



Composición química y actividad biológica de la secreción larval de la especie *Phoracantha recurva* Newman, 1842 (Coleóptera: Cerambycidae)

Chemical composition and biological activity of the larval secretion of the species *Phoracantha recurva* Newman, 1842 (Coleoptera: Cerambycidae)

Luis Jesús Reyes-García^{1,*}; Pia Francisca Cid Oyanedel²; Pamela Fernanda Cuevas Catalan³

¹ Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santo Tomás, Limonares 190, Viña del Mar, Chile.

² Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Avda. Universidad 330, Curauma, Valparaíso, Chile.

³ Escuela de Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás, Limonares 190, Viña del Mar, Chile.

Received January 25, 2019. Accepted March 17, 2019.

Resumen

La especie *Phoracantha recurva* (Coleóptera: Cerambycidae) es una plaga que en su etapa larval ataca principalmente plantaciones de eucaliptus. Con la finalidad de documentar un perfil de los compuestos que secreta la larva de este insecto y analizar su actividad biológica, hemos identificado los componentes presentes en el extracto metanol/cloroformo mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. Se encontraron 41 compuestos, varios de los cuales han sido identificados en la especie hospedera. Se utilizó un olfatómetro para analizar las respuestas olfativas de hormigas (*Camponotus morosus*) hacia ejemplares de larvas de *P. recurva* y distintas dosis de sus secreciones. Los resultados obtenidos sugieren que la secreción larval actúa como repelente de las hormigas. Los resultados se discuten en vista de la información existente.

Palabras clave: GC-MS; composición larval; bioensayos; escarabajo taladrador del eucalipto; respuestas olfativas.

Abstract

The species *Phoracantha recurva* (Coleoptera: Cerambycidae) is a plague that, in its larval stage, mainly attacks eucalyptus plantations. In order to document a profile of the compounds secreted by *P. recurva* larvae and analyze their biological activity, we identified the components present in the methanol/chloroform extract by gas chromatography/mass spectrometry. 41 compounds were found, several of which have been identified in the host species. An olfactometer was used to analyze the olfactory responses of ants (*Camponotus morosus*) to the *P. recurva* larvae and different doses of their secretions. The results suggest that the larval secretion repels the ants. The 79 results are discussed in view of the existing literature.

Keywords: GC-MS; larval composition; bioassays; longhorned borer beetle; olfactory responses.

1. Introducción

El género *Phoracantha* (Coleóptera: Cerambycidae) es originario de Australia y Nueva Guinea y presenta dos especies en Chile: *Phoracantha semipunctata* Fabricius y *Phoracantha recurva* Newman. En su etapa larval esta especie ataca a distintas

especies de eucaliptus, los que constituyen uno de los grupos forestales de mayor importancia económica en Chile (Özdikmen, 2017), en un principio el daño lo realiza superficialmente, sin embargo, luego se internan en la madera generando galerías de alimentación de hasta 10 mm de

How to cite this article:

Reyes-García, L.J.; Cid, P.F.; Cuevas, P.F. 2019. Composición química y actividad biológica de la secreción larval de la especie *Phoracantha recurva* Newman, 1842 (Coleóptera: Cerambycidae). *Scientia Agropecuaria* 10(1): 79-84.

* Corresponding author
E-mail: luisreyesga@santotomas.cl (L. Reyes-García).

diámetro, lo cual provoca el debilitamiento y finalmente la muerte del árbol (Dhahri *et al.*, 2016; Paine y Lieutier, 2016).

Phoracantha recurva ha sido reportada en Chile en las regiones de Valparaíso y Metropolitana y presenta varios enemigos naturales que han sido utilizados en su control biológico (Branco *et al.*, 2015). La duración del periodo larva-adulto es cercano a los 300 días, mientras que la duración en la etapa adulta es de aproximadamente 90 días (Suma, 2018).

Varias especies pertenecientes al orden coleóptera, en su etapa larval producen compuestos en glándulas dorsales y son emitidos como mecanismo de defensa cuando es atacado (Hölldobler, 2018). Los compuestos presentes en la secreción de la larva *P. recurva* no han sido estudiados anteriormente, en este trabajo hemos identificado los componentes presentes en el extracto metanol/cloroformo mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GCMS). Los compuestos presentes en los extractos se identificaron por comparación de los patrones de fraccionamiento de masa, índices de retención, reacciones de derivatización y por comparación con compuestos sintéticos utilizados como referencia.

La actividad repelente de los compuestos de la secreción de larvas se probó en bioensayos de laboratorio con hormigas (*Camponotus morosus*) utilizando un olfatómetro en Y. Los resultados obtenidos sugieren que las larvas emiten compuestos que actúan como repelente de las hormigas. Los resultados se discuten en vista de la información existente.

2. Materiales y métodos

2.1 Insectos

Las larvas de *P. recurva* se colectaron en eucaliptos spp en los alrededores de Quilpué, Valparaíso (33° 4' S 71° 25' W) V región, entre los periodos diciembre 2016 y mayo 2017, fueron mantenidas en cámara climática (25 ± 1 °C; 16L: 8D; 50 ± 5% humedad relativa) y alimentadas con madera y hojas de eucalipto. Las larvas fueron identificadas de acuerdo a sus características morfológicas (Paine y Lieutier, 2016). Una vez emergidos los adultos, se confirmó la identificación de la especie de acuerdo a las características morfológicas descritas en la literatura (Valladares *et al.*, 2017).

2.2 Compuestos de referencia

Todos los reactivos químicos y disolventes fueron adquiridos en Merck (Darmstadt, Alemania) o Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.). Los compuestos de referencia

(metil ésteres de ácidos grasos, FAME) se adquirieron en Supelco (37 componentes FAME Mix, n° de catálogo CRM47885).

2.3 Extractos

El extracto crudo de larvas se preparó por maceración en hexano de acuerdo a la metodología descrita por Teh *et al.* (2017).

2.4 Formación de metil ésteres

A un extracto de 5 larvas en 2 mL de diclorometano se le agregó 2 mL de BF₃-MeOH y se dejó a 60°C por 2 h. Una vez transcurrido este tiempo, la solución fue lavada con agua destilada, se extrajo con hexano (2x1 mL), se secó con Na₂SO₄ y se concentró con un flujo suave de nitrógeno. La solución se almacenó a -20°C para su posterior análisis por GC-MS.

2.5 Derivatización de los extractos con disulfuro de dimetilo (DSDM)

A 50 µL de extracto en hexano se le agregó 25 µL de una solución de Yodo (5% en dietil éter) y 50 µL DSDM, se dejó a 50 °C por 4 h. Una vez transcurrido este tiempo se le agregó tiosulfato de sodio al 10%. La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ anhidro, concentrada con un flujo suave de nitrógeno y posteriormente analizada por GC-MS.

2.6 Análisis Cromatográfico

El análisis por cromatografía gaseosa (GC) se realizó utilizando un equipo Shimadzu GC-2014AFSC con un detector de ionización de llama (FID) y equipado con una columna capilar de silica fundida RTX-Wax (30 m x 0,32 mm diámetro interno, 0,25 µm film, Restek), las condiciones fueron 50 °C, 2 min a 10 °C min⁻¹ hasta 220 °C. El GC fue operado en modo splitless con un inyector de temperatura 250 °C. El análisis por GC-MS se realizó utilizando un equipo Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra, equipado con una columna RTX-5 (30 m x 0,25 mm diámetro interno, 0,25 µm film, Restek, Bellefonte, PA, USA), el programa utilizado fue a 50 °C por 5 min hasta 270 °C a 8 °C min⁻¹. El espectro de masas fue adquirido a 70 eV y el GC se trabajó en modo splitless con un inyector de temperatura de 250 °C. En ambos equipos se utilizó helio como gas transportador. Los picos se identificaron de acuerdo a su patrón de fraccionamiento de masas, tiempo de retención, por comparación con la librería de espectros NIST y con datos espectroscópicos disponibles en la literatura.

2.7 Bioensayos

Larvas en su último estadio (Paine y Liutier, 2016) fueron mantenidas individualmente bajo condiciones de bioensayo (20 °C) 1

hora antes del ensayo. Para los ensayos de comportamiento se utilizó como olfatómetro un tubo en Y de vidrio (7,0 mm diámetro interno, brazos de 5 cm) acoplado a dos contenedores de vidrio de 250 mL mediante tubos de teflón (8 mm diámetro interno, 40 cm de longitud). El tubo en Y se utilizó de forma horizontal y se suministró aire filtrado con carbón activado a una velocidad aproximada de 1,5 l·min⁻¹. En el primer experimento uno de los contenedores de vidrio contenía el estímulo (larvas) y el otro contenedor solo aire. En el segundo experimento se puso papel filtro con extracto y como blanco se utilizó papel filtro tratado con solvente. Se colocó una única hormiga en la base del tubo olfatómetro, su comportamiento fue observado durante 7 min y se registró su elección. Las hormigas que no hicieron elección fueron excluidas del análisis estadístico. La fuente de estímulo fue rotada para evitar el sesgo posicional y el olfatómetro fue lavado cada 5 ensayos. Las respuestas de las hormigas fueron ensayadas con los siguientes estímulos:

2.7.1 Respuesta hacia larvas

10 o 1 larvas fueron separadas 60 min antes de comenzar los ensayos y se colocaron en el recipiente de vidrio.

2.7.2. Respuesta hacia extractos diclorometánicos

Un papel de filtro de 2 × 2 cm se cargó con 120, 12 o 1,2 mg de extracto (correspondiente a 10, 1 o 0,1 extracto de larva equivalente (ELE) respectivamente. 1 ELE es la cantidad de extracto que se obtiene a partir de 1 larva en diclorometano. El papel filtro se puso en el recipiente una vez evaporado el solvente. Cada papel filtro se utilizó en 5 ensayos. Los datos fueron analizados con una prueba binomial para evaluar la significancia estadística.

3. Resultados y discusión

Larvas mantenidas con madera y hojas de eucalipto por una semana fueron investigadas. El cromatograma de las secreciones se muestra en la [Figura 1](#).

Tabla 1

Compuestos encontrados en extractos de larvas de la especie *Phoracantha recurva*

Orden elución	T _R (min)	Compuesto	^a Cantidad Relativa %
1	8,030	Dimetilfumarato	0,17 ± 0,020
2	8,240	Succinato de dimetilo	3,05 ± 0,210
3	8,900	Metil butanodioato de dimetilo	0,54 ± 0,001
4	9,485	Benzoato de metilo	0,37 ± 0,034
5	9,725	2-pentendioato de dimetilo	0,15 ± 0,010
6	9,900	2-hidroxi-2-metil Butanodioato de dimetilo	0,08 ± 0,001
7	11,415	α-terpineol	0,22 ± 0,015
8	11,980	Pentanodioato de dimetilo	0,51 ± 0,020
9	12,100	5-oxoxolano-2-carboxilato de metilo	0,20 ± 0,030
10	14,570	5-oxopirrolidina-2-carboxilato de metilo	0,93 ± 0,100
11	14,685	1-tetradeceno	0,04 ± 0,002
12	14,815	(Etoxiimino)propanodioato de dimetilo	0,11 ± 0,010
13	16,015	2-hidroxiopropano-1,2,3-tricarboxilato de trimetilo	3,51 ± 0,250
14	16,790	Dodecanoato de metilo	0,26 ± 0,010
15	17,370	11-metildodecanoato de metilo	0,08 ± 0,002
16	17,685	2-acetamidopentanodioato de dimetilo	0,14 ± 0,020
17	17,785	1-Hexadeceno	0,04 ± 0,035
18	18,265	Tridecanoato de metilo	0,05 ± 0,001
19	18,835	Dihidro jasmonato de metilo	0,10 ± 0,020
20	19,320	cis-9-Tetradecenoato de metilo	0,14 ± 0,025
21	19,395	trans-9-Tetradecenoato de metilo	0,19 ± 0,075
22	19,680	Tetradecanoato de metilo	1,86 ± 0,350
23	20,525	Pentadecanoato de metilo	0,16 ± 0,010
24	20,635	12-metil tridecanoato de metilo	0,36 ± 0,020
25	20,810	5-pentadecenoato de metilo	0,66 ± 0,050
26	21,010	5-Pentadecenoato de metilo	0,88 ± 0,040
27	22,000	(E)-9-hexadecenoato de metilo	0,20 ± 0,090
28	22,100	(Z)-9-hexadecenoato de metilo	8,77 ± 1,020
29	22,380	Hexadecanoato de metilo	18,57 ± 1,500
30	22,560	N.I.	0,44 ± 0,002
31	23,255	(E)-10-Heptadecenoico de metilo	2,07 ± 0,600
32	23,365	(Z)-10-Heptadecenoato de metilo	0,67 ± 0,050
33	23,460	Hexadecanal	0,19 ± 0,002
34	23,510	Heptadecanoato de metilo	1,35 ± 0,010
35	24,560	9-Octadecenoato de metilo	39,49 ± 2,150
36	24,740	Octadecanoato de metilo	7,37 ± 0,150
37	24,915	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoato de metilo	2,09 ± 0,500
38	25,210	1,1-dimetoxi Octadecano	0,49 ± 0,040
39	25,795	Nonadecanoato de metilo	1,87 ± 0,030
40	26,530	n-Tetratetracontano	0,61 ± 0,020
41	26,860	18-metilnonadecanoato de metilo	1,02 ± 0,080

^aValores medidos ± desviación estándar, n = 4.

Los compuestos obtenidos producto de la metanólisis fueron identificados por comparación con estándares de referencia (ver materiales y métodos). Una lista con la identificación de los compuestos es dada en la [Tabla 1](#).

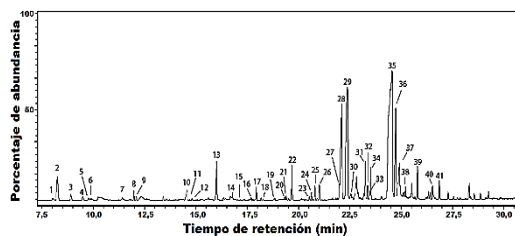


Figura 1. Cromatograma de gases de una muestra representativa del extracto de larvas de *Phoracantha recurva*.

Todos los metil ésteres saturados presentaron el fragmento m/z M^+ y m/z 74 (pico base) producido por un reordenamiento de McLafferty en los metil ésteres (Maulidiyah et al., 2017). En el espectro de masas de todos los metil ésteres monoinsaturados tuvieron los picos M^+ , M^+ -31, M^+ -32, M^+ -74 y el pico base fue de 55.

La estructura del compuesto 30 no pudo ser identificada, sin embargo, el espectro de masas presentó los fragmentos m/z 55, 69, 83, 97, 111, 236 y 270, indicando que se trata de un ácido graso. Para la determinación de la ubicación de los dobles enlaces de todos los compuestos monoinsaturados, el extracto fue sometido a una reacción de derivatización con DMSD, esta reacción representa un conveniente y efectivo método para la determinación de la posición de dobles enlaces en ésteres monoinsaturados, sin embargo, esta metodología se dificulta en sistemas conjugados (Shibamoto et al., 2016).

Los bioensayos fueron realizados con hormigas de la especie *Camponotus morosus* y se observó la respuesta hacia distintas dosis de extractos que contenían los compuestos enlistados en la [Tabla 1](#) y además frente a ejemplares vivos de larvas ([Tabla 2](#)).

Tabla 2

Actividad repelente de la secreción larval de la especie *P. recurva* contra hormigas *C. morosus*

Estimulo	N	No. de hormigas respondiendo a		Significancia
		Estimulo	Control	
10 larvas	25	1	24	***
1 larva	25	6	19	**
Extracto	25	4	21	**
10 ELE	25	7	18	*
Extracto 1 ELE	25	12	13	NS
Extracto 0,1 ELE	25	12	13	NS

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; NS = no significativo para una prueba binomial entre las dos fuentes aromáticas.

La mayor colecta de insectos de *P. recurva* se consiguió entre los meses de enero-mayo del año 2017, luego de los incendios forestales que ocurrieron en noviembre de 2016 en el sector de Los Pinos, Quilpué, Valparaíso. La gran presencia de ejemplares se debió a que los insectos detectan y se orientan hacia la fuente de humo y la respectiva emisión de volátiles que actúan como kairomonas (Álvarez et al., 2015).

La secreción larval de *P. recurva* contiene muchos compuestos que han sido reportados en especies hospedadoras y en insectos (Luís et al., 2016; Szczepanik, 2018; Mitra et al., 2017). Los compuestos mayoritarios encontrados correspondieron a ácidos grasos. En larvas de especies como hormigas, escarabajos y lepidópteros, se ha encontrado que estos provienen de aminoácidos (Tittiger y Blomquist, 2017).

La manera en que usualmente se realiza una identificación de la ruta biosintética es mediante marcaje isotópico de ácidos grasos que actúan como precursores, estos pueden ser agregados tópicamente al insecto para posteriormente proceder al análisis mediante GC-MS. Una aproximación a la comprensión de la biosíntesis es la identificación total de los ácidos grasos presentes en la secreción larval. El doble enlace en la posición $\Delta 9$ en los componentes identificados en insectos se introduce por lo general por la acción de una $\Delta 9$ desaturasa (Min et al., 2017) produciendo-se una mezcla isomérica. Las secreciones de la larva estudiada revelaron grandes cantidades de (*Z*)-9-hexadecenoato de metilo (8,8%), mientras que el isómero E se encontró solo en un 0,2%, esto sugiere que la acción la enzima desaturasa juega un rol importante en la formación isomérica de los compuestos encontrados. La presencia de los compuestos hexadecanoato de metilo, tetradecanoato de metilo y dodecanoato de metilo indicaría un acortamiento de cadena por la acción de una β -oxidasa a partir del ácido octadecanoico, tal como se muestra en la [Figura 2](#).

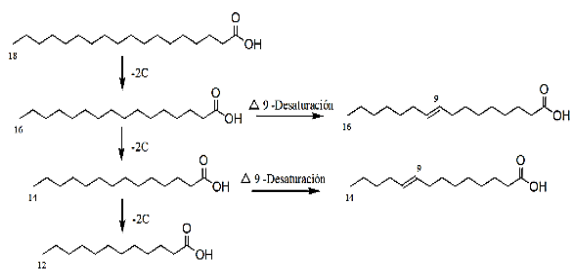


Figura 2. Ruta biosintética propuesta para algunos de los componentes presentes en el extracto de larvas de *P. recurva*.

Aunque muchos precursores de los constituyentes de la secreción han sido reportados en la planta huésped, no podemos excluir la biosíntesis de estos por parte de las larvas.

En el caso del iridoide encontrado, no se ha reportado su biosíntesis en larvas de coleópteros, sin embargo, se conoce la ruta vía mevalonato mediante la hidrólisis de glicósidos presentes en plantas y su posterior acción enzimática (Abdallah y Quax, 2017). Por otra parte, la secreción de larvas no fue analizada cuantitativamente.

Los bioensayos con hormigas revelaron que la actividad repelente hacia la secreción larval es independiente si las hormigas son expuestas a ejemplares vivos de larvas o hacia el extracto de estas, muy pocas hormigas intentaron acercarse al lugar donde estaban los productos químicos. Ácidos grasos han sido reportados con actividad repelente hacia varios artrópodos y se ha propuesto su potencial uso como bioplagueicida (Reifenrath, 2015), en este sentido, los estímulos ensayados que contenían la secreción larval mostraron una potente repelencia, y por lo tanto parecen muy efectivos en defensa contra las hormigas de la especie *C. morosus*. Estos bioensayos proporcionan solo una información preliminar sobre la eficiencia defensiva real de las secreciones, pues no se analizaron los compuestos individuales, además no podemos descartar que la secreción contenga compuestos que ejerzan actividad repelente y no hayan sido detectados.

En campo se observó que la hormiga *C. morosus* no ataca en solitario a la larva de la especie *P. recurva*, sin embargo, si se alimenta de ejemplares ya muertos. Esta observación se correlaciona con la reportado para esta especie, en donde se señala que es una especie generalista y carroñera, que se alimenta con restos de insectos o insectos enteros muertos y solo un 0,65% se alimenta de larvas vivas de insectos del orden coleóptera (Grez et al., 1986).

4. Conclusiones

Se logró identificar 41 de los compuestos presentes en la larva de la especie *P. recurva*, muchos de los cuales los obtiene directamente de la dieta o bien los produce degradando la biomasa del hospedero. Nuestros resultados muestran la evidencia empírica que la secreción de esta larva ejerce un efecto repelente contra hormigas de la especie *C. morosus*, en este sentido, la gran población de larvas puede ser sostenida en parte por su ventajoso sistema de defensa química.

Agradecimientos

Al apoyo financiero de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad Santo Tomás (proyecto código TAS 000022497). A Gaspar Reyes-Cordova por su apoyo en la colecta de insectos.

Referencias bibliográficas

- Abdallah, I.; Quax, W. 2017. Glimpse into the Biosynthesis of Terpenoids. *KnE Life Sciences* 3: 81-98.
- Álvarez, G.; Ammagarhalli, B.; Hall, D.R.; Pajares, J.A.; Gemen, C. 2015. Smoke, pheromone and kairomone olfactory receptor neurons in males and females of the pine sawyer *Monochamus galloprovincialis* (Olivier) (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Insect Physiology* 82: 46-55.
- Branco, M.; Videira, N.; Rosa, M. 2015. A review of invasive alien species impacts on eucalypt stands and citrus orchards ecosystem services: Towards an integrated management approach. *Journal of Environmental Management* 149: 17-26.
- Dahri, S.; Lieutier, F.; Cheikhrouha, F.C.; Ben-Jamaa M.L. 2016. Distribution, preference and performance of *Phoracantha recurva* and *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: cerambycidae) on Various eucalyptus species in Tunisia. *Redia* 99: 83-95.
- Grez, A.; Simonetti, J.; Ipinza-Regla, J. 1986. Hábitos alimenticios de *Camponotus morosus* (Smith, 1858) (Hymenoptera: formicidae) en Chile central. *Revista Chilena de Entomología* 13: 51-54.
- Hölldobler, B.; Kwapich, C.L.; Haight K.L. 2018. Behavior and exocrine glands in the myrmecophilous beetle *Lomechusoides strumosus* (Fabricius, 1775) (formerly called *Lomechusa strumosa*) (Coleoptera: Staphylinidae: Aleocharinae). *PLOS ONE* 13(7): 1-18
- Luis, Á.; Duarte, A.; Gominho, J.; Domingues, F. & Duarte, A. P. 2016. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products* 79: 274-282.
- Maulidiyah, M.; Fatma, F.; Natsir, M.; Wibowo, D. 2017. Characterization of methyl ester compound of biodiesel from industrial liquid waste of crude palm oil processing. *Analytical Chemistry Research* 12: 1-9
- Min, Q.; Cheng, S.; Xi, J.; Xin, T.; Xia, B.; Zou, Z. 2017. Differential expression patterns of two delta-9-acyl-CoA desaturases in *Thitarodes pui* (Lepidoptera: Hepialidae) during different seasons and cold exposure. *Ecology and Evolution* 7: 1909-1918.
- Mitra, S.; Sarkar, N.; Barik, A. 2017. Long-chain alkanes and fatty acids from *Ludwigia octovalvis* weed leaf surface waxes as short-range attractant and ovipositional stimulant to *Altica cyanea* (Weber) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Bulletin of Entomological Research* 107(3):391-400.
- Özdikmen, H.A. 2017. Complete list of invasive alien longhorned beetles species for Turkey (coleoptera: cerambycidae). *Munis Entomology & Zoology* 12 (2): 508-515.
- Paine, T.D.; Lieutier, F. 2016. *Insects and diseases of Mediterranean forest systems*. Editorial Springer Publishing Berlin, Alemania.
- Reifenrath, W.G. 2015. Laboratory and Field Studies of C8910, a fatty acid based insect /arthropod repellent and biopesticide. In Y. Bernal (ed.) *Pesticide formulation and delivery systems*, ASTM International, West Conshohocken, PA 34: 36-51.
- Shibamoto, S.; Murata, T.; Yamamoto, K. 2016. Determination of double bond positions and geometry of methyl linoleate isomers with dimethyl disulfide adducts by GC/MS. *Lipids* 51(9): 1077-1081.

- Suma, P.; Nucifora, S. 2018. A review on introduced alien insect pests and their associated parasitoids on eucalyptus trees in Sicily. *Journal of Zoology* 101:81-88.
- Szczepanik, M.; Walczak, M.; Zawitowska, B.; Michalska-Sionkowska, M.; Szumny, A.; Wawrzęczyk, C.; Brzezinska, M. 2018. Chemical composition, antimicrobial activity and insecticidal activity against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) and *Artemisia dracunculus* L. essential oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98: 767–774.
- Teh, C.H.; Nazni, W.A.; Nurulhusna, A.H.; Norazah, A.; Lee, H. L. 2017. Determination of antibacterial activity and minimum inhibitory concentration of larval extract of fly via resazurin-based turbidometric assay. *BMC Microbiology* 17: 1–8.
- Tittiger, C.; Blomquist, G.J. 2017. Pheromone biosynthesis in bark beetles. *Current Opinion in Insect Science* 24: 68–74.
- Valladares, L.; Courtin, O.; Brustel, H. 2017. *Phoracantha semipunctata* (Fabricius, 1775) en région toulousaine. Actualisation de son expansion et remarques sur *P. recurva* Newman, 1840 (Coleoptera, Cerambycidae). *Carnets Natures* 4: 5-12.