استخلاص الفرمونات من حشرة حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة *Cerambyx dux* (Cerambycidae, Coleoptera)

إيهاب زغيب*

الملخص

أُنجز هذا العمل في مخبر الحشرات الإقتصادية – مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية–كلية الزراعة ومخبر الفيزياء العام كلية العلوم – جامعة دمشق خلال الفترة بين 2014 /5/1 -2016 /9/1 هدف هذا البحث إلى استخلاص الفرمونات من مستخلص كامل الجسم للذكور والإناث العذارى من حشرة حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة *Cerambyx dux* باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية – مطياف الكتلة GC–MS، لقد أظهر التحليل وجود عشرة مركبات عند الذكور ستة مركبات منها تنتمي إلى الألكانات، وأربعة مركبات تنتمي إلى الأسترات. تراوحت النسبة المئوية بين 0.527% للمركب n-hexadecanoicacid و 52.204% للمركب 9–12–octadecadienoic acid (z-z) وهما من المركبات الأستيرية، بينما تراوحت النسبة المئوية للألكانات بين 0.699% للمركب Methyl,Octadecan 6 و 3.2% للمركب Hexacosane، وتم الكشف عن ثمانية مركبات أساسية عند الإناث وهي ستة مركبات من الألكانات، أربعة مركبات منها ميثيل ألكان(methylalkanes)، ومركبين يتبعان للإسترات وتراوحت النسبة المئوية للمركبات بين 4.3% للمركب

* مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

9,12,15-Octadecatrienoic Acid, Methyl Ester,(Z,Z,Z) و20.18% للمركب 2-Methyl- Eicosane.

الكلمات المفتاحية: *Cerambyx dux* ، فرمونات،الكروماتوغرافيا الغازية– مطياف الكتلة GC-MS، الكانات، استرات.

Extraction of the pheromones from long-horned beetle borer *Cerambyx dux*(Cerambycidae, Coleoptera)

Ehab Zgheb*

Abstract

This work was done in The Biological control studies and research Center, Faculty of Agriculture, and the General Physics Laboratory, Faculty of Science, Damascus University, during the period 1/5/2014-1/92016. The aim of this research was to extract the pheromones from the whole body of males and virgin females from the long-horned beetle borer *C.dux*. by useing Gas chromatography - mass spectrometry GC-MS, Results indicated the presence of ten compounds in males, six of them belong to alkanes, and four compounds belong to Esters, Percentage of the esteric compounds ranged between 0.527% at n-hexadecanoic acid and 52.204% at 9-12-octadecadienoic acid (z-z), While eight basic compounds were found in females, six of them belong to alkanes, four of which are methyl alkanes and two compounds belong to esters, Percentage of the compounds ranged between 4.3% at 9,12,15-Octadecatrienoic Acid, Methyl Ester,(Z,Z,Z), and 20,18% at 2-Methyl- Eicosane.

Key words: *Cerambyx dux*, pheromones,Gas chromatography - mass spectrometry GC-MS, alkanes, Esters.

* Biological Control Studies and Research Center, Faculty of Agriculture, University of Damascus, Syria.

مقدمة:

تُعد حشرة حفار الساق ذو القرون الطويلة *Cerambyx dux* من حفارات الخشب المهمة متعددة العوائل، حيث تصيب عديد من أشجار الفاكهة مسببة خسائر اقتصادية كبيرة للمزارعين، تنتشر في المنطقة الوسطى والجنوبية من سوريا تحتاج الحشرة لتتم دورة الحياة حتى 3 سنوات ، الطور الضار هو اليرقات التي تحفر بالخشب (زغيب،2012).

تشترك الفرمونات في التركيب العام عند خنافس Cerambycidae حيث تتألف من مجموعة الهيدروكسيل (OH) ومجموعة الكربونيل على ذرتي الكربون الثانية أو الثالثة أو السادسة أو الثامنة أو العاشرة على السلسلة الكربونية، تنجذب الإناث بواسطة هذه الفرمونات لمسافات طويلة تصل حتى 100 متر أحياناً (Lacey *et al*. 2004). مما يدل على إمكانية استخدام هذه الفرمونات في إدارة هذه الآفات.يكون التركيب العام لهذه الفرمونات من هيدروكسي كيتون، 2-3- ألكان (hydroxyketone,2,3-alkanediol)، مثل الفرمونات المفرزه من ذكور Lamiinae– *Anoplophoraglabripennis* (Zhang *et al*. 2002)،وكذلك خنافس *Tetropiumfuscum* و *T. cinnamopterum* التي تنتج هذا الفرمون، ولكنه لايجذب الجنس الآخر إلا بعد أن يمزج مع الإيتانول ومواد وحيدة التربنتين من العائل النباتي (Silk *et al*. 2007)، ذكر Millar و Hanks عام (2016) أنه تم وصف الفرمونات لحوالي 100 جنس من خنافس Cerambycidae، وذكرت عديد من الدراسات أن ميثيل ألكان (Methyl Alkane) هو المركب الاساسي للفرمونات عند عديد من حشراتها (Lockey ,1976,1982; Howard, 1993; Fukaya *et al*., 2000)، كما بين Hanks و Millar عام (2016) أن الميثل استر مكون اساسي في الفرمونات عند بعض خنافس Cerambycidae.

هدف البحث: نظراً للأهمية الكبيرة للفرمونات الجنسية عند حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة *C.dux* فقد تم دراستها والعمل على تحديد تركيبها بما يفيد في استخدام المصنع القياسي لهذا الفرمون لمعرفة موعد انبثاق الحشرات الكاملة والاستفادة من موعد خروج الحشرات الكاملة لإجراء المكافحة الكيميائية لهذه الحشرة.

مواد البحث وطرائقه:

– **مواقـع البحـث:** نُفذ البحث خلال الفترة من 2014/5/1 حتى 2016/9/1، ونُفذالعمل المخبري في مخبر الحشرات الاقتصادية في مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية، ومخبر الفيزياء العام – كلية العلوم– جامعة دمشق.

– **المواد المستخدمة في العمل:**

– **حقليا:** منشار، مقص تقليم، فأس، علب جمع حشرات، أكياس نايلون، أنابيب اختبار، مكبرة يدوية، مرطبانات، مصائد غذائية، دفتر لتسجيل الملاحظات.

مخبريا: جهاز كروموتوغرافيا غازية (GC-MS)،حوجلات، أنابيب اختبار، مكبّرة ضوئية (بانيوكلير) من نوع Optecha بتكبير 10x5.4، أقفاص بيربلاكس شفافة محكمة الإغلاق بأبعاد (30-30-30)-(30-30-60)سم، أطباق بتري، أدوات تشريح، مجهر مزوّد بكاميرا من نوع Olympus، أوعية زجاجية، كحول إيتيلي، قطن، وغيرها.

– **طرائق العمل:**

– **جمع الحشرات:**جُمعت أفرع مصابة من قرية عرنة في ريف دمشق (خط عرض 35°، 10,02'53"، خط الطول 33°، 50,46'21"، على ارتفاع 1457 م) وحفظت في المخبر على درجة حرارة 25±2° م وفصلت الحشرات الكاملة عند انبثاقها حسب الجنس بعد تصنيفها وأخذت حشرات حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة *C.dux* ووضعت في عبوات بلاستيكية بدون غذاء بنظام ضوئي 14 ساعة إضاءة : 10 ساعات ظلام بشكل مفرد.

-**تصنيف الحشرات الكاملة:** صُنفت الحشرات التي جُمعت وفق سلالم تصنيف عالمية (Choate،1999؛Özdikmen 2وزملاؤه،2009؛Bense وزملاؤه،1995).

جمع فرمونات حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة *C.dux*:

تم الاستخلاص من كامل جسم الإناث والذكور لحشرة حفار الساق الوزيات ذو القرون الطويلة *C.dux* وهي بعمر يوم واحد حيث تخرج الحشرات الكاملة ناضجة جنسياً وتبدأ بالبحث عن الشريك والتزاوج فور انبثاقها والتقائها به (زغيب،2012)، حيث استخدمت لذلك أنابيب زجاجية وضعت فيها الحشرات الحية وأضيف لها 5 مل من الهكسان النظامي وتركت بدون تحريك لمدة ساعتين، بعدها استخدم syring لأخذ الهكسان المستخدم للاستخلاص ونقل إلى أنبوب زجاجي آخر، ومن ثم وضعت الأنابيب المُتحصل عليها على درجة حرارة −20°س

- تحليل الفرمونات باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية – مطياف الكتلة GC-MS:

تم التحليل باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC (Gas Chromatography) الموصول إلى جهاز مطياف الكتلة MS (Mass Spectrometry) وهو من نوع (Agilent Technologies, 7890A)، لمعرفة المواد التي تتكون منها الفرمونات الجنسية عند كلا الجنسين.

- نُفِّذ التحليل في مخبر الفيزياء العام في كلية العلوم بإشراف الدكتورة منال داغستاني . وأجري التحليل وفق Annie وزملاؤه (2010) حسب المراحل الآتية

1- حقن العينة Intrance : حُقنت العينة بواسطة محقن خاصsyring آلي داخل عمود الكروماتوغرافيا من نوع (Agilanttechnologe 7683B series injector)، حيث استخدم عمود (DB-5) بطول 30م، سماكة الفيلم 0.25 ميكرون، و القطر الداخلي 0.25 ملم، وهذا العمود موجود ضمن الفرن (Oven)، واستخدام الهيليوم كغاز حامل بمعدل تدفق 1 مل/ دقيقة، كما تمت برمجة درجة حرارة الفرن على الشكل الآتي: 100° م لمدة

دقيقة بعدها رفعت إلى 280° م بمعدل 10 درجات / دقيقة وبقيت على هذه الدرجة لمدة 20 دقيقة، وحُقنت العينة على الدرجة 280° م وبمدة 90 ثانية وبحجم 1 ميكروليتر.

إن تسخين العينة يسهل تبخيرها وتحويلها إلى الطور الغازي ويسمح لها بالانتقال بالغاز الحامل وكذلك فصلها قبل دخولها إلى مطياف الكتلة.

2- التأيين Ionization: تعتمد التقنية المستخدمة في الجهاز المستخدم على التأثير الأيوني للإلكترون EI(Ionization Electron Impact) مع طاقة للإلكترون تعادل 70ev وتيار كهربائي بشدة 200 ميللي أمبير. في هذه العملية ونتيجة قذف الإلكترونات باتجاه الجزيئة المتعادلة كهربائياً يتم تحويلها إلى شظايا مشحونة إيجابياً (أيونات) نتيجة إزالة إلكترونات منها، وكل شظية ناتجة لها كتلة معينة m وشحنة معينة z وتمثل كل شظية بنسبة كتلتها إلى شحنتها mlz.

3- تحليل الكتلة Mass Analysis: تدخل الشظايا إلى جزء آخر من مطياف الكتلة هو Mass Analyzer وهو عبارة عن مجموعة رباعية الأقطاب تدعى Quadrupole تشكل حقل كهربائي ومغناطيسي وتسمح للشظايا بالمرور داخلها حيث تتحول mlz من قيمة منخفضة إلى قيمة مرتفعة، بعدها يتم جمع الأيونات وتحويلها عبر شق ضيق إلى الكاشف، وهذا يحدث عدة مرات في الثانية وكل دورة تدعى Scan، ويقوم الحاسب برسم بياني لكل مسح، حيث يمثل المحور الأفقي قيمة mlz، أما المحور العمودي فيمثل وفرة كل شظية تم التعرف عليها ويسمى هذا الرسم Mass spectrum.

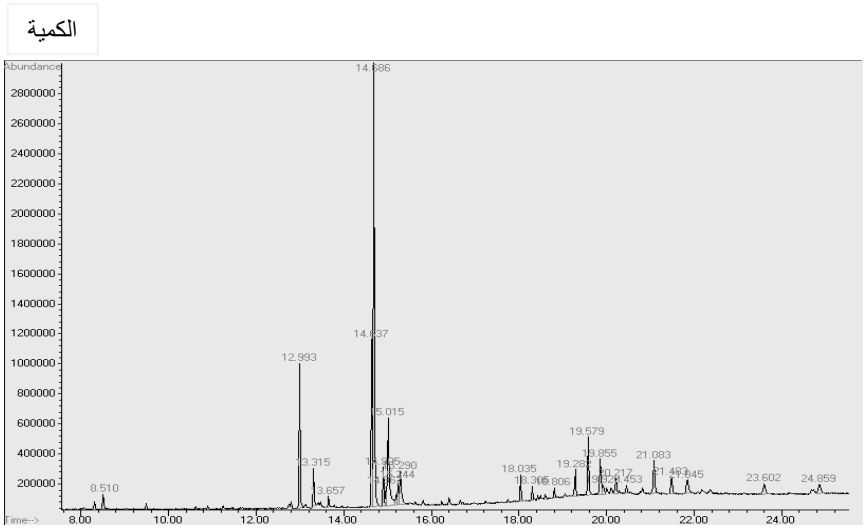
4- الكاشف Detector: يتألف من إلكترود كهربائي عالي الطاقة، تنجذب الأيونات الموجبة التي خرجت من Quadrupole إليه مما يؤدي إلى قذف إلكترونات تختلف كثافتها باختلاف تركيز الأيون، وهذه الإلكترونات تولد تيار يمثل إشارة يسجلها الحاسب، فالأيون الذي يكون تركيزه أكبر سيؤدي إلى توليد الإكترونات الأكثر وبالتالي سيعطي إشارة أكبر.

5- تحليل البيانات Data analyzation: يقوم الحاسب برسم بياني للإشارات الناتجة وهذا الرسم يدعى Chromatogram، وكل قمة في الرسم البياني تمثل إشارة (الإشارة تمثل مركب)، ويكون المحور الأفقي ممثلاً للزمن منذ حقن العينة Time Zero إلى نهاية تحليل المركب ويدعى هذا الزمن زمن الاحتفاظ Retention (RT) وهو الزمن الذي تنفصل عنده المركبات الموجودة في العينة، أما المحور العمودي فيمثل شدة الإشارة أو وفرة الأيون وهي مجموع الشدات التي نتجت عن عمليات المسح ككل ويسمى المجموع كروماتوغرام الأيون الكلي Total Ion Chromatogram (TIC).

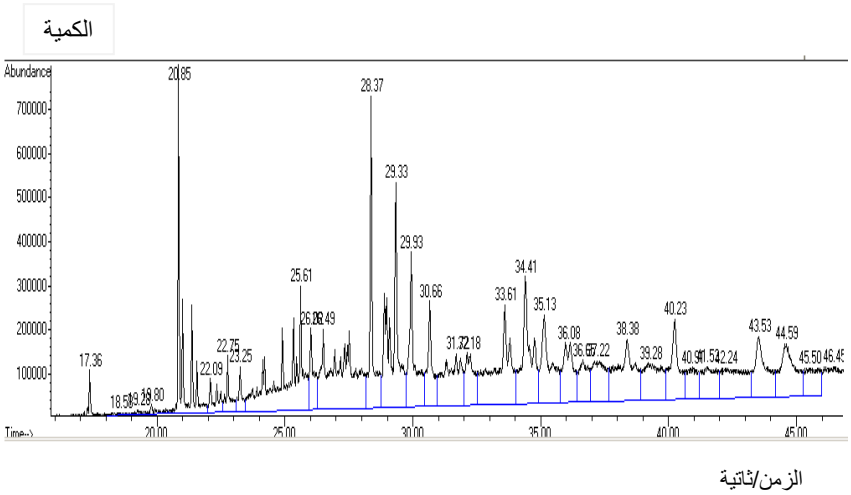
استخدم برنامج Software في تحليل العينات وهو X- Calibur. حيث تم تعريف كل مركب بالاعتماد على نموذج التشظي وقيم طول السلسلة المرادفة ECL (equivalent chain length) والتي أعطت طول السلسلة المماثلة لها في المواد التي تم تحليلها، وقورنت النتائج مع نتائج تحليل مواد قياسية باستخدام GC-MS وبنفس الطريقة ونفس العمود وفهرس الزمن والطيف واستخدم مكتبة NIST.

النتائج والمناقشة:

أُستخلصت الفرمونات من كامل للجسم للذكور والإناث لحشرات حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة *C.dux*، وقد تبين من خلال تحليلها باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية- مطياف الكتلة (GC-MS)، وجود العديد من المواد التي انفصلت في أزمنة (RT) مختلفة ويبين الشكلين (1-2) طيف الكتلة Chromatogram لمستخلص جسم الذكور والإناث على التوالي وذلك خلال زمن التحليل.



الشكل (1): طيف الكتلة Chromatogram لمستخلص الجسم عند ذكر C.dux.



الشكل (2): طيف الكتلة Chromatogram لمستخلص الجسم عند أنثى *C.dux*.

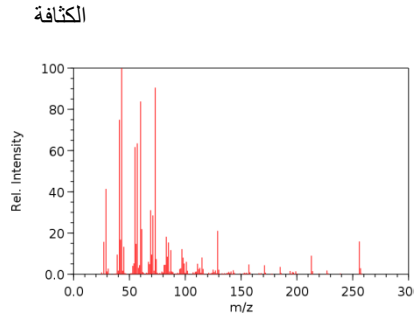
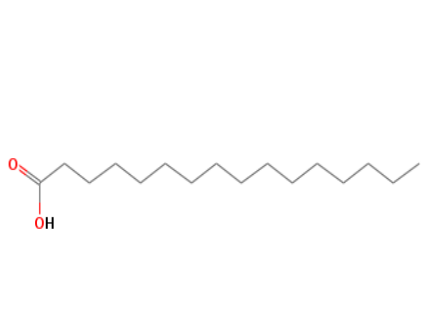
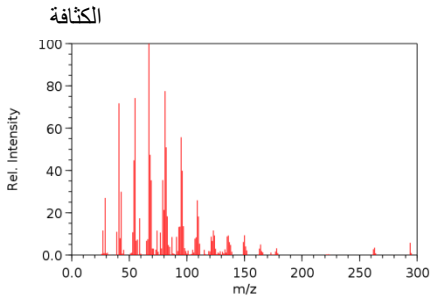
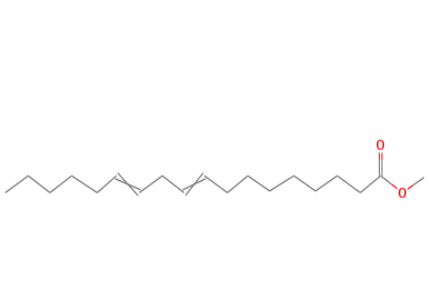
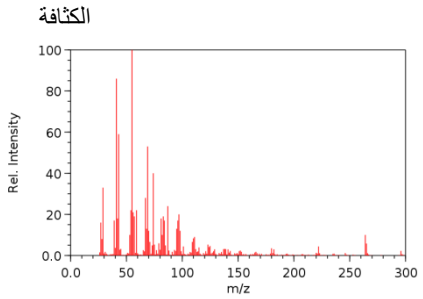
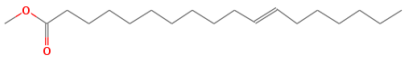
من خلال الكشف عن المواد التي تم الحصول عليها، أظهر تحليل الكرماتوغرافيا الغازية GC-MS وجود 34 قمة عند الذكور الشكل (1) و32 قمة عند الإناث الشكل (2) تبين أنها ألكانات واستر، وفينولات. لقد ذكر Millar و Hanks عام (2016) أنه تم وصف الفرمونات لحوالي 100 جنس من خنافس Cerambycidae ولم يتم ذكر أي مركب فينولي ضمن هذه الفرمونات، وذكرت العديد من الدراسات أن ميثيل ألكان (Methyl Alkane) هو المركب الأساسي للفرمونات عند العديد من حشرات Cerambycidae (Fukaya وزملاؤه،2000؛ Howard ،1993؛ Lockey ،1976، 1982)، كما بين Hanks و 2016) Millar) أن الميثل أستر مكون أساسي في الفرمونات عند بعض خنافس Cerambycidae. أظهر التحليل وجود عشرة مركبات عند الذكور ستة مركبات منها تنتمي إلى الألكانات، وأربعة مركبات تنتمي إلى الأسترات ويظهر الجدول(1) المركبات مع زمن انفصالها والنسبة المئوية لكل منها التي تراوحت بين 0.527 عند n−hexadecanoic acid و 52.204 عند octadecadienoic acid-12-9 (z-z)) وهما من المركبات الأستيرية، أما عن الألكانات فتراوحت النسبة بين 0.699 عند Methyl,Octadecan 6 و 3.2 للمركب Hexacosane. بين Ginzel وآخرون عام (b 2003) وجود Pentacosane بكميات قليلة وهذا يتوافق مع النتائج التي حصلنا عليها حيث كانت نسبته 0.660 من المجموع العام.

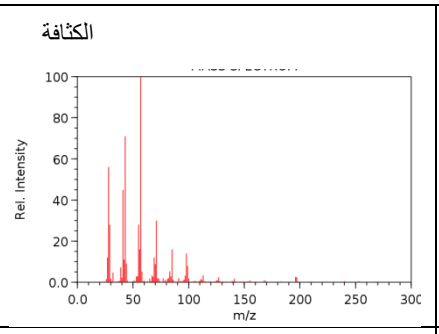
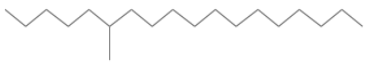
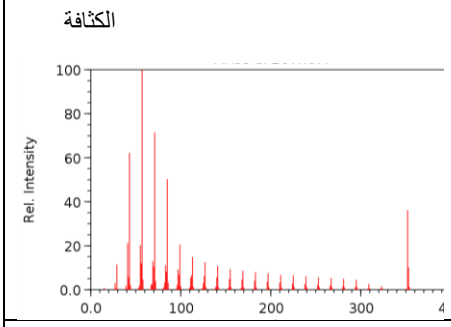
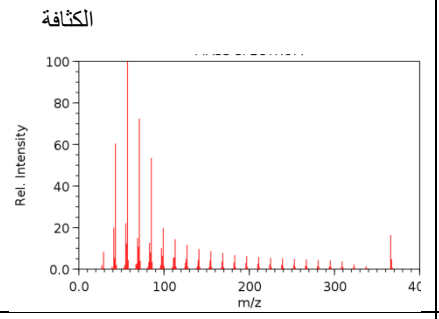
الجدول(1): مركبات تحليل مستخلص جسم ذكور *C.dux*

		المركب	الصيغة الإجمالية	الزمن/ثانية	النسبةالمئوية %
1	ألكان	dodecan 2,6,10,trimethyl	C15H32	8.3	0.827
2	أستر	hexadecenoicacid2-11-	C16H30O	12.75	14.605
3		n-hexadecanoic acid	C16H32O	13.12	0.527
4		9-12-octadecadienoic acid (z-z)	C18H320	14.96	52.204
5		11-Octadecenoic Acid Methyl Ester(Z)	C19H36O2	15.01	16.276
6	ألكان	5(Propznoybxy)Pentadecane	C18H34O2	15.8	1.299
7		6 Methyl,Octadecan	C19H40	16.4	0.699
8		Pentacosane	C25H	18.8	0.660
9		Octadecane,3 Ethyle-5-(2-Ethylbutyl)-	C26H54	19.2	1.149
10		Hexacosane	C26H54	19.5	3.213

حُددت الصيغة المنشورة ورُسم طيف الكتلة mass spectrum للمركبات المستخلصة عند الذكور حسب الشكل (3) باستخدام مكتبة NIST.

الصيغة المنشورة للمركب	طيف الكتلة للمركب
Dodecan,2,6,10, Trimethyl-	Dodecan,2,6,10, Trimethyl-

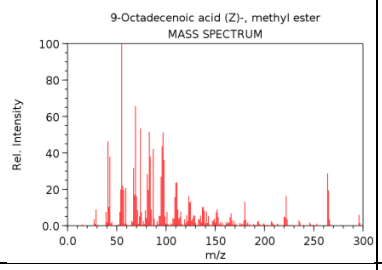
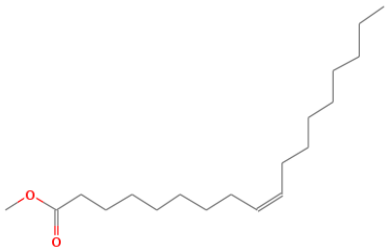
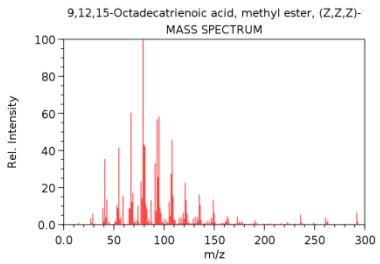
	
طيف الكتلة للمركب **n-Hexadecanoic acid**	**الصيغة المنشورة للمركب** **n-Hexadecanoic acid**
	
طيف الكتلة للمركب **9-12-octadecadienoic acid (z-z)**	**الصيغة المنشورة للمركب** **9-12-octadecadienoic acid (z-z)**
	
طيف الكتلة mass spectrum للمركب 11- **Octadecenoic acid, methyl ester**	**الصيغة المنشورة للمركب** **11-Octadecenoic acid, methyl ester**

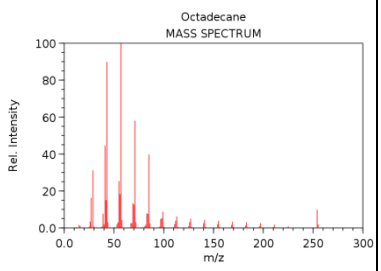
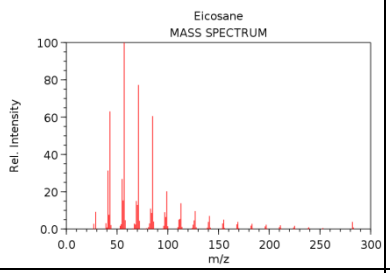
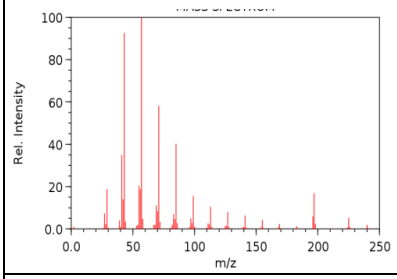
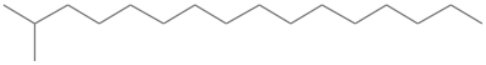
	
طيف الكتلة للمركب **Octadecane, 6-mythel-**	**الصيغة المنشورة للمركب** **Octadecane, 6-mythel-**
	
طيف الكتلة للمركب Pentacosane	**الصيغة المنشورة للمركب Pentacosane**
	
طيف الكتلة لمركبHexacosane	**الصيغة المنشورة للمركبHexacosane**
الشكل(3): يبين الصيغ المنشورة وطيف الكتلة لمركبات مستخلص جسم ذكور *C.dux*	

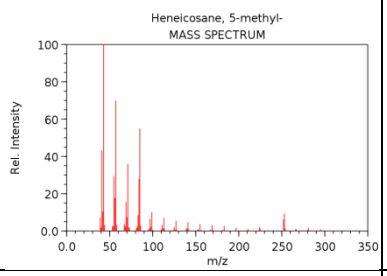
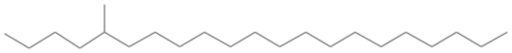
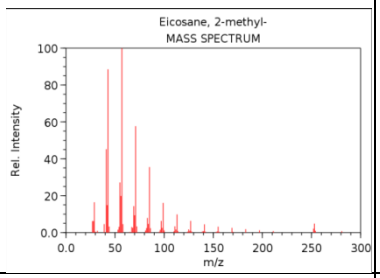
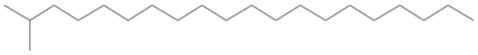
أما عند الإناث فكان لدينا ثمانية مركبات أساسية الجدول (2) وهي ستة مركبات من الألكانات، أربعة مركبات منها ميثيل ألكان (methylalkanes) وهذا يتوافق مع Fukaya عام (2003) الذي ذكر ميثيل ألكان كمركب فعال للفرمونات عند العديد من حشرات ال Cerambycidae مثل حشرة *Anoplophora malasiaca* ، ومركبين يتبعان للإسترات حيث توافقت مع العديد من الدراسات التي ذكرت بأن 9-Octadecenoic Acid فرمونات عند فراشة الطحين *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) (Mehranian وزملاؤه، 2017)، تراوحت النسبة المئوية للمركبات بين 4.3 عند 9,12,15-Octadecatrienoic Acid, Methyl Ester,(Z,Z,Z)، و20.18 عند -2. Methyl- Eicosane

الجدول (2): مركبات تحليل مستخلص جسم إناث *C.dux*

		المركب	الزمن/ثانية	النسبة المئوية %
1	أستر	Methyl E 9-Octadecenoic Acid (Z) -	20.84	17.48
2		9,12,15-Octadecatrienoic Acid, Methyl Ester,(Z,Z,Z)	21.36	4.3
3	ألكان	2- Methyl-Nonadeacne	22.76	5.32
4		Octadecane	23.25	13.59
5		Eicosane	26.49	10.64
6		2-Methyl-Hexadecane,	29.93	18.91
7		5-Methyl-Heneicosane,	35.13	9.54
8		2-Methyl-Eicosane	44.59	20.18

الكثافة 	
طيف الكتلة للمركب **Methyl E 9-Octadecenoic Acid (Z) -**	**الصيغة المنشورة للمركب** **Methyl E 9-Octadecenoic Acid (Z) -**
الكثافة 	
طيف الكتلة للمركب **Methyl E 9-12-15-Octadecatrienoic Acid (Z-Z-Z) -**	**الصيغة المنشورة للمركب** **Methyl E 9-12-15 Octadecatrienoic Acid (Z-Z-Z)-**

الكثافة 	
طيف الكتلة للمركبOctadecan	**الصيغة المنشورة للمركبOctadecan**
الكثافة 	
طيف الكتلة للمركبEicosane	**الصيغة المنشورة للمركبEicosane**
الكثافة 	
طيف الكتلة للمركب **Hexadecane, 2-Methyl**	**الصيغة المنشورة للمركب** **Hexadecane, 2-Methy**

الكثافة  	
طيف الكتلة mass spectrum للمركب **Heneicosane, 5-Mythyl-,**	**الصيغة المنشورة للمركب** **Heneicosane, 5-Mythyl-**
الكثافة  	
طيف الكتلةmass spectrum للمركب **Eicosane, 2-Methylللمركب**	**الصيغة المنشورة للمركب** **Eicosane, 2-Methyl-**

الشكل (4): الصيغة المنشورة وطيف الكتلة mass spectrum للمركبات المستخلصة عند الإناث

حُددت الصيغة المنشورة ورُسم طيف الكتلة mass spectrum للمركبات المستخلصة عند الإناث حسب الشكل (4) باستخدام مكتبة NIST .

مما سبق نستنتج وجود عشرة مركبات عند حشرة ذكور حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة *C.dux* ستة مركبات منها تنتمي إلى الألكانات، وأربعة مركبات تنتمي إلى الأسترات والنسبة المئوية لكل منها التي تراوحت بين 0.527 للمركب n-hexadecanoic acid و 52.204 للمركب (z-z) 9-12-octadecadienoic acid وهما

من المركبات الأستيرية، أما عن الألكانات فتراوحت النسبة بين 0.699 للمركب Methyl,Octadecan 6 و 3.2 للمركب Hexacosane. أما عند الإناث فكان لدينا ثمانية مركبات أساسية وهي ستة مركبات من الألكانات، أربعة مركبات منها ميثيل ألكان(methylalkanes)، ومركبين يتبعان للإسترات.

إن هذه النتائج جداً هامة من أجل تصنيع الفرمونات التي تعد أساسية في مجال المكافحة المتكاملة نظراً لأهميتها في تحديد موعد ظهور الحشرات الكاملة وبالتالي استخدام الطريقة المناسبة لمكافحة الحشرات الكاملة قبل أن تبدأ بالتزاوج ووضع البيض مما يوفر الكثير من الأموال التي تصرف على استخدام المبيدات ذات الأثر المتبقي الكبير الذي يؤثر على الإنسان والحيوان، وفي كثير من الأحيان تكون المبيدات غير مجدية لعدم تحديد موعد ظهور الحشرات الكاملة.

المراجع:

- **زغيب، إيهاب 2012** دراسة بيولوجية جزيئية لحشرة حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة وسط وجنوب سوريا. رسالة ماجستير، جامعة دمشق، 2012.

References:

- **Annie E. S & Matthew A. Paschen& Jocelyn G. Millar &Jardel A. Moreira & Paul B. Hamel & Nathan M. Schiff & Matthew D. Ginzel**. 2010. First Contact Pheromone Identified for a Longhorned Beetle (Coleoptera: Cerambycidae) in the Subfamily Prioninae, J ChemEcol 36:943–954.
- **Bense U**. 1995. Longhorn Beetles. Illustrated key to the Cerambycidae and Vesperidae of Europe. MargrafVerlag, Weikersheim: 512 pp.
- **Choate P.M**. 1999. Introduction to the identification of Beetles (coleoptera). http://entnemdept.ufl.edu/choate/ beetles1a.pdf.
- **Fukaya M. (2003).** Recent advances in sex pheromone studies on the white-spotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca*. JARQ 37: 83–88.
- F**ukaya M., T. Akino, T. Yasuda, S. Wakamura, S. Satoda and S. Senda** .2000. Hydrocarbon components in contact sex pheromone of the white-spotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca* (Thomson) (Coleoptera: Cerambycidae) and pheromonal activity of synthetic hydrocarbons.Entomol. Sci. 3: 211–218
- **Ginzel M. D., Blomquist G, J., Millar J. G., and Hanks L, M**. 2003 .Role Of Contact Pheromones In Mate Recognition In *Xylotrechuscolonus*. Journal of Chemical Ecology, Vol. 29, No. 3. 12:533-545.
- **Hanks L. M., millar, J. G**. 2016. Sex and Aggregation-Sex Pheromones of Cerambycid Beetles: Basic Science and Practical Applications, J Chem Ecol 42:631–654
- **Howard R. W**. 1993.Cuticularhydre carbons and chemical communication, In Stanley-SamuelsonD,. W. & Nelson, D. R, (eds .ln)s,ectLipid s(:hemistot Biechemistry &Biolqgy: 179-226.Universit of Nebraska Press ,Lineoln and London.
- **Lacey ES, Ginzel MD, Millar JG, Hanks LM**. 2004 Male-produced aggregation pheromone of the cerambycid beetle *Neoclytu sacuminatus*. J ChemEcol 30:1493–1507
- **Lockey K, H**. 1976 .Cuticula hrydrocarbons of Locusta. Sbhlstocerca , and Peripianetaa,ndtheiT role in waterproofing, Insect Biochentist r6y: ,457-472.

- **Lockey K, H. 1982**. Hydrocarbons of adult Physadesmiaglobasa (Haag and Stenocaragrucilipe s(Haag)(Coleoptera; Tenebrionidae) ,InsectBiechemistty 12: 331-342.
- **Mehranian M ,. Farshbaf, R,. Bashir, S., Alireza , M** . 2017. Isolation and identification of cuticular compounds from the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), their antibacterial activities and biological functions. Archives of Phytopathology and Plant Protection. Volume 50, Issue 1-2. 144: 793 – 803.
- **Millar JG, Hanks LM**. 2016. Chemical ecology of cerambycidae beetles. In: Wang Q (ed) Cerambycidae of the world: Biology and management. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton (in press)
- **Özdikmen H. and S. Hturgut.** 2009. On Turkish *Cerambyx* Linnaeus, 1758 with zoogeogrephical remarks (Coleoptera: Cerambycidae: Cerambycinae). Munis Entomology and Zoology 4 (2): pp:301-319.
- **Silk PJ, Sweeney J, Wu J, Price J, Gutowski JM, Kettela EG**. 2007 Evidence for a male-produced pheromone in *Tetropium fuscum* (F.) and *Tetropium cinnamopterum* (Kirby) (Coleoptera: Cerambycidae). Naturwissens chaften 94:697–701
- **Zhang A., J. E. Oliver, J. R. Aldrich, B. Wang and V. C. Mastro.**

  2002. Stimulatory beetle volatiles for the Asian longhorned beetle, Anoplophora glabripennis (Motschulaky).Z. Naturforsh. 57c: 553–558.