễ bay hơi có chiều dài 75 mm và đường kính ngoài 6 mm, chứa 30 mg bột HayeSep Q (80/100 mesh; Hayes Sepages, Bandera, TX, USA) được bọc bên trong một ống Teflon và kết nối trực tiếp với phần đầu ra của bình fluoroplastic để lưu giữ các hợp chất hóa học bay hơi của lá. Ngoài than hoạt tính và nước cất đã có sẵn, thiết lập một bể khác ở phần đầu vào của bình fluoroplastic như một bộ lọc để đưa không khí sạch vào trong buồng. Bộ lọc bổ sung này được rửa bằng dung dịch Dichloromethane/hexane (50:50). Việc thu thập các hợp chất dễ bay hơi từ lá chỉ được thực hiện một lần cho mỗi loài trong số 6 loài cây vào các ngày khác nhau. Luồng không khí được truyền qua thiết bị lọc với tốc độ 70 L/phút. Thời gian thu thập trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng là 25°C.

Các hợp chất dễ bay hơi thu được từ lá được tách ra khỏi bể bằng cách rửa với 150 μ l dung dịch Diclometan/hexan (tỷ lệ 1:1) dưới dòng khí Nitơ. Nonyl axetat (5 μ l) được thêm vào làm chất chuẩn vào dịch chiết ở nồng độ 0,5 ng μ l⁻¹. Một phần 1 μ l của mỗi mẫu được đưa vào máy sắc ký khí/khối phổ Agilent Technologies 5975 có trang bị máy sắc ký Agilent 6890N hoạt động ở 69,9eV trong chế độ chia nhỏ, sử dụng HP-5MS (Agilent) cột mao quản (ID 30 m \times 0,25 mm, với độ dày 0,25 μ m). Khí Heli được sử dụng làm khí mang. Kim phun được giữ ở 250°C và đầu báo ở 290°C. Nhiệt độ của cột được lập trình ở 60°C trong 2 phút và sau đó tăng với tốc độ 8°C/phút đến nhiệt độ cuối cùng là 290°C, giữ trong 5 phút. Sắc ký khí-lòng (GC) được thực hiện với máy Agilent 5975 Inert/N MSD, sử dụng cùng một cột và các điều kiện như đối với phân tích GC/MS. Lượng tử hóa cấu trúc GC/MS dựa trên việc so sánh diện tích đỉnh của Nonyl axetat (5 μ l) với diện tích đỉnh của các hợp chất hóa học được chiết xuất từ các

mẫu lá. Việc xác định các hợp chất hóa học dễ bay hơi được thực hiện bằng cách so sánh phổ khối với phổ khối từ Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia (NIST). Các hợp chất hóa học có phổ khối lượng > 90% so với các hợp chất trong thư viện NIST được coi là các hợp chất tiềm năng. Các chất chuẩn có sẵn trên thị trường được sử dụng để kiểm tra thêm cấu trúc và thời gian lưu của một số chất bay hơi hóa học được xác định từ các mẫu lá trong điều kiện GC-MS (nếu có).

2.2.6. Phân tích dữ liệu

Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng phần mềm R phiên bản 3.5.3 (R Core Team, 2021). Các mô hình thống kê được tính toán bằng gói EMMENAS. Để dự đoán xác suất *P. quercivorus* lựa chọn các hợp chất hóa học bay hơi từ lá, chúng tôi đã xây dựng một mô hình hồi quy tuyến tính hỗn hợp tổng quát (GLMM). Một lựa chọn lá cây được coi là giá trị “1”, và một lựa chọn không khí sạch được coi là giá trị “0”. Biến được lựa chọn tuân theo một phân phối nhị thức. Do đó, nghiên cứu đã sử dụng một chức năng liên kết lôgarit. Nhánh bên của khướu giác kể hình chữ Y một lựa chọn ở mỗi lần thí nghiệm được coi là biến phụ thuộc. Giới tính (đực hoặc cái) của một là nhân tố độc lập. Bởi vì 30 lần thí nghiệm được áp dụng cho từng cá thể một nên dữ liệu không độc lập. Để giải quyết tình huống này, nghiên cứu đã sử dụng GLMM với các biến ngẫu nhiên giả định cấu trúc phụ thuộc cho dữ liệu. Mô hình giả định dữ liệu được thu thập từ cùng một cá nhân có tương quan với nhau và cấu trúc tương quan được đưa vào mô hình. Đối với việc lựa chọn mô hình, nghiên cứu so sánh các giá trị của Akaike (AIC) của mỗi mô hình ứng viên được tạo ra bằng cách thay đổi kết hợp các biến độc lập. Do đó, mô hình có giá trị AIC thấp nhất được coi là mô hình tốt nhất và các biến trong mô hình phù hợp nhất được coi là các yếu tố có ảnh hưởng đến hành vi của một. Xác suất thí nghiệm trong đó một

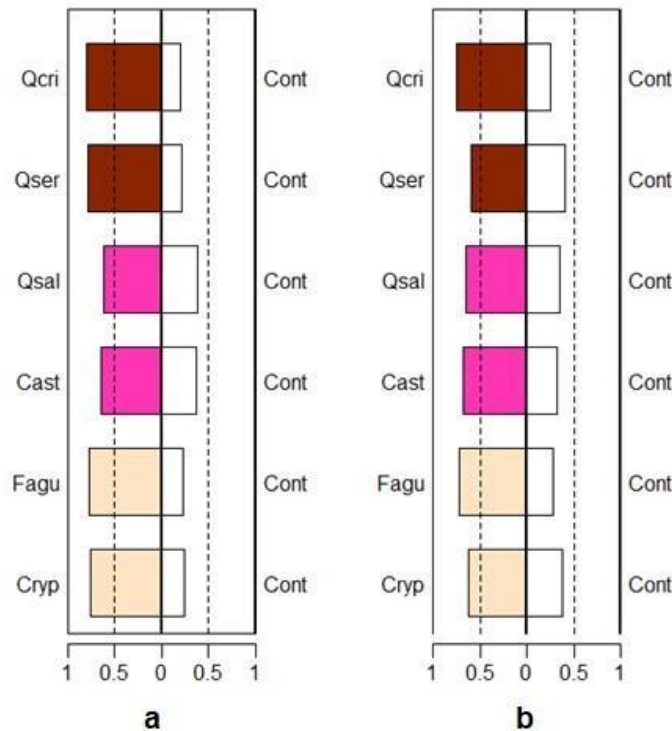
cá thể một chôn buồng chứa lá của khướu giác kể chữ Y với khoảng tin cậy (CI) 95%: Khi CI lớn hơn 0,5: một bị dẫn dụ mạnh bởi các hợp chất hóa học dễ bay hơi của lá. Ngược lại, khi CI nhỏ hơn 0,5: một mang nấm đã bị xua đuổi mạnh bởi các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá. Khi CI bằng 0,5: một mang nấm phản ứng ngẫu nhiên với các hợp chất dễ bay hơi từ lá. Sự khác biệt đáng kể trong phản ứng giữa một đực và một cái được xác nhận về mặt thống kê khi $P < 0,001$. Sai khác về thành phần các hợp chất hóa học dễ bay hơi giữa sáu loài thực vật cũng như giữa lá tươi và lá khô được minh họa bằng phân tích NMDS (Oksanen *et al.*, 2019).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Tổng số 218 cá thể một *P. quercivorus* (133 cái và 85 đực) đã được chuẩn bị cho các thí nghiệm. Trong số đó, 150 cá thể một (85 cái

và 65 đực) hoàn thành thí nghiệm lựa chọn giữa các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá tươi và không khí sạch. 34 cá thể một (21 cái và 13 đực) hoàn thành lựa chọn giữa các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá khô và không khí sạch. 34 con cá thể một (21 cái và 13 đực) hoàn thành thí nghiệm lựa chọn giữa các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá tươi và lá khô.

Xác suất thí nghiệm mà 150 cá thể một *P. quercivorus* lựa chọn giữa các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá tươi của sáu loài thực vật và không khí sạch được thể hiện trong hình 4. Xác suất một *P. quercivorus* lựa chọn các hợp chất hóa học dễ bay hơi lá tươi ở hầu hết các loài thực vật luôn lớn hơn 0,5. Không có sự khác biệt giữa hai giới tính của một trong hành vi lựa chọn các hợp chất hóa học bay hơi từ lá tươi, ngoại trừ *Q. serrata* ($P > 0,001$).

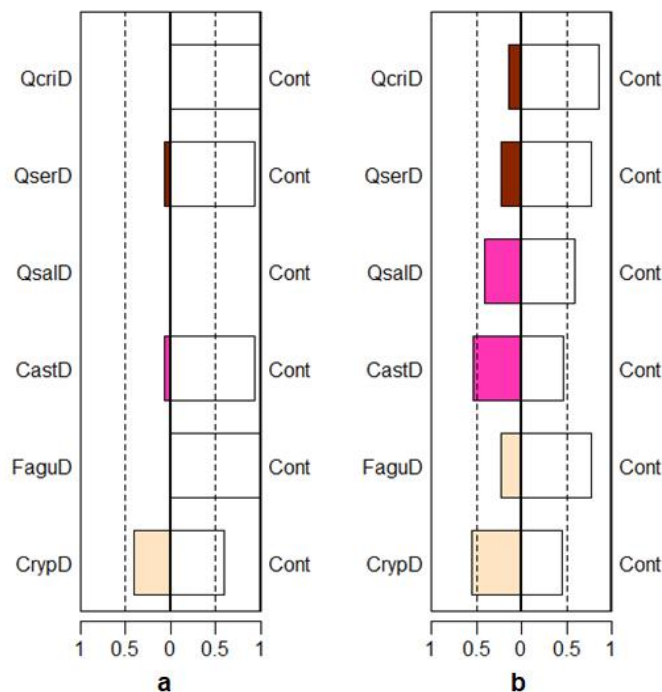


Hình 4. Xác suất một *P. quercivorus* lựa chọn các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá cây *Quercus crispula* (Qcri), *Quercus serrata* (Qser), *Quercus salicina* (Qsal), *Castanea crenata* (Cast), *Fagus crenata* (Fagu), *Cryptomeria japonica* (Crypt) và không khí sạch (Cont).

a. Mọt đực; **b.** Mọt cái.

Xác suất thí nghiệm mà 34 cá thể một *P. quercivorus* lựa chọn giữa các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá khô của sáu loài thực vật và không khí sạch được thể hiện trong hình 5. Xác suất một *P. quercivorus* lựa chọn các hợp

chất hóa học dễ bay hơi lá khô ở hầu hết các loài thực vật luôn lớn hơn 0,5, ngoại trừ *C. japonica*. Không có sự khác biệt rõ ràng giữa một đực và một cái trong phản ứng hành vi đến các chất hóa học bay hơi từ lá khô ($P > 0,001$).

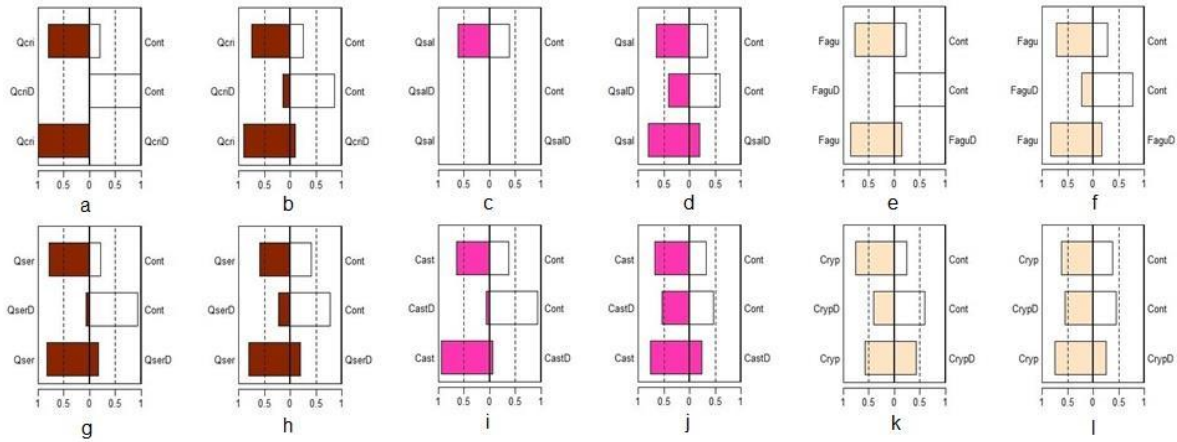


Hình 5. Xác suất một *Platypus quercivorus* lựa chọn giữa các hợp chất hóa học bay hơi từ lá bị khô của *Quercus crispula* (Qcri), *Quercus serata* (Qser), *Quercus salicina* (Qsal), *Castanea crenata* (Cast), *Fagus crenata* (Fagu), *Cryptomeria japonica* (Crypt) và không khí sạch (Cont).
a. Mọt đực; **b.** Mọt cái.

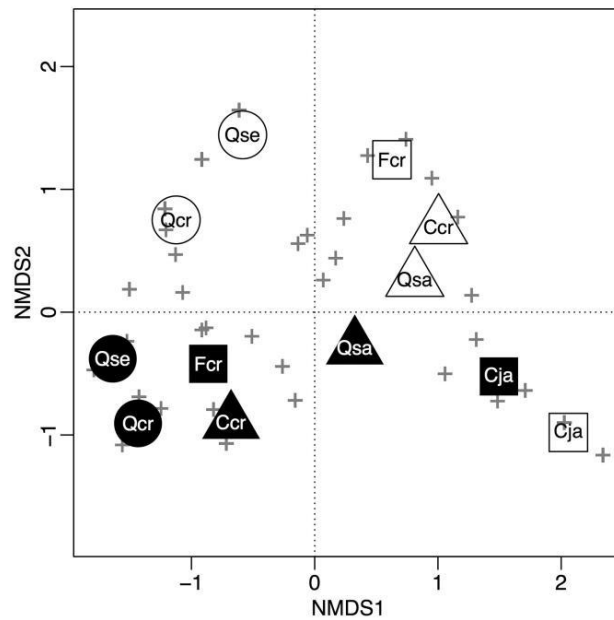
Xác suất mà 34 cá thể một *P. quercivorus* lựa chọn giữa các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá tươi và lá khô của sáu loài thực vật được thể hiện trong hình 6. Một đực và một cái *P. quercivorus* có xu hướng bị hấp dẫn bởi các hợp chất dễ bay hơi từ lá tươi và bị xua đuổi bởi các hợp chất từ lá khô của cùng một loài thực vật, ngoại trừ *C. japonica*.

Số lượng các hợp chất hóa học dễ bay hơi khác nhau đáng kể giữa sáu loài thực vật. 50, 42, 5, 8, 5 và 17 hợp chất lần lượt được tìm thấy trong *Q. cirspula*, *Q. serrata*, *Q. salicina*, *C. crenata*, *F. crenata* và *C. japonica*. Có sự khác biệt đáng kể về thành phần các hợp chất

hóa học dễ bay hơi giữa lá tươi và lá khô trên cùng một loài thực vật. Trong số 80 hợp chất hóa học đã được xác định, không có hợp chất nào xuất hiện đồng thời ở cả sáu loài thực vật và có 10 hợp chất bay hơi xuất hiện ở một vài loài trong tổng số 6 loài, nhưng hàm lượng của chúng tương đối khác nhau bao gồm cả 3-Hexene-1-ol, acetate; Phenol, 2,6-bis (1,1-dimethylethyl)-4-methyl; 3,7-Dimethyldecane; (E)-4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatriene; β -Bourbonene; 3-Hexen-1-ol; *O*-decylhydroxylamine; Kaur-16-ene, (8 β , 13 β); δ -Cadiene; trans- β -Farnesene. Đặc biệt, 21 hợp chất bay hơi đặc trưng cho lá của *Q. cirspula* và *Q. serrata* (hình 7).



Hình 6. Xác suất một *P. quercivorus* lựa chọn các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá giữa lá tươi và lá khô của *Quercus crispula* (Qcr, QcrD), *Quercus serata* (Qser, QserD), *Quercus salicina* (Qsal, QsalD), *Castanea crenata* (Cast, CastD), *Fagus crenata* (Fagu, FaguD), *Cryptomeria japonica* (Cryp, CrypD). **a, c, e, g, i, k.** Mọt đực; **b, d, f, h, j, l.** Mọt cái.



Hình 7. Sự khác biệt về thành phần hóa học bay hơi giữa *Quercus crispula* (Qcr), *Quercus serata* (Qse), *Quercus salicina* (Qsa), *Castanea crenata* (Ccr), *Fagus crenata* (Fcr), *Cryptomeria japonica* (Cja). Các ký tự cùng với biểu tượng tô màu đen thể hiện lá khô. Các ký tự cùng biểu tượng không tô màu thể hiện lá tươi.

IV. THẢO LUẬN

Hành vi né tránh các loài cây không phải cây chủ thông qua các hợp chất hóa học dễ bay hơi đã được nghiên cứu cho các loài mọt mang nấm (Zhang & Schlyter, 2004). Trong một số

trường hợp những hợp chất bay hơi này có thể làm giảm đáng kể sự hấp dẫn của một mạng nấm đến pheromone dẫn dụ (Byers *et al.*, 1998; Jactel *et al.*, 2001). Nghiên cứu này xem các chất bay hơi ở lá là một trong những môi

khứu giác tiềm năng và phát hiện ra rằng một *P. quercivorus* bị dẫn dụ đáng kể bởi chất bay hơi từ lá tươi của các loài cây không chỉ là cây chủ ưa thích, cây chủ ít ưa thích hơn, mà còn cả cây không phải là cây chủ. Những kết quả này cho thấy một *P. quercivorus* sử dụng các tín hiệu khứu giác để định hướng lựa chọn các cây chủ và các chất bay hơi có nguồn gốc từ lá của những cây khỏe mạnh có thể hoạt động như những kích thích bổ sung cho hành vi khứu giác. Kết quả phân tích hóa học của chúng tôi cho thấy không có hợp chất bay hơi nào tồn tại với tất cả các loài cây chủ. Điều này chứng tỏ rằng sự pha trộn các hợp chất bay hơi là yếu tố quan trọng đối với hành vi lựa chọn cây chủ của một *P. quercivorus*.

Yamasaki & Futai (2011) đã điều tra số lượng lỗ đục đường hang trên bề mặt thân cây các loài cây chủ của một *P. quercivorus*. Các tác giả cho rằng loài mọt mang năm này ưa thích gây hại *Q. crispula* hơn là *Q. serrata* và *C. crenata*. Nghiên cứu này xem xét vai trò tiềm năng của các hợp chất hóa học bay hơi từ lá như là một tín hiệu giao tiếp chính cho một *P. quercivorus* để lựa chọn và phân biệt giữa các loài cây chủ và chúng tôi tìm thấy rằng loài mọt này bị hấp dẫn tương tự với các chất bay hơi từ lá tươi của *Q. crispula* so với *Q. serrata* và *C. crenata*. Các loài thực vật khác nhau tiết ra các chất bay hơi khác nhau, cho phép côn trùng phân biệt các cây chủ (Zhang *et al.*, 1999). Thành phần và số lượng các hợp chất bay hơi có sự khác biệt rõ ràng giữa các loài cây. Kết quả này gợi ý rằng một *P. quercivorus* có thể xác định chất bay hơi có nguồn gốc từ lá.

Ở điều kiện bình thường, lá chỉ giải thoát một lượng nhỏ các hợp chất bay hơi nhưng khi lá bị tổn thương nhiều chất bay hơi hơn được sản sinh và giải phóng ra môi trường. Đặc điểm hóa học của các hợp chất dễ bay hơi của lá thay đổi tùy theo loài thực vật. Ở nghiên cứu này, một *P. quercivorus* tránh các chất bay hơi từ lá khô

của tất cả sáu loài thực vật khi được tiếp xúc đồng thời với không khí sạch và các chất bay hơi từ lá tươi của cùng một thực vật, ngoại trừ *C. japonica*. Trên thực tế, chúng tôi đã quan sát thấy sự thay đổi không đáng kể về đặc điểm hình thái của *C. japonica* sau 2 ngày để khô, có thể bởi vì đây là loài cây lá kim thường xanh. Tuy nhiên, những kết quả này cho thấy ảnh hưởng xua đuổi mạnh của các hợp chất bay hơi từ lá khô lên một *P. quercivorus* có thể giúp nó nhận biết được những vật chủ ở trạng thái sinh lý không phù hợp.

Nghiên cứu này chỉ ra rằng một đực *P. quercivorus* có hành vi tránh các hợp chất bay hơi từ lá khô từ các thực vật cao hơn một cái. Về mặt sinh thái, một đực *P. quercivorus* chịu trách nhiệm tìm cây chủ mới sau khi chúng chui ra khỏi đường hang và bay phân tán (Soné *et al.*, 2000). Do đó, một đực có khả năng nhận biết tốt hơn điều kiện phù hợp hoặc không phù hợp của cây chủ thông qua phản ứng tới các hợp chất bay hơi. Trong khi đó, một cái *P. quercivorus* thường dựa theo tín hiệu pheromone dẫn dụ từ một đực (Soné *et al.*, 2000). Do đó, một cái không nhất thiết phải phản ứng mạnh với các hợp chất bay hơi từ lá. Hàm lượng và thành phần các hợp chất hóa học dễ bay hơi do thực vật thải ra bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố (Zhang *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 2004). Đây là nghiên cứu đầu tiên cho thấy lá khô bay hơi từ cả cây chủ và cây không phải cây chủ đều không phù hợp với *P. quercivorus* và sự khác nhau rõ rệt trong thành phần các hợp chất dễ bay hơi có giữa lá tươi và lá khô phản ánh sự khác biệt về sự phù hợp cây chủ. Các nghiên cứu tiếp theo cần làm rõ phản ứng râu đầu của một *P. quercivorus* đến các hợp chất bay hơi để hiểu thêm về sinh thái hóa học của loài mọt này.

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng một mang năm nhạy cảm với ánh sáng khi bay phân tán từ một cây cũ đã chết để tìm kiếm cây chủ mới, và sau đó quyết định lựa chọn và chấp nhận

cây chủ. Những hành vi này được đưa ra trong điều kiện năng lượng của một bị suy giảm do hoạt động bay. Có ý kiến cho rằng, một *P. quercivorus* bỏ qua cây chủ phân bố ở gần và bay phân tán để lựa chọn cây chủ ở khoảng cách xa (Yamasaki *et al.*, 2016). Trong nghiên cứu này, phản ứng hành vi của một *P. quercivorus* tới các hợp chất dễ bay hơi từ lá được đánh giá nhanh chóng bằng khứu giác. Điều này có thể không giống với hành vi bay của loài một này trong điều kiện tự nhiên. Do đó, kết quả được trình bày ở đây đã khiến chúng ta suy đoán về một giả thuyết tiềm năng rằng một *P. quercivorus* lựa chọn cây chủ phù hợp dựa trên hợp chất bay hơi khi đang phân tán. Do đó, chúng tôi đề xuất các nghiên cứu sau này nên làm rõ ảnh hưởng của hoạt động bay đến phản ứng hành vi của một *P. quercivorus* đến các hợp chất dễ bay hơi từ lá.

Giống như các loài một mang nấm khác, một *P. quercivorus* có thể sử dụng các giác quan khác để lựa chọn cây chủ phù hợp. Ví dụ, sự kết hợp của khứu giác và thị giác có thể tăng khả năng phân biệt cây chủ như được chỉ ra ở hai loài một *Dendroctonus aereosae* và *D. pseudotsugae* gây hại cây lá kim (Campbell & Borden, 2006). Do đó, có khả năng rằng chỉ riêng các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá là chưa đủ để một *P. quercivorus* lựa chọn cây chủ. Mặt khác, mặc dù sắc ký khí-khối phổ (GC-MS) được sử dụng như một công cụ phổ biến để định lượng các thành phần hóa học dễ bay hơi (Millar & Haynes, 1998), nhưng phương pháp này cũng tồn tại một số hạn chế trong việc xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học (Liang *et al.*, 2004). Trong nghiên cứu hiện tại, chúng tôi sử dụng mẫu lá đã được cắt rời hoàn toàn khỏi thực vật làm nguồn phát thải chất dễ bay hơi. Điều này có thể gây ra sự thất thoát của các hợp chất dễ bay hơi không được dự đoán trước từ các cuống lá. Do đó, chúng tôi phỏng đoán rằng hành vi hấp dẫn

của một *P. quercivorus* đối với các hợp chất bay hơi từ lá tươi của 6 loài thực vật có thể phát sinh từ các lá đã tách ra. Có thể một lượng nhỏ Ethanol bay hơi nhanh được tạo ra trong phần cuống lá bị cắt rời. Theo kết quả nghiên cứu trước, lá cắt rời có khả năng thải ra một lượng lớn Ethanol (Kimmerer & Macdonald, 1987). Tuy nhiên, các hợp chất dễ bay hơi này không được tìm thấy trong điều kiện sắc ký của chúng tôi, có thể do thời gian lưu giữ của nó ngắn và kích thước phân tử nhỏ. Trên thực tế, Ethanol được coi là dấu hiệu điển hình của cây bị rối loạn và suy yếu sinh lý. Bẫy với môi dẫn dụ Ethanol được sử dụng rộng rãi để quản lý một mang nấm (Wood, 1982). Việc cải tiến thí nghiệm là cần thiết để đánh giá đầy đủ tiềm năng của các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ mẫu lá nguyên vẹn. Ví dụ như sử dụng các cây con hoặc phương pháp vi phân đoạn pha rắn (HS-SPME) kết hợp khối phổ phản ứng proton (PTR-MS) (Lindinger *et al.*, 1998) sẽ có thể cho phép phát hiện trực tiếp các chất bay hơi có mức độ phát tán mạnh.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này chỉ ra rằng một mang nấm *P. quercivorus* bị hấp dẫn bởi các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá tươi của các loài cây khác nhau. Kết quả này gợi ý rằng tín hiệu khứu giác tăng khả năng định hướng trong hành vi lựa chọn cây chủ của một *P. quercivorus*. Mặt khác, kết quả này phần nào hỗ trợ giả thuyết nghiên cứu rằng thành phần các hợp chất hóa học dễ bay hơi từ lá khác nhau rõ rệt giữa các loài thực vật và chúng có thay đổi khi cây bị suy giảm về sinh lý. Trong thời gian tới, chúng tôi sẽ làm rõ ảnh hưởng của các yếu tố khác nhau đến hành vi của một *P. quercivorus* để có được cái nhìn toàn diện về quá trình lựa chọn cây chủ của loài một này bởi vì điều này có thể ý nghĩa cho việc phát triển các giải pháp quản lý sự gây hại của một mang nấm *P. quercivorus*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmad S, 1983. Herbivorous insects: Host-seeking behavior and mechanisms.
2. Bernays EA & Chapman RF, 1994. Host-plant selection by aphytophagous insect.
3. Byers JA, 1995. Host-tree chemistry affecting colonization in bark beetles. In R.T. Cardé and W. J. Bell (eds.). *Chemical Ecology of Insects 2*. 154 - 213. Chapman & Hall, New York.
4. Byers JA, Zhang QH, Schlyter F, 1998. Volatiles from nonhost birch trees inhibit pheromone response in Spruce bark beetles. *Naturwissenschaften*. 85: 557 - 561.
5. Campbell SA & Borden JH, 2006. Integration of visual and olfactory cues of hosts and non-hosts by three bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Entomological Entomology*. 31: 437 - 449.
6. Carolyn HS, Rodman RL, Pimont F, Chad MH, Joel DM, 2017. Fires following bark beetles: Factors controlling their severity and disturbance interactions in ponderosa pine. *Fire Ecology*. 13: 1 - 23.
7. Ciesla WM, 2011. Bark and ambrosia beetles. In: *Forest entomology: A global perspective*. Blackwell, Oxford, pp 173 - 202.
8. Ito S, Yamada T, 1998. Distribution and spread of the mass mortality of oak trees (In Japanese with English summary). *Journal Japanese Forestry Society*. 80:229 - 232.
9. Jactel H, Halder IV, Menassieu P, Zhang QH, Schlyter F, 2001. Non-host volatiles disrupt the response of the stenographer bark beetle, *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Scolytidae), to pheromone-baited traps and maritime pine logs. *Integrated Pest Management Reviews*. 6: 197 - 207.
10. Johnson CB, Kazantzis A, Skoula M, Mitteregger U, Novak J, 2004. Seasonal, populational and ontogenic variation in the volatile oil content and composition of individuals of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*, assessed by GC headspace analysis and by SPME sampling of individual oil glands. *Phytochemical Analysis*. 25: 286 - 292.
11. Kashiwagi T, Nakashima T, Tebayashi S, Kim CS, 2006. Determination of the absolute configuration of quercivorol, (1S,4R)-p-meth-2-en-1-ol, an aggregation pheromone of the ambrosia beetle *Platypus quercivorus* (Coleoptera: Platypodidae). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 70: 2544 - 2546.
12. Kelley ST & Farrell BD, 1998. Is specialization a dead end? The phylogeny of host use in *Dendroctonus* bark beetles (Scolytidae). *Evolution*. 52: 1731 - 1743.
13. Kimmerer TW & Macdonald RC, 1987. Acetaldehyde and ethanol biosynthesis in leaves of plants. *Plant physiology*. 84: 1204 - 1209.
14. Liang M, Qi M, Zhang C, Zhou S, Fu R, Huang J, 2004. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile compounds from *Houttuynia cordata* Thunb after extraction by solid-phase microextraction, flash evaporation, and steam distillation. *Analytica Chimica Acta* 531: 97 - 104.
15. Lindinger W, Hansel A, Jordan A, 1998. On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry (PTR-MS): medical applications, food control, and environmental research. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*. 173: 191 - 241.
16. Millar JG & Haynes KF, 1998. *Methods in Chemical Ecology: Chemical methods*. Kluwer, Norvel.
17. Moeck HA, 1970. Ethanol as the primary attractant for the ambrosia beetle *Trypodendron lineatum* (Coleoptera: Scolytidae). *The Canadian Entomologist*. 102: 985 - 995.
18. Morris JL, Cottrell S, Christopher JF, Winslow DH, Rosemary LS, Vachel AC, Jennifer LC, Clement J, 2016. Managing bark beetle impacts on ecosystems and society: priority questions to motivate future research. *Journal of Applied Ecology*. 54: 750 - 760.
19. Paine TD, Raffa KF, Harrington TC, 1997. Interaction among scolytid bark beetles, their associated fungi, and live host conifers. *Annu Rev Entomol* 42:179 - 206.

20. Pham, D. L., Ito, Y., Okada, R., Ikeno, H., Isagi, Y., & Yamasaki, M., 2019. Effects of leaf conditions and flight activity on the behaviour of *Platypus quercivorus* (Murayama) (Coleoptera: Platypodidae). *Journal of Applied Entomology*, 143(9), 1000 - 1010.
21. Pham, D. L., Ito, Y., Okada, R., Ikeno, H., Kazama, H., Mori, N., & Yamasaki, M., 2020. *Platypus quercivorus* ambrosia beetles use leaf volatiles in host selection. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 168(12), 928 - 939.
22. R Core Team, 2016. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistic computing, Vienna.
23. Raffa KF & Berryman AA, 1982. Gustatory cues in the orientation of *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera: Scolytidae) to host trees. *Canadian Entomologist* 114: 97 - 104.
24. Rudinsky JA, 1962. Ecology of Scolytidae. *Annual Review of Entomology*. 7: 327 - 348.
25. Schroeder LM, 1988. Attraction of the bark beetle *Tomicus piniperda* and some other bark and wood-living beetles to the host volatiles α -pinene and ethanol. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 46: 203 - 210.
26. Soné K, Ito K, Fukuyama S, Nagano T, 2000. Effects of attack time on the development and reproduction of the oak borer, *Platypus quercivorus* (Murayama). *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*. 44: 189 - 196.
27. Visser JH, 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*. 31: 121 - 144. Visser JH & Avé DA (1978) General green leaf volatiles in the olfactory orientation of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 24: 738 - 749.
28. Wood DL, 1982. The role of pheromones, kairomones and allomones in the host selection and colonization behavior of bark beetles. *Annual Review of Entomology*. 27: 411 - 446.
29. Yamasaki & Futai, 2011. Discrimination among host tree species by the ambrosia beetle *Platypus quercivorus*. *Journal of Forest Research*. 17: 149 - 155.
30. Yamasaki M, Kaneko T, Takayanagi A, Ando M, 2016. Analysis of oak tree mortality to predict ambrosia beetle *Platypus quercivorus* movement. *Journal of Forest Science* 62: 377 - 384.
31. Zhang QH & Schlyter F, 2004. Olfactory recognition and behavioral avoidance of angiosperm nonhost volatiles by conifer-inhabiting bark beetles. *Agricultural and Forest Entomology*. 6: 1 - 19.
32. Zhang QH, Birgersson G, Zhu J, Lofstedt C, Lofqvist J, Schlyter F, 1999. Leaf volatiles from non-host deciduous trees: Variation by tree species, season and temperature, and electrophysiological activity in *Ips typographus*. *Journal of Chemical Ecology*. 25: 1923 - 1943.
33. Zurr V, 1989. Attractiveness of the terpene alpha-pinene to the large pine shoot beetle, *Blastophagus piniperda* (L.) (Col., Scolytidae). *Journal of Applied Entomology*. 107: 141 - 144.

Email tác giả chính: duylong.vfu@gmail.com

Ngày nhận bài: 02/02/2023

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 13/02/2023

Ngày duyệt đăng: 18/02/2023