



Insecticidal activities and repellent effects of methylcinnamate and essential oils from *Alpinia galangal* against nymphs and adults of *Metcalfa pruinosa*

Bueyong Park¹ · Sang-Ku Lee¹ · In-Hong Jeong¹ · Se-Keun Park¹ · Sang-Bum Lee¹

양강근(*Alpinia galangal* Swartz) 정유와 양강근 유래 주요물질인 Methylcinnamate의 미국선녀벌레(*Metcalfa pruinosa* Say)에 대한 살충 및 기피 효과

박부용¹ · 이상구¹ · 정인홍¹ · 박세근¹ · 이상범¹

Received: 13 August 2018 / Accepted: 3 September 2018 / Published Online: 30 September 2018
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2018

Abstract *Metcalfa pruinosa* is a pest causing widespread problems to many crops in Korea. This pest infects fruit crops especially, persimmon and grapes. We tested the possibility of *M. pruinosa* management using essential oils of *Alpinia galangal* and methylcinnamate which were extracted from *A. galangal* by steam distillation method. The use of essential oil showed a mortality rate of 10.0 and 23.3% for adults and nymphs, respectively. While the use of methylcinnamate resulted to a mortality rate of 40.0% in adults and 36.6% in nymphs. For its repellent effect, it showed an avoidance rate of 50.0 and 63.3% for adult and nymph respectively. Considering these two results, the extract of *A. galangal* are shown to have some synergic effect for pest control. The result of this study showed a possibility of *M. pruinosa* control using essential oil and methylcinnamate from *A. galangal*.

Keywords *Alpinia galangal* · Insecticidal effect · *Metcalfa pruinosa* · Methylcinnamate · Repellent effect

서 론

국제교역의 증가 및 기후변화가 지속됨에 따라 농업생태계의 해충 밀도가 증가하고 있으며 미국선녀벌레(*Metcalfa pruinosa*), 갈색날개매미충(*Ricania shantungensis*), 꽃매미(*Lycorma delicatula*) 등 새로운 외래돌발 해충이 국내에 침입하였고 발생 및 피해 면적이 늘어나고 있는 상황이다[1]. 이중 미국선녀벌레는 2009년 국내에 처음 발생이 되었으며 경남 김해의 단감 과원에서 작물에 대한 피해도 같이 보고되었다[2]. 이는 분류학적으로 노린재목(Hemiptera) 선녀벌레과(Flatidae)에 속하는 해충으로 북아메리카가 원산지이다. 원산지인 미국에서는 50개과 102종에 이르는 식물이 기주로 알려져 있어 광범위한 기주범위를 나타낸다. 국내의 경우 62과 145종이 기주식물로 조사되어 미국보다 기주식물의 수가 많은 것으로 나타났다[3]. 미국선녀벌레는 연1세대 발생하며, 성충 암컷이 가을에 기주식물에 산란을 하고 기주식물에서 월동한 알이 이듬해 5월 중하순 경에 알에서 부화하여 5회의 탈피를 거쳐 성충이 된다[4]. 약충과 성충은 기주식물의 줄기를 흡즙하고 감로를 배설하여 그을음병을 유발한다. 특히 과수는 이로 인한 품질저하가 발생하는 등 피해가 발생하고 있다[5]. 따라서 효과적인 방제법이 필요한 상황인데 현재 이루어지고 있는 방제는 대부분 화학농약에 의존하고 있다. 이

Bueyong Park and Sang-Ku Lee are equally contributed to this paper as first authors.

Bueyong Park (✉)
E-mail: florigen1@korea.kr

¹Crop Protection Division, Department of Agri-Food Safety, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

는 아직 관행재배가 주를 이루고 있는 국내의 상황과 이를 대체할 수 있는 효과적인 방제방법이 많이 부족하기 때문이다[6]. 현재 미국선녀벌레에 대한 친환경 방제방법에 대한 연구로는 유일하게 계피, 시트로넬라, 페니로알 및 오레가노 등 시판중인 124종의 식물정유를 활용한 살충 스크리닝을 수행하여 12종의 정유를 선발한 연구가 있다[7]. 국외의 경우에도 식물 정유를 이용한 살충활성 관련 연구는 많으나 미국선녀벌레를 대상으로 한 연구는 아직 없는 실정이다. 따라서 친환경 농산물 생산농가에서는 화학농약의 사용이 제한되므로 화학농약을 적게 사용하거나 이를 대체할 수 있는 다양한 방제 매뉴얼 개발과 새로운 방제방법의 개발보급을 최우선 사항으로 요구하고 있다[8]. 관행 방제방법을 대체할 수 있는 수단 중 하나로 식물추출물을 활용한 방제 방법을 들 수 있다[9,10]. 식물추출물은 직접적으로 해충을 사멸시키는 살충작용과 해충이 접근하지 않는 기피 효과도 우수하여 이점을 활용한 새로운 방제제로서 연구 개발이 이루어졌다[9]. 또한 식물추출물의 여러 성분에 함유된 활성 물질의 종류가 다양하여, 농약에 저항성이 생겨 방제가 잘 되지 않는 해충에도 우수한 방제효과를 나타낸다[10,11]. 따라서 식물추출물이 농약의 대체 또는 보완적인 방제제로서 가능성이 있다고 판단되며 국외에서도 다양한 식물정유를 이용한 방제제에 대한 연구는 과거부터 지속적으로 수행되었다[12].

양강(*Alpinia galangal*)는 생강목(Zingiberales), 생강과(Zingiberaceae), 꽃양하속(*Alpinia*)에 속하는 식물로서, 양강이라 불리는 4종류의 식물 중 하나이며 일반적으로 Greater galangal이라 불린다. 양강은 소화불량, 복통 등에 효능이 있어 약용으로 이용되었지만 생강과 같은 식용으로도 이용되었다[13].

본 연구에서는 양강근 추출물과 그 주성분인 Methylcinnamate를 이용한 제형화 제제를 미국선녀벌레에 적용하여 살충 및 기피 효과를 살펴본다 미국선녀벌레에 대한 양강근 추출물의 살충 활성을 검토하였다.

재료 및 방법

시료제조

양강근의 정유성분은 전북대 생물환경화학과 응용식물생화학실험회선 교수팀에서 분양받았으며 이는 전주 한약재시장에서 구입한 양강근을 수증기증류(Steam distillation)법으로 추출된 것이다. 길초근의 수증기 증류 추출물은 전남생물산업진흥원에서 오일추출기(Essential oil extractor)를 사용하였으며, 마쇄한 양강근 뿌리를 추출조에 넣고 물을 가열하여 100 °C의 수증기를 4시간 동안 공급하였으며 양강근 정유성분은 냉각기를 거쳐 액화되면서 나누어진 물질 중 정유성분으로 구성된 것만을 분리하여 추출하였다.

조성 및 함량분석

양강근의 수증기 증류 추출법에 따른 정유성분의 조성 및 함량을 확인하기 위해 GC-Mass를 이용하여 성분 조성 및 함량을 분석하였다. 양강근 정유 20 µL를 chloroform 1 mL에 녹여서 GC-Mass에 주입하였고, 검색된 성분은 library, retention time (min)과 retention index와 비교하여 성분을 확인하였다.

제형화

수증기 증류법으로 추출한 양강 추출물 원액을 경북대학교 환경생물화학과의 협조로 유화제(Tergitol) 및 에탄올과 혼합하여 제형화하였고, 제형비는 정유:유화제:에탄올(5:1:4)의 비율이다. 양강근의 주요 성분인 Methyl cinnamate는 Sigma-aldrich (96410)사에서 구입한 것을 동일비율로 제형화하여 사용하였다.

시험해충

미국선녀벌레 약충은 5월에서 6월 초까지, 성충은 7월 중순부터 8월까지 전북 익산 여산면, 경남 함양 함양읍 일원의 아카시나무 등에서 채집하여 사용하였다. 채집한 시험해충은 국립농업과학원 작물보호과 해충사육실로 가져와 아크릴 사육케이지(W45×L45×H45 cm)에 넣어(24±1 °C, 60±5%, 16L:8D) 블루베리를 기주로 접종하여 일주일 이상 안정화시킨 후 실험에 사용하였다.

생물활성 검증

미국선녀벌레의 생물검정은 분무법(Spray method)을 통해 살충 및 기피활성을 검증하였다. Insect acrylic cage (W5×L5×H10 cm)에 잎이 있는 블루베리 가지로 시들지 않도록 오아시스에 꽃아 양쪽에 배치한 후 미국선녀벌레 약충 및 성충 10개체를 접종하였다. 3일간 안정화 기간을 거친 후 제형화 시료를 각각 100배, 250배의 농도로 희석하여 조제하여 hand-held sprayer (30×H70 mm)에 담아 약 20 cm거리를 두고 분무하였다. 기피 효과 검정을 위해서 블루베리 가지를 2개중 하나는 조제한 시료에 10초간 침지한 후 30분간 음건하여 표면에 물기를 말린 후 오아시스에 꽃아 케이지 안에 배치하고 다른 블루베리 가지는 처리 없이 배치하였다. 그 후 페트리디시에 시험곤충을 각각 10개체씩 넣어 두개의 가지 사이에 두었다. 음성대조군으로는 증류수(distilled water)를 사용하였다. 처리된 insect acrylic cage는 온도 24±1 °C, 상대습도 60±5%, 광주기 16L:8D의 조건의 향온향습실에 두고 24시간 및 48시간 후 살충 및 기피 효과를 검증하였다. 생물검정은 3반복으로 실시하였으며, 실험용 붓으로 미국선녀벌레 약충 및 성충을 자극하였을 때 움직임이 없는 개체는 사망한 것으로 처리하였다. 기피 활성은 처리 및 무처리 가지에 각각 이동한 개체수를 조사하여 기피효과를 판단하였다.

통계분석

실험에서 도출된 결과는 통계패키지(SPSS 12.0) 프로그램을 이용하여 평균 ± 표준편차로 표기하였고 실험군 간 유의성 비교를 위해 독립표본 T-test를 실시하였다($p > .05$).

결과 및 고찰

양강근의 수증기증류추출법으로 얻어낸 정유물질의 주요성분 함량은 Methylcinnamate가 87.67%로 가장 높았으며, 다음으로 8-methylquinoline (9.99%), 1,8-cineole (0.67%), α -pinene (0.36%) 순이었으며 총 11종 이상이 검출되었다(Table 1). 이러한 추출물질의 주요성분은 phenylpropanoid (87.67%), quinolones (9.99%)

Table 1 Major compound of *Alpinia galangal* essential oils by steam distillation

NO	Compounds	RI ^a	RT ^b	Relative amount (%)
1	α-Pinene	948	5.009	0.36
2	Camphene	943	5.299	0.03
3	Benzaldehyde	982	5.463	0.05
4	β-Pinene	943	5.812	0.36
5	o-Cymene	1042	6.665	0.27
6	Limonene	1033	6.752	0.10
7	1,8-Cineole	1059	6.813	0.67
8	(-)-Camphor	1121	8.930	0.19
9	Terpinen 4-ol	1179	9.681	0.08
10	8-Methylquinoline	1338	11.810	9.99
11	Methyl cinnamate	1469	12.843	87.67
Major Grouped Compounds				
Aldehydes				0.05
Monoterpene alcohols				0.08
Monoterpene ethers				0.67
Monoterpene hydrocarbons				1.09
Monoterpene ketones				0.22
Phenylpropanoid				87.67
Quionlines				9.99
Total (%)				99.77
Yield (%)				0.26

^aRI: The retention indices were determined on DB-5 column

^bRT: Retention times (min)

계열로 확인이 되었다(Fig. 1). 양강근 정유와 그 주요성분 중 하나인 methylcinnamate를 이용한 제형화 시료 2종을 각각 250 배, 100배로 조제한 후 미국선녀벌레에 대한 살충 및 기피 활성을 검정하였다. 미국선녀벌레 약충과 성충에 대하여 분무법으로 양강근 정유와 methylcinnamate의 제형화 유제를 살포한 후 24시간과 48시간 뒤 살충 및 기피 활성을 검정하였다(Table 2, 3). 양강근 정유 유제의 미국선녀벌레 약충에 대한 실험에서는

살포 후 24시간 뒤 250배에서는 10.0%, 100배에서는 23.3%의 살충 활성을 보였고, 각각 36.6%와 53.3%의 기피 효과를 나타냈다. Methylcinnamate유제의 경우 250배에서 살포 24시간 후 20.0%의 살충률을 나타냈고 43.4%의 기피효과를 보였다. 100 배에서는 살포 24시간 뒤 36.6%의 살충 효과, 63.3%의 기피 효과를 나타냈다. 미국선녀벌레 성충에 대한 양강근 정유 유제 실험에서는 처리 후 24시간 뒤에 250배와 100배에서 각각 6.7, 10.0%의 살충 활성을 나타냈으며 각각 36.6, 43.4%의 기피 효과를 보였다. Methylcinnamate유제를 처리하였을 때 살포 24시간 뒤 250, 100배에서 각각 16.7, 40.0%의 살충 효과와 36.6, 50.0%의 기피 효과를 나타내었다. 두 시료 모두 24시간과 48시간의 차이는 거의 없었는데 이는 양강근 정유 역시 속효성, 비이행성의 특징을 지녀 효과의 지속력이 길지 않다는 식물정유의 일반적인 특성에 해당되는 것이라 판단된다[14]. 살충 및 기피활성을 동시에 실험한 결과(Table 4.), 살충 및 기피효과가 동시에 나타났으며 이를 소거율(살충+기피)로 표현하였다. Methylcinnamate 100배에서 미국선녀벌레 약충의 소거율이 80% 수준이었고 성충의 경우 76.7%의 소거율을 나타냈다. 이는 살충 활성과 기피 효과가 상호 상승효과를 준 결과라 판단된다. 다만 살충활성과 기피효과를 다룬 선행연구에서 식물추출물의 해충에 대한 살충 활성과 기피 효과간 관계는 불규칙하여 상관관계가 성립하지 않을 수 있다고 보고된 바[15], 양강근 추출물의 미국선녀벌레에 대한 살충 활성과 기피 효과간의 관계도 동일한 양상을 보이는 것으로 판단된다.

이와 관련하여 미국선녀벌레를 대상으로 한 식물정유 살충 스크리닝 실험에서는 cinnamon technical oil의 살충 활성이 가장 높은 것으로 나타났다[7]. 다만 기피 정유성분을 대상으로 생태독성 평가를 실시한 실험에서 잉어의 급성독성(LD₅₀)이 9.42 mgL⁻¹로 나타난 사례가 있다[16]. 따라서 이 경우는 향후 제형화 시판단계 전 수서환경에 미치는 영향을 고려할 필요가 있다고 여겨진다. 미국선녀벌레와 더불어 농작물에 큰 피해를 주는 외래해충으로 갈색날개매미충이 있는데 이 해충 역시 노린재목에 속하는 해충으로서 미국선녀벌레와 형태, 생태, 피해양상 등 유사한 점이 많다[1]. 이에 대한 선행연구 역시 많이 이루어지

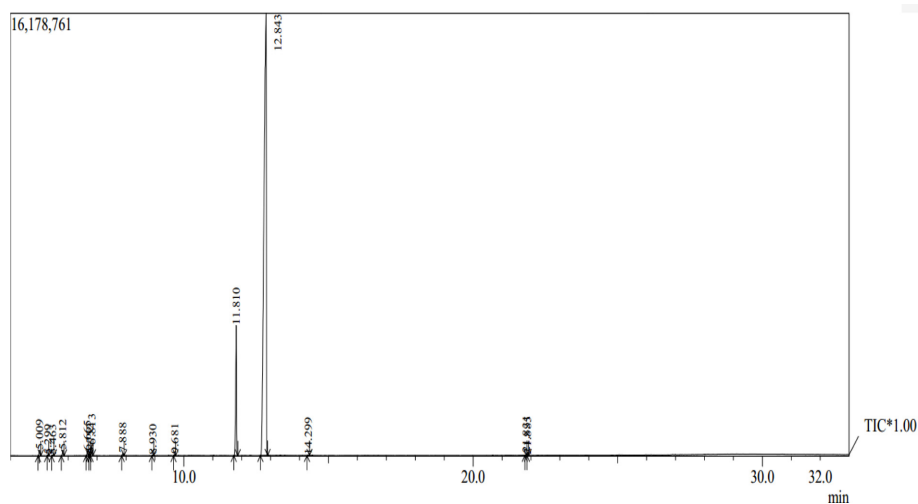


Fig. 1 Chromatogram of *Alpinia galangal* essential oils by steam distillation

Table 2 Insecticidal activities of Methylcinnamate and oils extracted from *Alpina galangal* against *Metcalfa pruinosa*

Formulations	Dilution rate	Active ingredient (ppm)	Mortality (mean ± SE, %)			
			Nymph		Adult	
			24 h	48 h	24 h	48 h
Essential oil of <i>Alpina galangal</i>	100	5,000	23.3±0.6	30.0±0.0	10.0±1.0	13.3±0.6
	250	2,000	10.0±1.0	10.0±1.0	6.7±0.6	6.7±0.6
Methylcinnamate	100	5,000	36.6±0.6	40.0±0.0	40.0±1.0	40.0±1.0
	250	2,000	20.0±1.0	20.0±1.0	16.7±0.6	16.7±0.6
Distilled Water	-	-	16.7±1.2	16.7±1.2	6.7±0.6	6.7±0.6
Control	-	-	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	3.3±0.6

There is no statistically significant difference between Essential oil and methylcinnamate mean ($p > .05$)

Table 3 Repellent effects of Methylcinnamate and oils extracted from *Alpina galangal* against *Metcalfa pruinosa*

Formulations	Dilution rate	Active ingredient (ppm)	Avoidance (mean ± SE, %)			
			Nymph		Adult	
			24 h	48 h	24 h	48 h
Essential oil of <i>Alpina galangal</i>	100	5,000	53.3±1.5	56.6±1.2	43.4±0.6	50.0±0.0
	250	2,000	36.6±0.6	36.6±0.6	36.6±1.2	36.6±1.2
Methylcinnamate	100	5,000	63.3±0.6	63.3±0.6	50.0±1.0	50.0±1.0
	250	2,000	43.4±1.2	43.4±1.2	36.6±0.6	40.0±0.0
Distilled Water	-	-	3.3±0.6	3.3±0.6	3.3±0.6	3.3±0.6
Control	-	-	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

There is no statistically significant difference between Essential oil and methylcinnamate mean ($p > .05$)

Table 4 Synergy effects of methylcinnamate and oils extracted from *Alpina galangal* against *Metcalfa pruinosa*

Formulations	Dilution rate	Active ingredient (ppm)	Insecticidal and Avoidance (mean ± SE, %)			
			Nymph		Adult	
			24 h	48 h	24 h	48 h
Essential oil of <i>Alpina galangal</i>	100	5,000	56.6±11.5	56.6±11.5	60.0±10.0	60.0±10.0
	250	2,000	40.0±10.0	40.0±10.0	36.6±5.8	36.6±5.8
Methylcinnamate	100	5,000	80.0±0.0	80.0±0.0	76.7±5.8	76.7±5.8
	250	2,000	53.3±5.8	56.7±5.8	46.7±5.8	50.0±10.0
Distilled Water	-	-	3.3±0.6	3.3±0.6	3.3±0.6	6.7±0.6
Control	-	-	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

There is no statistically significant difference between Essential oil and methylcinnamate mean ($p > .05$)

지 않았으나 미국선녀벌레에 비하여는 활발하게 이루어진 상황이며, 정향, 쑥, 딜, 길초근 등 다양한 식물정유를 이용하여 살충효과를 검증하였다[17-19].

미국선녀벌레는 발생 범위와 피해면적이 증가되고 있는 중요한 해충으로서 다양한 방제법을 구명하기 위해 지속적인 연구가 필요한 상황이다. 특히 2019년 시행되는 농약허용물질목록 관리제도(Positive List System; PLS)에 따라 해당 작물별로 등록되지 않은 농약은 사용이 전면 금지된다[19]. 이로 인하여 동일 해충에 대해서도 작물별 등록 여부에 따라 방제제로 사용할 수 없는 문제점이 생길 수 있을 것으로 판단된다. 향후 작물별 등록 약제는 점차 늘어날것지만 일시적으로 공백기가 있을 것으로 생각되며 위 제도의 취지가 농산물 안전성을 확보함이 주

목적인 것을 감안하면 이후에도 천연물을 이용한 방제제의 개발은 지속될 것으로 판단되며 국제적으로도 천연물질을 이용한 방제제 개발을 위한 연구는 지속적으로 이루어질 것으로 예상된다[20]. 따라서 양강근 외에도 미국선녀벌레에 대한 추가적인 살충활성 물질이 탐색될 가능성이 있으며 이로 인한 다양한 친환경 방제제의 개발이 활성화될 것이라 판단된다.

초 록

농작물 문제 해충인 미국선녀벌레에 대하여 수증기 증류법에 의하여 추출된 양강근 정유성분 및 양강근 주요성분인

Methylcinnamate를 가지고 제형화한 유제를 이용하여 미국선녀벌레에 대한 살충 활성 및 기피 활성 검정을 통해 방제 가능성을 검토하였다. 양강근의 수증기증류추출정유와 Methylcinnamate 제형화 유제의 살충 및 기피 활성 실험 결과, 살충 활성 자체는 매우 높다고 볼 순 없으나 기피 효과와의 상승효과를 기대할 수 있었다. 특히 Methylcinnamate유제 100배가 살충 및 기피 효과의 결합으로 인한 방제 효율이 높다고 여겨진다. 이러한 연구결과는 차후 양강근 유래 Methylcinnamate는 미국선녀벌레에 대한 방제에 적용할 수 있는 바이오 소재로서 적용 가능성이 있을 것으로 판단된다.

Keywords 기피효과 · 미국선녀벌레 · 살충효과 · 양강근 · Methylcinnamate

감사의 글 본 연구과제는 농촌진흥청 공동연구사업(PJ01198301)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. RDA (2016) Pests Report. Internal Resources, Jeonju
2. Lee H, Wilson SW (2010) First report of the Nearctic flatid planthopper *Metcalfa pruinosa* (Say) in the Republic of Korea (Hemiptera: Fulgoroidea). Entomological News 121: 506–513
3. Kim DE, Kil J (2014) Occurrence and host plant of *Metcalfa pruinosa* (Say) (Hemiptera: Flatidae) in Korea. J Environ Biol 23(8): 1385–1394
4. Wikipedia Internet access (at <http://en.m.wikipedia.org>, Citrus flatid planthopper, *Metcalfa pruinosa* (Say) (Insecta: Hemiptera: Flatidae) Behavior and ecological impart
5. Strauss G (2010) Pest risk analysis of *Metcalfa pruinosa* in Austria. J Pest Sci 83(4): 381–390
6. Ahn KS, Lee KS, Lee KH, Song MK, Lim SC, Kim GH (2011) Susceptibility of North American planthopper, *Metcalfa pruinosa* to commercially registered insecticides in Korea. Korean J Pestic Sci 15(3): 329–334
7. Kim JR, Ji CW, Seo BY, Park CG, Lee KS, Lee SG (2013) Toxicity of Plant Essential oils and Their Spray Formulations against the Citrus Flatid Planthopper *Metcalfa pruinosa* Say (Hemiptera: Flatidae). Korean J Pestic Sci 17(4): 419–427
8. Park B, Lee SB, Lee SG, Park SK, Jeong IH, Jun IS (2016) A case study on improvement of Pest control research in Rural Development Institutions and its implications. Korean J Organic Agric 24(4): 609–625
9. Schmutter H (1980) Natural pesticides from the neem tree. Proc 1st Int Neem Conference. pp. 33–259
10. Wink M (1993) Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. pp. 171–213. In Phytochemistry and Agriculture. vol. 34. Clarendon, Oxford, UK
11. Lindquist BK, Adams AJ, Hall FR, Adams IHH (1990) Laboratory and greenhouse valuations of Margosan-O against bifenthrin-resistant and susceptible greenhouse whiteflies, *Trialetrodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodie). U.S. Dept. Agric., Neem Workshop, USDA-ARS 86, Beltsville, MD. pp. 91–99
12. Isman MB (2000) Plant essential oils for pest and disease management Crop Prot 19: 603–608
13. Wikipedia Internet access (at <http://en.m.wikipedia.org>) Differentiation and uses
14. Bainard LD, Isman MB (2006) Phytotoxicity of clove oil and its primary constituent eugenol and role of leaf epicuticular wax in the susceptibility to these essential oils. Weed Sci 54(5): 833–837
15. Kim YK, Lee JJ, Choi MY (2008) Isecticidal Activities and Repellent Effects of Plant Extracts against the Brown Planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal). Korean J Appl Entomol 47(1): 65–74
16. Nam TH, Jeon HJ, Kim K, Kim HM, Kim YC, Lee SE (2018) Ecotoxicities of emulsifiable concentrate and granules of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil against *Cyprinus carpio* and *Danio rerio*. J Appl Biol Chem 61(2): 151–155
17. Jeon YJ, Choi BR, Lee HS (2016) Insecticidal toxicities of essential oils extracted seven against *Ricania* sp. Nymphs and adults. J Appl Biol Chem 59(3): 243–245
18. Lee HW, Lee SG, Lee HS (2016) Active component isolated from *Eugenia caryophyllata* leaves and its structural analogues show insecticidal properties against *Pochazia shantungensis*. J Appl Biol Chem 59(1): 1–6
19. Lee SK, Jeon SW, Jeong IH, Park SK, Lee SB, Lee HS, Park B (2018) Insecticidal activity of *Valeriana fauriei* oils extracted by three different methods against *Ricania shantungensis*. J Appl Biol Chem 61(1) 47–50
20. Saxena RC (1989) Insecticides from neem. In: Insecticides of Plant Origin. ACS Symp. Ser. No. 387. Am Chem Soc Washington, D. C. pp. 110–135