

박하유의 갈색날개매미충(*Pochazia shantungensis*)에 대한 기피효과

류태희 · 권혜리 · 유용만 · 윤영남*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물학과

Repellent Effects of Peppermint Oil Against *Pochazia shantungensis* (Hemiptera: Ricaniidae)

Tae Hee Ryu, Hye Ri Kwon, Yong Man Yu and Young Nam Youn*

Department of Agricultural Biology, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

ABSTRACT: In order to identify a new control measure for a sporadic insect pest, *Pochazia shantungensis*, 23 types of essential oils were screened for their repellent effects, with an olfactory test using a Y-tube olfactometer. Results indicated that 21 essential oils, except lemongrass oil and peppermint oil, did not show repellent activity against *P. shantungensis*. The repellent effect of peppermint oil was over 80%. When 0.1, 0.5, and 1 μ l of peppermint oil were used, the rate of repelling of *P. shantungensis* gradually increased, and was as high as 76.5% when 10 μ l was used. The main components of peppermint oil were 1,8-cineole, iso-menthyl acetate, menthone, and menthol, at 4.7, 8.0, 23.8 and 53.7%, respectively. When the three main components were mixed using a Y-tube olfactometer, a strong repellent effect (76.2%) was observed when 5 μ l was used. Peppermint oil showed a repellent and ovipositional repellent effect against *P. shantungensis* in the field. However, this activity persists only for a short period, and high concentrations can lead to phytotoxicity. Therefore, it is necessary to develop ideal formulations.

Key words: *Pochazia shantungensis*, essential oil, peppermint oil, repellent effect

초록: 갈색날개매미충의 방제전략을 확대하기 위하여 박하유에 대한 기피 효과를 살펴보고자 하였다. 23종의 방향유를 Y-tube olfactometer를 이용하여 후각 검정을 실시한 결과, 박하유(peppermint oil)와 lemongrass oil을 제외한 21종의 방향유는 갈색날개매미충에 대하여 기피반응이 나타나지 않았다. 단지 박하유만이 80% 이상의 기피효과가 관찰되었다. 박하유의 처리량에 따른 기피반응을 조사한 결과, 갈색날개매미충은 0.1, 0.5, 1 μ l 처리시 기피율이 점차 높아졌으며, 10 μ l(76.47%) 처리량에서 높은 기피효과를 보였다. 박하유에는 1,8-cineole(4.7%), menthone(23.9%), iso-menthyl acetate(8.0%), menthol(53.7%) 등이 함유되어 있었다. 이들의 주요 성분함량을 혼합하여 Y-tube olfactometer를 이용하여 후각 검정한 결과, 5 μ l 처리시 76.2%의 높은 기피율을 보였다. 박하유는 야외에서 갈색날개매미충의 기피 및 산란 기피효과를 보였으나 단시간에만 활성이 강한 점과 약해의 가능성을 보아 제형 개발의 필요성이 대두된다.

검색어: 갈색날개매미충, 방향유, 박하유, 기피효과

갈색날개매미충(*Pochazia shantungensis*)은 우리나라에서 2010년 5월 충남 공주와 예산 일대의 사과와 블루베리과원에 피해를 주는 것으로 처음 알려졌다. 발견 당시 외국에서 유입된 외래종으로 보고되기도 하였으나 미확인 토착종으로 알려져 있었다(Choi et al., 2011; Jo, 2013). 그 후 매미목 큰날개매미충

과의 갈색날개매미충은 확실한 분류동정이 이루어지지 않아 *Pochazia* sp.와 *Ricania* sp.로 명명되다가 현재는 *Pochazia shantungensis*로 의견이 모아지고 있다(Rahman et al., 2012). 갈색날개매미충의 기주 식물로는 충남 공주와 예산지역에서 사과, 블루베리, 자두, 대추, 아카시아, 복분자, 밤, 옥, 포도, 복숭아, 두릅, 엄나무, 오미자, 키위 등에서 관찰되었으며(Choi et al., 2011), 전남 구례지역에서는 산수유, 감, 밤, 매실 등의 농작물에서 피해가 발생하였다(Choi et al., 2012). 갈색날개매미충은 2010년 4개의 시 군에서 처음 발생한 이후 2011년 12개 시

*Corresponding author: youngnam@cnu.ac.kr

Received April 1 2016; Revised May 16 2016

Accepted June 16 2016

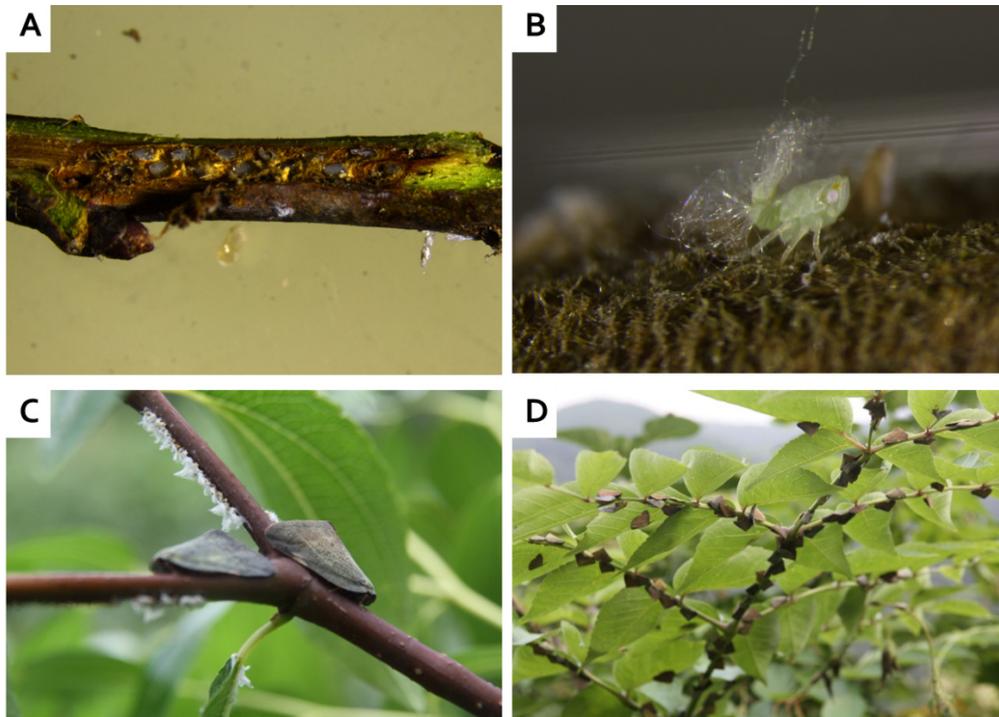


Fig. 1. Photography of *Pochazia shantungensis*. A: Egg in branches, B: Nymph, C: Damage by spawning *P. shantungensis*, D: Damage by adults.

군, 2012년 17개 시군 등 해마다 발생지역이 확대되고 있으며, 2013년 조사 결과 갈색날개매미충은 5개도 23개 시 군으로 발생지역이 3년 사이 5배 이상 증가하였다. 전국 평균 발생 필지율은 26.6%로 특히 전남(90.9%), 충남(48.3%), 전북(26.7%) 지역에서 발생밀도가 높게 나타났으며(RDA, 2013), 전국 발생면적이 2013년 718.5 ha에서 2014년 4,694 ha로 약 6.5배 증가하며 해마다 상승할 것으로 판단된다(RDA, 2014).

현재까지 알려진 기주로는 목본류 32종, 초본류 19종을 포함한 51종으로 기주 범위가 매우 넓은 해충임을 알 수 있다. Fig. 1에서 볼 수 있는 갈색날개매미충은 흡즙형 곤충으로 섭식에 의한 감로배설로 그을음병을 유발하여 수세가 약화되어 품질을 떨어뜨리며, 이듬해 동해의 원인이 되기도 하지만 주로 목질화가 덜된 1년생 가지에 톱니모양의 산란기로 조피를 파내고 그 안에 2줄로 나란히 산란한다. 이로 인해 체관부와 목질부에 직접적으로 가해하여 유실수의 경우 결실수가 고사하여 더 이상의 번식과 수확을 하지 못하는 피해를 일으키고 있다(Choi et al., 2011, 2012; Kang et al., 2013; Jo, 2013). 갈색날개매미충은 일년에 한 세대만이 발생하며, 월동 알에서 5월 하순부터 부화하여 8월 중순까지 5회 탈피하며 7월 중순 약충의 개체밀도 최성기를 보인다(Jo, 2013). 7월 하순부터 성충으로 우화하여 곧바로 교미하지 않고 약 3~4주의 교미기간을 거쳐 8월 중순부

터 산란을 하며 8월 하순 성충의 발생량이 최성기를 보인다. 이후 11월초까지 산란을 한 뒤 기온이 떨어지면서 수명을 다한다(Choi et al., 2012).

현재까지 갈색날개매미충의 국내연구로는 기주 범위 및 산란 특성(Choi et al., 2011), 생태적 특성 및 친환경농자재 약효 시험(Choi et al., 2012; Jo, 2013)과 온도발육실험(Kang et al., 2013) 등의 일부 연구가 진행되었고, 화학살충제도 등록되기 시작하여 방제가 이루어지고 있으나 방제에 어려움을 겪고 있다. 그 이유로는 첫째, 산란 후 난괴 위에 밀납을 덮는 습성은 부화율을 높이고 이미 산란된 가지에는 약제 침투가 어려우며, 조경수 유도 등의 유통을 통해 전국으로 확산되고 있다. 또한 약충의 도약지 및 성충의 날개를 이용하여 이동성이 뛰어나 약제 처리 시 살포가 적절히 이루어지지 않는다. 둘째, 기주 범위가 매우 넓으며, 산림속에서 주로 서식하다 농경지로 유입되기 때문에 국부적인 약제처리만으로 방제가 어려워, 2014년 6월 충남 공주시 신평면 선학리 일원에 항공방제가 실시되기도 하였다. 하지만 항공방제는 비용적인 측면과 친환경 유기농재배 농가 및 꿀벌 등을 사육하는 농가에 제한적이다. 셋째, 갈색날개매미충의 가장 큰 문제는 산란에 의한 피해로 암컷 성충이 산란하는 시기인 8월 중순부터는 농작물 및 과수의 수확시기와 맞물려 화학방제가 제한된다는 점이다. 따라서 갈색날개매미충

에 의한 피해를 최소화하기 위해서는 월동 후 난괴들의 정확한 부화 시기 예측을 통한 방제 적기 결정이나 산란된 난괴의 물리적 제거뿐만 아니라 산란기에 집중적으로 농가에 유입되는 암컷 성충들을 기피 및 유인하여 산란 피해를 줄이는 방법이 최적일 것이라 판단된다.

한편, 유기합성 살충제에 비하여 방향유는 식물의 2차 대사산물로 이루어진 휘발성을 갖는 유기화합물로 주로 hydrocarbons 과 oxygenated compounds으로 구성되어 있으며 식물에 향기의 역할을 갖는다(Guenther, 1972; Hadis et al., 2003; Nerio et al., 2010). 방향유는 인간과 가축에 안전하다고 알려져 있으며 (Arnason et al., 1989), 다양한 생물활성물질을 함유하여(Wink, 1993), 저항성이 발달된 해충에게 높은 살충효과를 나타내기도 하고(Lindquist et al., 1990), 혼중독성, 급성독성, 산란저해, 성장조절, 기피, 유인, 섭식저해, 등으로 이용되기도 한다(Bakkali et al., 2008; Gonzalez et al., 2006; Hummelbrunner and Isman, 2001; Isman, 2006; Malik and Naqvi, 1984; Sahaf et al., 2008).

본 연구는 현재 국내에 발생한 돌발해충인 갈색날개매미충의 과수 및 농작물로 유입을 최소한으로 억제하여 피해를 줄이는 목적을 위해 식물로부터 유래하는 기피물질을 탐색하고자 하였으며, 나아가 이러한 연구가 해충방제 전략 수립에 기초자

료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

갈색날개매미충의 채집 및 사육

실험에 사용한 갈색날개매미충은 충청남도 공주시 사과원 및 배과원, 오미자원, 블루베리과원, 밤나무원 등과 충남 청양군, 전북 완주군, 구례군 등의 지역에서 포충망을 이용하여 채집한 성충을 사용하였다. 채집한 성충은 아크릴케이지(400×400×550 mm)에 넣어 온도 25 ± 1°C, 상대습도 60~70%, 광주기 16L:8D의 사육조건 아래 파종 후 2~4주 된 오이(백봉다다기, (주)농우바이오), 고추(금빛, (주)신젠타종묘) 및 1년생 블루베리(코빌, 예향식물원)등의 식물과 20%의 설탕용액을 넣어 유지하였다.

방향유 및 시약

본 실험에 사용 된 방향유는 Table 1과 같다. Lemongrass, Majoram은 Charabot (France), Basil sweet, Bergamot, Clary

Table 1. List of 23 essential oils used in this study

Plant-derived natural products	Korean name	Source Plant	Family	Source
Basil sweet	나룩꽃	<i>Ocimum basilicum</i>	Labiata	Aromaland (USA)
Bergamot		<i>Citrus bergamia</i>	Rutaceae	Aromaland (USA)
Black pepper	후추	<i>Piper nigrum</i>	Piperaceae	JinArome (USA)
Cajeput tree		<i>Melaleuca leucadendra</i>	Myrtaceae	La drome (France)
Caraway seed		<i>Carum carvi</i>	Umbelliferae	JinArome (USA)
Cedarwood	삼나무	<i>Cedrus atlantica</i>	Pinaceae	La drome (France)
Cinnamon bark	계수나무	<i>Cinnamomum cassia</i>	Lauraceae	JinArome (USA)
Citronella		<i>Cymbopogon nardus</i>	Gramineae	JinArome (USA)
Clary sage		<i>Salvia sclarea</i>	Labiatae	Aromaland (USA)
Eucalyptus	유칼리나무	<i>Eucalyptus globulus</i>	Myrtaceae	JinArome (USA)
Geranium	양아욱	<i>Pelargonium roseum asperum</i>	Geraniaceae	La drome (France)
Ginger	생강	<i>Zingiber officinalis</i>	Zingiberaceae	La drome (France)
Lavender		<i>Lavendula offisinalis</i>	Labiatae	JinArome (USA)
Lemongrass	레몬	<i>Cymbopogon citatus</i>	Gramineae	Charabot (France)
Majoram		<i>Origanum vulgare</i>	Labiatae	Charabot (France)
Orange califonia	오렌지	<i>Citrus sinensis</i>	Rutaceae	Aromaland (USA)
Peppermint		<i>Mentha piperita</i>	Labiatae	JinArome (USA)
Pine needle	솔잎	<i>Pinus sylvestris</i>	Pinaceae	Aromaland (USA)
Rosemary		<i>Rosmarinus officinalis</i>	Labiatae	JinArome (USA)
Sandalwood	백단향	<i>Santalum spicatum</i>	Santalaceae	La drome (France)
Spearmint		<i>Mentha spicata</i>	Lamiaceae	JinArome (USA)
Tea tree		<i>Melaleuca alternifolia</i>	Myrtaceae	JinArome (USA)
Thyme white	백리향	<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	La drome (France)

sage, Orange califonia, Pine needle은 Aromaland (USA), Black pepper, Caraway seed, Cinnamon bark, Citronella, Eucalyptus, Lavender, Peppermint, Rosemary, Spearmint, Tea tree는 JinArome (USA), Cajeput tree, Cedarwood, Geranium, Ginger, Sandalwood, Thyme white는 La drome (France)의 제품을 구입하여 사용하였다. Monoterpene인 menthol (98%)와 menthon (98%)는 Alfa Aesar의 제품을, 1,8-cineole은 Aldrich의 제품을 구입하여 사용하였다.

Y-tube olfactometer를 이용한 선호성

방향유에 대한 갈색날개매미충의 후각검정에 사용한 Y-tube olfactometer의 모식도는 Fig. 2와 같다. 공기압축기(air compressor, F.LLI GHIOTTO, Italy)를 이용하여 공기를 압축, 저장시킨 후 일정한 압력이 유지 되도록 밸브를 열어주었다. 그 다음 공기압

축기를 통해 나온 공기는 기포장치(bubbler)와 탄소여과기(carbon filter, (주)청운C&C)를 거쳐 최대한 깨끗한 공기가 흐르도록 고안하였으며, 공기유량계(airflow meter)를 이용하여 일정한 유속(100 ml/m)의 공기를 각 냄새원에 흐르도록 하였다. 23종류의 방향유와 3종류의 monoterpene 화합물은 10 mm×10 mm filter paper (Advantec No. 1, 90 mm diameter) 조각에 마이크로피펫(Gilson, USA)으로 50 µl의 박하유를 처리하고 odor source tube (ID: 4 cm; Length: 21 cm)에 넣었으며, 다른 한쪽은 무처리한 filter paper나 용매를 적신 filter paper 조각을 놓아 각 Y-tube의(ID: 4 cm; Length: 27.5 cm; angle between arms: 90°) arm에 흐르도록 고안하였다(Fig. 2). 각 arm을 통해 내부로 들어온 일정한 유속의 공기는 stem으로 이동하는데 stem 말단부에 갈색날개매미충을 접종하였다. 공시충이 냄새원에서 휘발된 성분의 농도 기울기에 따라 이동하는 습성을 착안하여 한쪽 arm을 선택하는 것으로 대상 물질에 대한 기피여부를 판별하였다.

각각 기피실험 시 5분간의 정해놓은 시간이 지나면 각 arm의 말단에서 6 cm 이상 이동하였을 때만 선택하였다고 판단하였으며, 그 외는 선택하지 않았다고 판단하였다. 방향성에 따른 오차를 줄이기 위하여 15회 반복 실험 후 Y-tube를 180° 회전하여 다시 15회 실험하였다. 선별한 물질의 처리량에 따른 실험에서는 각 25회 반복 후 회전하여 실험하였다. 또한 휘발성물질의 누적을 방지하기 위하여 한번 사용된 Y-tube와 odor source tube는 에탄올을 이용하여 세척한 후 건조시켜 사용하였다. 실험 시 조건은 온도 25±1 °C, 상대습도 60~70%이었으며, 갈색날개매미충이 빛에 유인되는 성질을 고려하여 빛이 전혀 들어오지 못하도록 암케이지(black acrylic cage)를 설치하고 arm의 정가운데로 빛을 주어 쉽게 stem에서 arm까지 이동할 수 있게 유도하였다. 위와 같은 Air delivery system은 ARS (Analytical Research Systems, USA)의 모델을 참고하였으며, 초자류는 (주)KJ Glass에 주문 제작하여 실험에 사용하였다(Fig. 2).

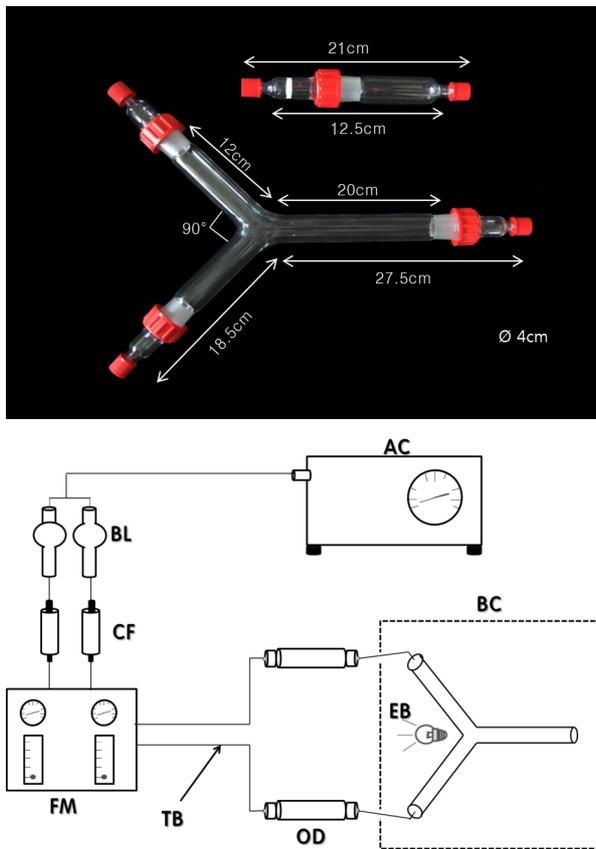


Fig. 2. Schematic of the Y-tube olfactometer. AC: air compressor, BL: Bubblers, CF: carbon filter, FM: airflow meters, TB: teflon tubes, OD: odor source tube (ID: 4 cm; length: 21 cm), EB: electric bulb, BC: black acrylic cage. Air delivery accessory components and Y-tube arm (ID: 4 cm; length: 27.5 cm; angle between arms: 90°) are connected to a teflon tubes (ø 4 mm) (Above); Glassware of odor source tube (up) and Y-tube (down) (Bottom).

화학분석

선별과정 실험을 거쳐 최종 선별된 방향유의 주요 성분 분석을 위해 gas chromatographer (GC, PerkinElmer Clarus 600)와 gas chromatographer-mass spectrometer (GC-MS, PerkinElmer Clarus 600 series + TurboMatrix HSS Trap)를 이용하여 분석하였다. 분석에 이용한 column은 극성인 HP-FFAP (ID 0.25 mm×30 m Length, 0.25 µm)를 이용하여 정량 분석하였으며, carrier gas는 He gas (flow 1 ml/1 min)를 사용하였다. Oven 온도는 50 °C (6 min), 190 °C (5 min, 3 °C/min 승온)로 설정하였다.

Injector (split 1:10) 온도는 210°C, 검출기 온도는 250°C (450 ml/min air) 조건하에서 검출했으며 이온화는 70 eV에서 수행하였다. 박하유의 구성성분은 GC-MS로부터 시료의 total ion chromatogram을 얻은 후, NIST Mass Spectrometry Data Center (MS search v2.0)의 자료와 비교하여 주요 성분을 확인하였다.

야외검정

기피 실험

박하유에 대한 갈색날개매미충의 야외 기피효과를 확인하기 위하여 충청남도 공주시 신평면 산정리 사과원(약 9,900 m²)에서 실험하였다. 박하유 50 µl를 마이크로피펫을 이용하여 filter paper (Whatman No. 1, 90 mm diameter 1/4)에 처리한 뒤 yellow sticky trap (우리트랩 황색 소형 250 mm*150 mm, (주)동부팜세레스)의 좌측 하단에 부착하였다. Filter paper 조각이 부착된 yellow sticky trap은 사과나무의 상단부 나뭇가지에 철사 끈으로 고정시켰다. 무처리구는 아무것도 처리하지 않은 filter paper조각을 yellow sticky trap에 부착시켜 처리구와 동일하게 설치하였다. 각 조사구는 적어도 10 m 이상 떨어진 사과나무에 배치하여 총 3반복을 실시하였으며, 3일 후, 5일 후, 7일 후 트랩의 평균 갈색날개매미충 수와 트랩 유인 저해율을 산출하였다.

산란기피 실험

박하유에 대한 갈색날개매미충의 야외 산란 기피효과를 확인하기 위하여 충청남도 공주시 신평면 산정리 사과원(약 9,900 m²)에서 실험하였다. 박하유는 99% ethanol 300 ml에 50 배 희석하였으며, 무처리구는 ethanol만을 핸드스프레이를 이용하여 나뭇가지에서 30 cm 거리를 두었으며 바람을 등지고 분무하였다. 산란의 유무조사는 5개의 나뭇가지를 1 반복으로 총 3 반복 실시하였다. 각각의 조사구는 적어도 10 m 이상 떨어진 사과나무에 배치하였으며, 3, 5, 7일 후 5가지 당 평균 산란율과 산란 저해율을 산출하였다.

통계분석

본 연구의 통계분석에서 갈색날개매미충에 대한 Y-tube olfactometer 생물검정은 SPSS (IBM SPSS version 21.0) Non-parametric chi-squared Test를 이용하여 각 기록 결과 간 chi-square values와 자유도를 구하여 p < 0.05 범위에서 근사 유의

검정을 수행하였다. 또한 박하유에 대한 갈색날개매미충의 야외 기피 실험에서 보이는 결과를 SPSS (IBM SPSS version 21.0) 일원배치분산분석을 통해 각 기록 결과 간 p < 0.05 범위에서 유의성 검정을 수행하였으며, Duncan 사후분석을 통해 처리구간의 유의차를 확인하였다.

결과

방향유의 기피 효과 선별

23종의 방향유 중 갈색날개매미충은 filter paper 조각에 50 µl의 박하유를 처리하였을 때 처리구보다 무처리구를 더 많이 선택하였으며, 83.33%로($X^2=8.000$, $df=1$, $p < 0.005$) 기피반응이 가장 높았다. 그 다음 lemongrass가 71.43%로($X^2=3.857$, $df=1$, $p < 0.050$) 기피반응을 보이며 유의차이가 있었다. 두 방향유를 제외한 21종의 방향유에서는 유인 및 기피효과가 낮았으며 유의차이 또한 없었다(Fig. 3). 갈색날개매미충이 Y-tube의 stem에 접촉한 후 처음으로 Y-arm(처리구, 무처리구 또는

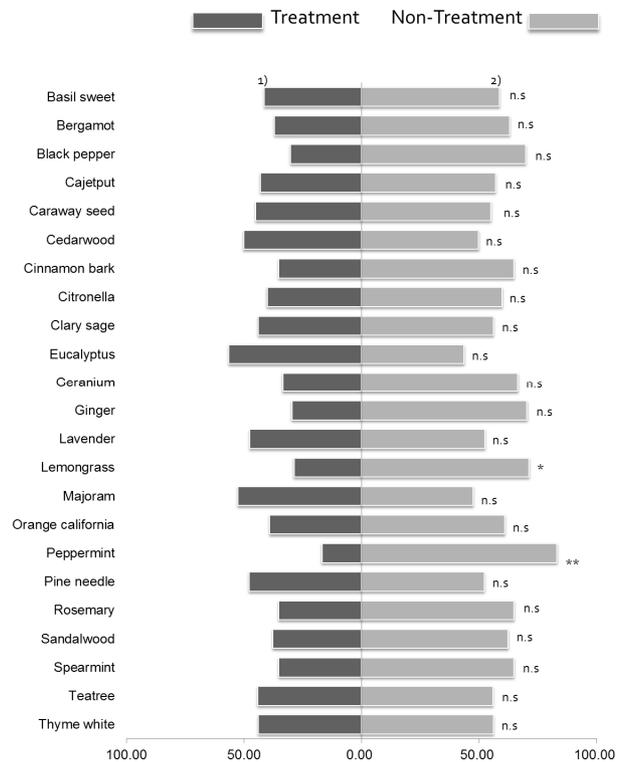


Fig. 3. Olfactory response of *Pochazia shantungensis* to 23 essential oils in a Y-tube olfactometer for 10 min.¹⁾ Olfactory response (%): Treatment/(Treatment + Non Treatment)×100;²⁾ Data were analyzed using Non-parametric chi-squared Test in SPSS (IBM SPSS version 21.0), n = 30; * p < 0.050, ** p < 0.010, n.s. (not significant).

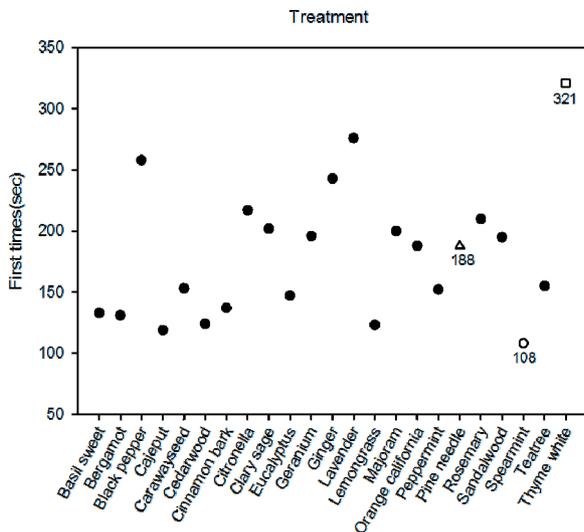


Fig. 4. Average of the first time (seconds) taken for the choice of treatment by *Pochazia shantungensis* adults in a Y-tube olfactometer. Choice checked when moving more than 6 cm from the Y-arm ends. Quadrangle: maximum time, Triangle: median time, White circle: minimum time.

대조구)을 선택한 각 방향유의 평균시간을 보면, 처리구를 향해 제일 빠르게 이동하여 선택한 방향유는 spearmint였고 평균 108초(1분 48초) 소요되었으며, 제일 늦게 선택한 방향유의 시간은 thyme white에서 평균 321초(5분 21초) 소요되었다(Fig. 4).

박하유의 처리량에 따른 기피효과

각 처리량에 따른 기피효과 실험은 앞선 실험의 결과 갈색날개매미충의 선택이 약 170~190초 정도(2분 50초~3분 10초) 소요되는 것을 확인하여 5분 후 갈색날개매미충의 위치를 기록하였다. 그 결과, 10 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ 박하유 처리 시 갈색날개매미충 50 마리 중 8 마리만 처리구 방향으로 이동하였으며, 무처리구로는 26 마리가 이동하여 76.47%의 높은 기피율을 보였다($X^2=9.529$,

$df=1, p < 0.005$). 1 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ 박하유 처리 시에는 50마리 중 12마리가 처리구로 이동하였으며, 27마리가 무처리구로 이동하여 69.23%의 기피율을 보였다($X^2=5.769, df=1, p < 0.016$). 반면 0.5 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ 와 0.1 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ 박하유 처리 시에는 50마리 중 13마리 처리구로 이동하였으나, 무처리구로는 18마리, 17마리가 이동하여 각각 58.06%, 56.67% ($X^2=0.806, df=1, p < 0.369, X^2=9.529, df=1, p < 0.465$)로 기피효과가 거의 없었으며 유의차이 또한 없었다(Table 2).

화학분석

앞 실험결과를 바탕으로 최종선발 된 박하유의 주요 성분 및 함량 등을 비교한 결과, 박하유의 total ion chromatogram에서 분당 머무름 시간(Retention time, Rt)에 따라 총 6개의 주요 피크들을 확인하였다(Fig. 5). 각 6개의 피크는 NIST MS search의 자료와 비교 결과, 주요 성분으로는 1,8-cineole (8.91Rt), menthone (19.92 Rt), iso-menthyl acetate (24.07 Rt), menthol (27.28 Rt)로 확인되었다. 또한 이전 연구에서 곤충에 기피를 보인다고 알려진 1,8-cineole, menthone, menthol의 peak의 면적(Area)을 이용하여 박하유 안에서 주요 3가지 성분의 상대함량을 계산하였다(Table 3). 그 결과 1,8-cineole, menthone, menthol은 각각 4.65%, 23.84%, 53.69%로 menthol이 함량이 가장 높게 나타났다.

박하유 주요 성분에 대한 기피효과

Gas chromatographer-mass spectrometer를 이용하여 박하유의 주요 성분 분석결과를 바탕으로, 1,8-cineole, menthol, menthone 성분에 대한 갈색날개매미충의 기피효과를 확인한 결과, 갈색날개매미충의 절반 이상이 treatment 또는 non-

Table 2. Repellent rate of each dose of the peppermint oil against *Pochazia shantungensis*, when used for 5 minutes, using a Y-tube olfactometer

Dose ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	Number of <i>P. shantungensis</i>			R(%) ²⁾	P ³⁾
	Treatment	Non-treatment	No choice ¹⁾		
10.0	8	26	16	76.5	0.002***
1.0	12	27	11	69.2	0.016*
0.5	13	18	19	58.1	0.369 ^{n.s}
0.1	13	17	20	56.7	0.165 ^{n.s}

¹⁾ Number of *P. shantungensis* individuals that did not choose either of the Y-arms (treatment or non-treatment).

²⁾ Repellent rate (%): Non-Treatment/(Treatment + Non Treatment) \times 100

³⁾ The data were analyzed using Non-parametric chi-squared Test in SPSS (IBM SPSS version 21.0), n = 50, * p < 0.050, ** p < 0.010, *** p < 0.005, n.s. (not significant).

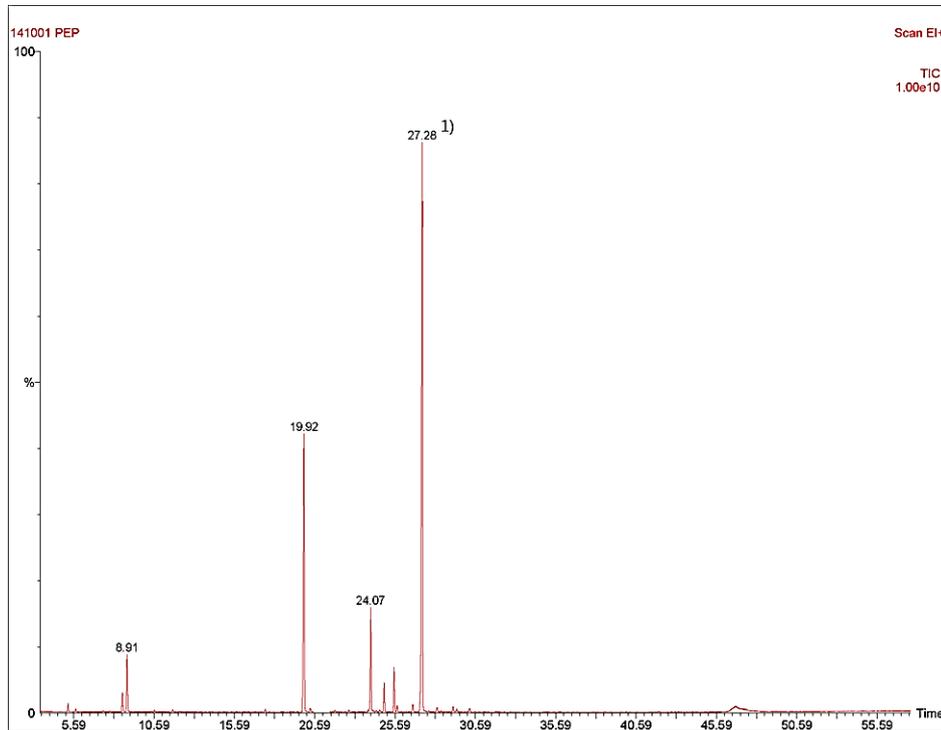


Fig. 5. Total ion chromatograms (TIC) of peppermint oil by GC-MS (gas chromatography-mass spectrometry).¹⁾ Retention time is (min) shown using the capillary HP-FFAP (ID 0.25 mm × 30 m Length, 0.25 μm) column under 50 °C (6 min), 190 °C (5 min, 3 °C/min elevated temperature), and He gas (flow 1 ml/min) conditions.

treatment의 Y-arm을 향해 이동하지 않았으며, 각각 기피율은 52.6% ($X^2=0.053$, $df=1$, $p < 0.819$), 57.9% ($X^2=0.474$, $df=1$, $p < 0.491$), 69.23% ($X^2=1.923$, $df=1$, $p < 0.166$)로 세 가지 성분 모두 기피효과가 나타나지 않았으며, 각 성분 별 유의성도 없었다. 반면에 이들의 세 성분함량을 혼합하여 처리한 결과, 76.2% ($X^2=5.762$, $df=1$, $p < 0.016$)의 높은 기피율을 보이며 유의성의 차이도 확인하였다(Table 4).

Table 3. Relative contents of peppermint oil for each retention time peak

Retention time (Rt)	Chemical	Area	Relative contents (%) ¹⁾
8.62		19372676	1.5
8.91	1,8-cineole	59339788	4.7
17.50		2813629	0.2
19.92	menthone	304453824	23.8
21.03		55434528	4.3
24.07		102728408	8.0
25.52		41526116	3.2
27.28	menthol	685707904	53.7
29.20		5708844	0.5

¹⁾Relative contents (%) = Area of retention time (Rt)/total area × 100.

야외검정

기피 실험

박하유에 대한 갈색날개매미충의 기피효과를 야외에서 확인한 결과, 3일 후 아무것도 처리하지 않은 황색끈끈이트랩에는 평균 7.3마리가 포획된 반면에 박하유를 처리한 트랩에는 평균 1.7마리가 포획되었다. 처리 5일 후 처리구와 무처리구는 평균 4.3마리와 10.0마리가 포획되었으며, 처리 7일 후 평균 9.3마리, 14.7마리가 포획되었다. 이외 박하유 처리시 무처리와 비교하여 3일 후 77.3%의 높은 트랩 유인 저해율과 유의성을 보였으며, 5일 후 56.7%, 7일 후 36.4%의 낮은 저해 결과가 산출되었다(Table 5).

산란기피 실험

야외에서 박하유에 대한 갈색날개매미충의 산란 기피효과를 확인한 결과(Table 6), 3일 후 갈색날개매미충은 ethanol만 처리한 5개의 가지 중 평균 1개의 나뭇가지에 산란을 하였으며, 무처리구는 20.0%의 산란율을 보였다. 반면에 박하유를 처리

Table 4. Repellent rate of each component of the peppermint oil against *Pochazia shantungensis*, when used for 5 minutes, using a Y-tube olfactometer

Component	Relative contents (%)	Number of <i>P. shantungensis</i>			R (%) ³⁾	P ⁴⁾
		Treatment	Non-treatment	No choice ²⁾		
1,8-cineol	5.65	9	10	11	52.6	0.819 ^{n.s}
Menthone	29.01	8	11	11	57.9	0.491 ^{n.s}
Menthol	65.34	4	9	17	69.2	0.166 ^{n.s}
Mix ¹⁾		5	16	9	76.2	0.016*

¹⁾Mixture= 1,8-cineol (5.65%): Menthone (29.01%): Menthol (65.34%)

²⁾Number of *P. shantungensis* that did not choose in the Y-arms (treatment or non-treatment).

³⁾Repellent rate (%): Non-Treatment/ (Treatment + Non Treatment)*100.

⁴⁾The data was analyzed using Non-parametric chi-squared Test in SPSS(IBM SPSS version 21.0), n= 30, * p < 0.050, n.s. (not significant).

Table 5. Average number of *Pochazia shantungensis* individuals after repelling agent treatment for 3, 5, and 7 days as opposed to yellow sticky trap in apple orchards

Repellent agent	Number of <i>Pochazia shantungensis</i> ± SD			P ²⁾
	3 days	5 days	7 days	
Peppermint oil	1.7 ± 0.6 ¹⁾	4.3 ± 2.1	9.3 ± 1.5	0.002***
Control	7.3 ± 0.6	10.0 ± 2.0	14.7 ± 1.5	0.003***
IR(%) ²⁾	77.3	56.7	36.4	
P	0.000	0.027	0.013	

¹⁾Values represent by mean±SD

²⁾Inhibition rate of attraction (%) = [1-(Treatment/control)]*100

³⁾The data was analyzed using Completely randomized one-way analysis of variance, ANOVA, Post Hoc Test by Duncan in SPSS(IBM SPSS version 21.0); * p < 0.050, ** p < 0.010, *** p < 0.005, n.s. (not significant).

Table 6. Average number of oviposition branches after treatment with repelling agent for 3, 5, and 7 days in apple orchards

Repellent agent	Number of oviposition branches±SD			P ²⁾	Oviposition rate (%) ³⁾		
	3 days	5 days	7 days		3 days	5 days	7 days
Peppermint oil	0.0 ± 0.0 ¹⁾	2.0 ± 0.0	2.3 ± 0.6	0.000***	0.0	40.0	46.7
Control	1.0 ± 1.0	2.7 ± 1.2	4.0 ± 1.0	0.036*	20.0	53.3	80.0
P	0.158 ^{n.s}	0.374 ^{n.s}	0.067 ^{n.s}				

¹⁾Values represent by mean±SD

²⁾The data was analyzed using completely randomized one-way analysis of variance, ANOVA, Post Hoc Test by Duncan in SPSS(IBM SPSS version 21.0); * p < 0.050, ** p < 0.010, *** p < 0.005, n.s. (not significant).

³⁾Oviposition rate (%) = number of oviposition branches / 5 branches * 100.

한 나뭇가지에는 산란을 전혀 하지 않았다. 처리 5일 후 ethanol만 처리한 5개의 가지 중 평균 2.7개의 나뭇가지에 산란을 하여 53.3%의 산란율을 보였으며, 박하유를 처리한 5개의 나뭇가지에도 평균 2.0개의 나뭇가지에 산란을 하여 40.0%로 ethanol만 처리하였을 때와 비슷한 산란율을 보였다. 7일 후 ethanol만 처리한 5개의 가지 중 평균 4.0개의 나뭇가지에 산란을 하여 80.0%의 산란율을 보였다. 박하유를 처리한 나뭇가지에서는 46.7%의 산란율을 보이며 ethanol만 처리하였을 때보다 낮은 산란율을 보였다.

고찰

갈색날개매미충은 저온환경에 노출되지 않은 난과를 채집 시 부화율이 현저히 떨어지며, 1년 1세대 발생하여 계대사육이 어려운 점, 실내 사육시 활동성 저하 등을 고려하여 실험에 필요할 때 여러 지역에서 채집하여 유지하면서, Y-tube olfactometer를 이용하여 23종의 방향유의 후각반응을 검정하였다. 그 중 박하유가 83.3%로 기피반응이 가장 높았는데, 박하(*Mentha piperita*)는 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 식물이며, 이런 꿀풀과

식물은 곤충에 대하여 살충, 기피, 유인, 섭식저해 등의 생리활성 연구가 이루어져 왔으며(Jeong et al., 2010), 그 중 박하속(*Mentha* spp.)의 방향유는 향균, 항알러지, 산화방지, 세포독성 등 많은 활성에 대하여 보고되어있다(Jeong et al., 2010; McKay and Blumberg, 2006; Yadegarinia et al., 2006). 박하유의 기피 효과는 위생해충과 저장해충을 중심으로 주로 연구되어 왔다(Ignatowicz, 1997; Padin et al., 2000). 권연별레의 암컷성충이 꿀꿀과의 방향유 1 µl 처리시 기피를 보였으며, 그 중 박하유는 0.1 µl 처리에도 반응한다고 알려졌다(Hori, 2003). 본 연구에서 갈색날개매미충은 박하유 1 µl와 10 µl에서 기피반응을 보였으며, 0.5 µl, 0.1 µl에서 기피반응이 낮아지며 위 실험과 비슷하게 처리량에 따라 기피율도 높아지는 농도의존적인 결과를 나타내었다.

방향유는 주로 식식성 곤충에 대하여 식물의 방어가작이나 곤충의 기주 탐색, 산란 등 여러 복합적으로 곤충과 식물간의 상호작용에 관여한다고 알려져 있다(Visser, 1986). 따라서 곤충의 종에 따라서도 역할이 달라질 수도 있다. Peppermint는 Spearmint (*Mentha spicata*)와 Watermint (*Mentha aquatica*)의 교잡종이며, spearmint oil은 peppermint와 마찬가지로 꿀꿀과 박하속에 속하지만, 본 연구와는 상반되게 꽃매미의 4령 약충과 성충에는 유인효과를 보였으며, spearmint oil의 주요성분인 carvone이 유인효과를 나타내는 결정적인 역할을 한다고 보고되었다(Moon, 2011).

이는 또한 같은 과(Family)나 속(Genus)에 속한 식물의 방향유라도 그들이 갖고 있는 성분의 역할이 중요함을 알 수 있다. 따라서 본 실험에 사용한 박하유의 성분을 기체크로마토그래프/질량분석기(Gas chromatographer-mass spectrometer, GC-MS)를 이용하여 분석한 후 NIST Mass Spectrometry Data Center (MS search v2.0)의 자료와 비교하였다. 박하유는 일반적으로 문헌 상 menthol (33-60%), menthone (15-32%), 1,8-cineole (eucalyptol) (5-13%), iso-menthyl acetate (2-11%) 등으로 이루어져 있다(Clark and Menary, 1981; Dimandja et al., 2000; McKay and Blumberg, 2006; Pittler and Ernst, 1998; Sang, 1982). 본 연구에 사용한 박하유의 성분 분석 결과 위의 문헌과 같이 1,8-cineole (4.65%), menthone (23.84%), iso-menthyl acetate (8.04%), menthol (53.69%)등이 함유되어 있었으며, 박하유의 주요 성분들은 monoterpene 화합물로 이루어진 것을 확인하였다. 그 중 이전 연구에서 곤충에 기피효과를 나타낸다고 알려진 박하유의 세 가지 monoterpene에 대하여 Y-tube olfactometer를 이용하여 후각 검정을 실시하였지만, 각각 단독으로 처리하였을 때에 높은 기피효과를 나타내지는 않았다. 그러나 이들의 세 성분함량을 혼합하여 처리한 결과, 76.2%의 높은 기피율을

보였다. 이런 monoterpene 화합물에 대한 시너지효과 연구를 살펴보면 담배저세미나방에 대하여 tymol과 trans-anethole, citronellal과 α-terpineol은 단독으로 처리하였을 때보다 혼합하여 처리하였을 때 살충활성이 상승되었다(Hummelbrunner and Isman, 2001). Myrcene과 terpinolene 등 monoterpene 단독으로 실험하였을 때보다 혼합하였을 때 소나무좀류(*Dendroctonus ponderosae* Hopkins)가 트랩에 더 유인되었다(Borden et al., 2008). 따라서 갈색날개매미충에 대한 박하유의 세 가지 monoterpene 성분들은 단독적으로 기피효과를 야기하기보다는 혼합시 시너지효과가 있을 것이라 판단되었으나 세 가지 monoterpene 이외 iso-menthyl acetate 및 여러 부성분들로 이루어져 있는 박하유가 갈색날개매미충에 기피를 야기하는 작용기작에 대해서는 전기생리학적 후각실험 등 검토가 필요하다.

야외에서 박하유의 효과를 검정하기 위하여 충남 공주시 사과원에서 수행하였다. 먼저 filter paper에 박하유를 처리하여 황색끈끈이트랩에 부착시킨 뒤 갈색날개매미충의 포획량을 살펴본 결과, 3일 후 아무것도 처리하지 않은 트랩을 설치한 곳에 비하여 박하유를 처리한 트랩에 포획량이 더 적었다. 이는 박하유의 방향족 monoterpene 화합물이 확산되어 갈색날개매미충을 기피시킨 것으로 생각되며 77.3%의 트랩 유인 저해율을 보였다. 하지만 5일이 지나고 나서는 트랩 유인 저해율이 낮아졌다. 또한 사과 나뭇가지에 박하유 희석액을 직접 분무하여 갈색날개매미충의 산란 기피 실험을 수행한 결과에서는 3일 후 갈색날개매미충은 무처리구에 비해 산란을 전혀 하지 않았다. 박하유의 산란 저해율은 3일 후 100%를 보였지만 처리 7일 후 41.7%로 감소하였다.

종합적으로 야외에서 검정 시 박하유의 기피효과는 단시간에만 활성이 강한 점을 보였다. 방향유의 특성은 상온에서 액체로 존재하는 것과 열적 안정성이 낮으며 휘발성이 강하다는 점이다. 이는 방향유가 단시간 내에 강한 효과를 가지지만 지속시간이 낮아 기능 지속을 하지 못한다는 점을 들 수 있다. 또한 너무 높은 농도로 식물에 직접처리 시 지용성인 방향유가 기공을 막아 약해를 줄 수도 있다. 따라서 낮은 열적 특성 및 휘발성을 갖는 방향유의 단점을 보완하여 적용범위를 넓히고 열적 안정성이 우수한 제형 개발을 고려해야 한다. 예로 박하유를 powder형태나 silica를 이용하여 제조하여 화랑곡나방(*plodia interpunctella*) 유충에 대한 해충 기피를 증가시키는 연구도 보고되었다(Park, 2014).

많은 방향 식물의 휘발성분은 식물의 2차 대사산물로써 해충에 대하여 살충효과, 생식력 저하, 섭식저해, 기피효과, 유인효과 등 다양한 생물활성을 지니고 있어 해충방제를 위한 대체

물질로 각광 받고 있다(Isman, 1999; Jilani et al., 1988; Ngoh et al., 1998; Regnault-Roger and Hamrouni, 1995; Shaaya et al., 1991). 하지만 방향유는 천적 및 유용생물에도 영향을 미칠 수 있기 때문에 다양한 생물학적 활성을 갖는 방향유의 작용 기작에 대한 상세한 조사를 통해 관련 된 target mechanisms을 규명할 필요성이 있다(Regnault-Roger et al., 2012; Sedlakova et al., 2003). 제형 개발을 통한 기능 지속성을 유지할 수 있다면 갈색날개매미충 뿐만 아니라 다양한 해충의 기피를 더욱 더 유도할 수 있다고 판단되며, 이외에도 유인작물 탐색을 통해 push-pull 방법을(Cook et al., 2006) 모색한다면 효과적으로 갈색날개매미충의 방제전략을 수립할 것으로 사료된다.

Literature Cited

- Arnason, J.T., Philogene, B.J., Morand, P., 1988. Insecticides of plant origin. Developed from a symposium sponsored by the Division of Agrochemicals of the American Chemical Society at the Third Chemical Congress of North America (195th National Meeting of the American Chemical Society), Toronto, Ontario, Canada, June 5-11, 1988., 1989. American Chemical Society.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food. Chem. Toxicol.* 46(2), 446-475.
- Borden, J.H., Pureswaran, D.S., Lafontaine, J.P., 2008. Synergistic blends of monoterpenes for aggregation pheromones of the mountain pine beetle (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 101(4), 1266-1275.
- Choi, D.S., Kim, D.K., Ko, S.J., Kang, B.R., Lee, K.S., Park, J.D., Choi, K.J., 2012. Occurrence ecology of *Ricania* sp. (Hemiptera: Ricaniidae) and selection of environmentally friendly agricultural materials for control. *Kor. J. Appl. Entomol.* 51(2), 141-148.
- Choi, Y.S., Hwang, I.S., Kang, T.J., Lim, J.R., Choe, K.R., 2011. Oviposition characteristics of *Ricania* sp. (Homoptera: Ricaniidae), a new fruit pest. *Kor. J. Appl. Entomol.* 50, 367-372.
- Clark, R.J., Menary, R.C., 1981. Variations in composition of peppermint oil in relation to production areas. *Econ. Bot.* 35, 59-69.
- Cook, S. M., Khan, Z.R., Pickett, J. R., 2006. The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annu. Rev. Entomol.* 52(1), 375.
- Dimandja, J.M.D., Stanfill, S., Grainger, J., Patterson, D.G., 2000. Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) to the qualitative analysis of essential oils. *J. High. Resolut. Chromatogr.* 23, 208-214.
- Gonzalez, A., Martín, D., Mohamed, N., Gariía, M.C., Cristina, A.C.A., 2006. Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochem. Syst. Ecol.* 34(8), 609-616.
- Guenther, E., 1972. The essential oils. Krieger Publishing Company, Florida, USA.
- Hadis, M., Lulu, M., Mekonnen, Y., Asfaw, T., 2003. Field trials on the repellent activity of four plant products against mainly *Mansonia* population in western Ethiopia. *Phytother. Res.* 17(3), 202-205.
- Hori, M., 1998. Repellency of rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a greenhouse. *J. Chem. Ecol.* 24(9), 1425-1432.
- Hummelbrunner, L.A., Isman, M. B., 2001. Acute, sublethal, anti-feedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *J. Agric. Food Chem.* 49(2), 715-720.
- Ignatowicz, S. 1997. Powdered herbs of the mint family (Lamiaceae) as insect repellents for protection of stored wheat grain. *Polskie. Pismo. Entomologiczne.* 66(1-2), 135-149.
- Isman, M.B., 1999. Pesticides based on plant essential oils. *Pestic. Outlook.* 10, 68-72.
- Isman, M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51, 45-66.
- Jeong, J.W., Moon, S.R., Cho, S.R., Shin, Y.H., Kim G.H., 2010. Repellent effect of wild mint oil against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Kor. J. Pesti. Sci.* 14(4), 433-439.
- Jilani, G., Saxena R.C., Rueda B.P., 1988. Repellent and growth inhibiting effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil and Margosan-O on red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.* 81, 1226-1230.
- Jo, S.H., 2013. Ecological Characteristics and environmentally friendly control strategies of *Pochazia* sp. (Hemiptera: Ricaniidae). Master's degree thesis. Chungnam National University, Korea. p77.
- Kang, T.J., Kim, S.J., Kim, D.H., Yang, C.Y., Ahn, S.J., Lee, S.C., Kim, H.H., 2013. Hatchability and temperature-dependent development of overwintered eggs of *Ricania* sp. (Hemiptera: Ricaniidae). *Kor. J. Appl. Entomol.* 52(4), 431-436.
- Lindquist, B.K., Adams, A.J., Hall, F.R., Adams, I.H.H., 1990. Laboratory and greenhouse valuations of Margosan-O against bifenthrin-resistant and-susceptible greenhouse whiteflies, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodie). U.S. Dept. Agric., Neem Workshop, USDA-ARS 86, Beltsville, MD. pp. 91-99.
- Malik, M.M., Naqvi, S.H.M., 1984. Screening of some indigenous plants as repellents or antifeedants for stored grain insects. *J. Stored Prod. Res.* 20, 41-44.
- Mckay, D., Blumberg J.B., 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytother. Res.* 20(8), 619-633.
- Moon, S.R., 2011. Attraction and repellent effects of spot clothing wax cicada, *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) against plant essential oils. Master's degree thesis. Chungbuk National University. Korea. p68.

- Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J., Stashenko, E., 2010. Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresour. Technol.* 101(1), 372-378.
- Ngoh, S.P., Hoo, L., Pamg, F.Y., Huang, Y., Kim, M.R., Ho, S.H., 1998. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach, *Periplaneta americana* (L). *J. Pestic. Sci.* 54, 261-268.
- Padin, S., Ringuet, J.A., Bello, D., Cerimele, E.L., Re M.S., Henning, C.P., 2000. Toxicology and repellent activity of essential oils on *Sitophilus oryzae* L. and *Tribolium castaneum* Herbst. *J. Herbs. Spices. Med. plants.* 7(4), 67-73.
- Park, J.J., 2014. The preparation of essential oil-impregnated organic-inorganic hybrid anti-insect powder and study on repellency for Indian meal moth and release behavior. Master' Degree Thesis. Sungkyunkwan University, Korea. p69.
- Pittler, M.H., Ernst, E., 1998. Peppermint oil for irritable bowel syndrome: a critical review and metaanalysis. *Am. J. Gastroenterol.* 93, 1131-1135.
- Rahman, M.A., Kwon, Y.J., Suh, S.J., Jo, S.H., Youn, Y.N., 2012. The Genus *Pochazia* Amyot and Serville (Hemiptere Ricaniidae) from Korea, with a newly recorded species. *J. Entomol.* 9(5), 239-247.
- RDA, 2013. A results of joint forecasting, Korea. Rural Development Daily Report. pp1-2.
- RDA, 2014. Overwintering eggs investigation area of *Pochazia* sp. and *Lycorma delicatula*. Rural Development Daily Report. p1
- Regnault-Roger, C., Hamrouni, A., 1995. Fumigant toxic activity reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say), a bruchid of kidney bean. *J. Stored Prod. Res.* 31 291-299.
- Regnault-Roger, C., Vincent C., Arnason, J. T., 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Ann. Rev. Entomol.* 57, 405-424.
- Sahaf, B. Z., Moharrampour, S., Meshkatsadat, M., 2008. Fumigant toxicity of essential oil from *Vitex pseudo-negundo* against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus oryzae* (L.). *J. Asia Pac. Entomol.* 11(4), 175-179.
- Sang, J.P., 1982. Estimation of menthone, menthofuran, menthyl acetate and menthol in peppermint oil by capillary gas chromatography. *J. Chromatogr.* 253, 109-112.
- Sedlakova, J., Kocourkova, B., Lojkova, L., Kuban, V., 2003. Determination of essential oil content in caraway (*Carum carvi* L.) species by means of supercritical fluid extraction. *Plant. Soil. Environ.* 49(6), 277-282.
- Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U., Pissarev, V., 1991. Fumigant toxicity of essential oils against four major storedproduct insects. *J. Chem. Ecol.* 17, 499-504.
- Visser, J.H., 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 31, 121-144.
- Wink, M., 1993. Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. pp. 171-213. In *Phytochemistry and Agriculture*. (Eds. Van T. A. Beek and H. Breteler) vol. 34. Clarendon, Oxford, UK.
- Yadegarinia, D., Gachkar L., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A., Rasooli, I., 2006. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Mentha communis* L. essential oils. *J. Phytochem.* 67, 1249-1255.