

Deterrent activity of (+)-nootkatone and its derivatives towards the peach potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer)

Aktywność deterrentna (+)-nootkatonu i jego pochodnych wobec mszycy brzoskwiniowej (*Myzus persicae* Sulzer)

Katarzyna Dancewicz¹, Anna Gliszczyńska², Anna Wróblewska¹,
Czesław Wawrzeńczyk², Beata Gabrys¹

Summary

Nootkatone is a natural sesquiterpene ketone that shows insecticidal activity against insects and ticks. The deterrent activity of (+)-nootkatone (**1**) and six products of its biotransformation: (+)-9 α -hydroxynootkatone (**2**), (+)-13-hydroxynootkatone (**3**), (+)-11,12-epoxy-9 α -hydroxynootkatone (**4**), (+)-11,12-epoxynootkatone (**5**), (+)-11,12-dihydroxynootkatone (**6**), (+)-7,11,12-trihydroxynootkatone (**7**) to the peach-potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer) was investigated in the current study. The deterrent activity of compounds studied (**1–7**) was evaluated using an infesting bioassay, in which the aphids were offered a choice between treated (with tested compound) and control leaves. If aphids settled mainly on the control leaves ($p < 0.05$; Student's t-test), the tested compound in the respective choice test was stated as a deterrent. The most active compounds are (+)-nootkatone (**1**) and three products its biotransformation: 11,12-dihydroxynootkatone (**6**), (+)-7,11,12-trihydroxynootkatone (**7**), (+)-9 α -hydroxynootkatone (**2**). The deterrent effect of these compounds was relatively strong and stable. It was observed for at least 24 hours after treatment, i.e., until the end of experiment.

Key words: nootkatone, *Myzus persicae*, deterrent activity, settling deterrent

Streszczenie

Nootkaton to naturalny seskwiterpenowy keton wykazujący właściwości owadobójcze w stosunku do owadów i kleszczy. W prezentowanej pracy badano aktywność deterrentną (+)-nootkatonu (**1**) i sześciu produktów jego biotransformacji: (+)-9 α -hydroksynootkatonu (**2**), (+)-13-hydroksynootkatonu (**3**), (+)-11,12-epoksy-9 α -hydroksynootkatonu (**4**), (+)-11,12-epoksynootkatonu (**5**), (+)-11,12-dihydroksynootkatonu (**6**) oraz (+)-7,11,12-trihydroksynootkatonu (**7**) w stosunku do mszycy brzoskwiniowej (*Myzus persicae* Sulzer). Aktywność deterrentną badanych związków (**1–7**) oceniano za pomocą testu zasiedlania, w którym mszyce miały wybór pomiędzy badanymi (z badanym związkiem) i kontrolnymi liśćmi. Jeśli mszyce zasiedlały głównie liście kontrolne ($p < 0,05$; test t-Studenta), to badany związek, w odpowiednim teście wyboru, był określany jako deterrent. Najbardziej aktywne związki to (+)-nootkaton (**1**) i trzy produkty jego biotransformacji: 11,12-dihydroksynootkaton (**6**), (+)-7,11,12-trihydroksynootkaton (**7**), (+)-9 α -hydroksynootkaton (**2**). Działanie deterrentne tych związków było stosunkowo silne i trwałe. Obserwowano je przez co najmniej 24 h, czyli do zakończenia eksperymentu.

Słowa kluczowe: nootkaton, *Myzus persicae*, aktywność deterrentna, deterrent zasiedlania

¹Uniwersytet Zielonogórski
Katedra Botaniki i Ekologii
Szafrana 1, 65-516 Zielona Góra
k.dancewicz@wnb.uz.zgora.pl

²Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Katedra Chemii
Norwida 25, 50-375 Wrocław

Wstęp / Introduction

Mszyca brzoskwiniowa (*Myzus persicae* Sulzer) (Hemiptera, Aphididae) jest poważnym szkodnikiem wielu ważnych roślin polowych i szklarniowych (Blackman i Eastop 2000), wektorem ponad 100 wirusów roślinnych (Blackman i Eastop 2007), kosmopolitycznym polifagiem, który uodpornił się na niemal wszystkie dostępne aficydy (Russell i wsp. 2004; Bizzaro i wsp. 2005; Foster i wsp. 2007).

W nowoczesnej ochronie roślin coraz większą uwagę zwraca się na naturalnie występujące w tkankach roślinnych deterenty, w tym deterenty pokarmowe (antyfidanty), które w wyniku nietoksycznych mechanizmów zniechęcają fitofagi do żerowania i zasiedlania roślin (Schoonhoven 1982). Stosowanie antyfidantów może być uzupełnieniem klasycznych zabiegów w integrowanych metodach ochrony upraw rolniczych (Pickett i wsp. 1994; Cox 2004). Substancje te przyczyniają się do znacznego ograniczenia przenoszenia wirusów roślinnych (Griffiths i wsp. 1989), oraz mogą być szczególnie przydatne w zwalczaniu szkodników, które stosunkowo szybko wykształcają odporność na stosowane insektycydy, a do takich należy m.in. mszyca brzoskwiniowa (Foster i wsp. 2000; Thackray i wsp. 2000; Anstead 2004; Russell i wsp. 2004; Bizzaro i wsp. 2005).

Celem badań była ocena aktywności deterentnej (+)-nootkatonu (**1**) oraz jego pochodnych (rys. 1) otrzymanych w procesie biotransformacji (Gliszczyńska i wsp. 2011) wobec *M. persicae*. Bicykliczny seskwiterpenowy keton (+)-nootkaton (**1**) jest naturalnym związkiem wyizolowanym po raz pierwszy z cyprysika nutkajskiego (*Chamaecyparis nootkatenis*) (Erdtman i Hirose 1962). Śladowe ilości tego związku znaleziono w owocach cytrusowych, szczególnie w grejpfrucie (*Citrus paradisi*) (Shaw i Wilson 1981) i pomelo (*Citrus grandis*) (Fraatz i wsp. 2009). (+)-nootkaton (**1**) został wybrany jako materiał wyjściowy do reakcji biotransformacji ze względu na swoje właściwości owadobójcze w stosunku do larw muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) (Miyazawa i wsp. 2000) oraz oddziaływanie repelentne i toksyczne na termyty (*Coptotermes formosanus*) (Maistrello i wsp. 2001; Zhu i wsp. 2001; Ibrahim i wsp. 2004), mrówkę ogniwą (*Solenopsis invicta*), kleszcza jeleniego (*Ixodes scapularis*) i karaczana prusaka (*Blattella germanica*) (Lixin i Henderson 2010).

Materiały i metody / Materials and methods

Badane substancje

Bicykliczny seskwiterpenowy keton (+)-nootkaton (**1**), stanowiący materiał wyjściowy do reakcji biotransformacji, zakupiono w firmie Fluka. Kluczowe etapy tej biotransformacji prowadzące do powstania modyfikowanych pochodnych (+)-nootkaton (**1**): (+)-(-4*R*,5*S*,7*R*,9*R*)-9*α*-hydroksynootkaton (**2**), (+)-(-4*R*,5*S*,7*R*)-13-hydroksynootkaton (**3**), (+)-(-4*R*,5*S*,7*R*,9*R*,11*S*)-11,12-epoksy-9*α*-hydroksynootkaton (**4**), (+)-(-4*R*,5*S*,7*R*,11*S*)-11,12-epoksynootkaton (**5**), (+)-(-4*R*,5*S*,7*R*)-11,12-dihydroksynootkaton (**6**), (+)-(-4*R*,5*S*,7*R*)-7,11,12-trihydroksynootkaton (**7**), zostały przeprowadzone w Katedrze Chemii Uniwersytetu

Przyrodniczego we Wrocławiu oraz opisane przez Gliszczyńską i wsp. (2011). Szlak biotransformacji (+)-nootkatonu (**1**) w kulturze grzybów: *Botrytis cinerea* AM235 (**a**) i *Didymosphaeria igniaria* KCh6670 (**b**), *Aspergillus ochraceus* AM456 (**c**), *Chaetomium* sp. KCh6651 (**d**) i *Fusarium culmorum* AM10 (**e**), *Aspergillus niger* MB (**f**) oraz wzory strukturalne uzyskanych pochodnych przedstawia rysunek 1. Przebieg przemian mikrobiologicznych, jak również czystość poszczególnych produktów, były sprawdzane z wykorzystaniem cienkowarstwowej chromatografii cieczowej TLC (thin layer chromatography) oraz chromatografii gazowej GC (gas chromatography). Struktury produktów zostały ustalone za pomocą spektroskopii (¹H NMR, ¹³C NMR, IR). (+)-nootkaton (**1**) jak i wszystkie uzyskane produkty biotransformacji (**2–7**) zostały przebadane jako potencjalne związki antyzwieniolowe.

Owady i rośliny

Mszyce – mszyca brzoskwiniowa (*Myzus persicae* Sulzer) i rośliny – kapusta pekińska (*Brassica pekinensis* L.) hodowano w warunkach laboratoryjnych (~20°C, 60% RH, 16:8 L:D). Do testów użyto dorosłych, bezskrzydłych samic mszycy brzoskwiniowej oraz 3-tygodniowe rośliny w fazie 4–6 liści w rozecie. Wszystkie eksperymenty zostały przeprowadzone w tych samych warunkach temperatury, wilgotności i oświetlenia.

Zasiedlanie roślin przez mszyce (test wyboru)

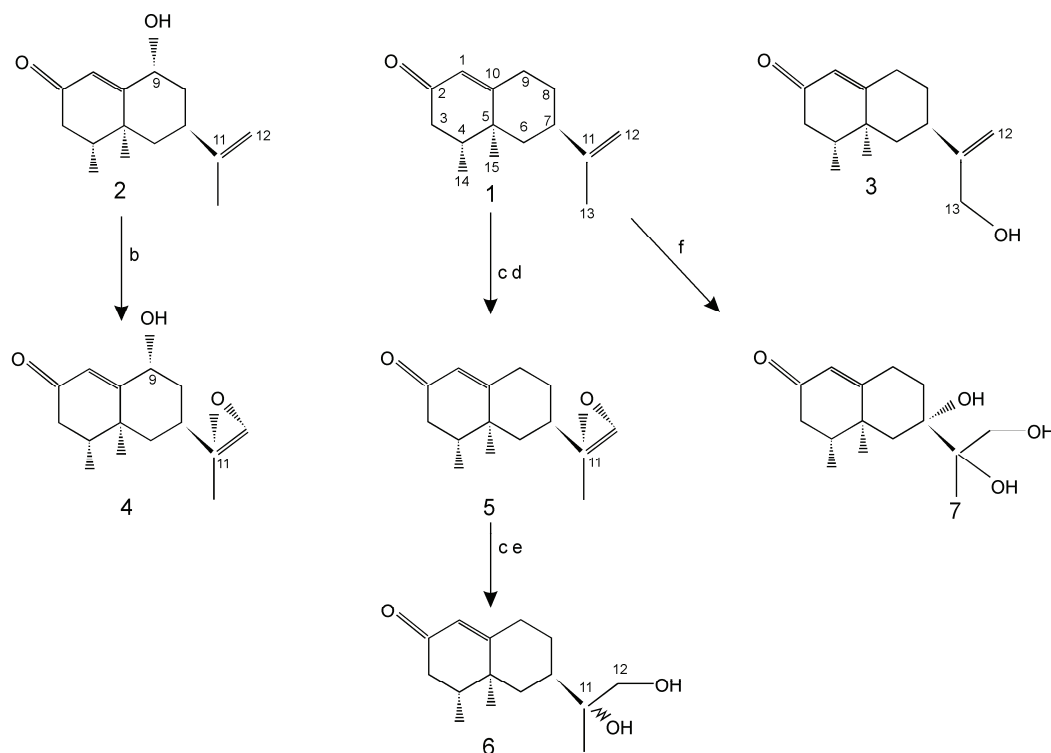
Ocenę aktywności deterentnej badanych związków przeprowadzono na podstawie testu zasiedlania roślin przez mszyce, w którym mszyce dokonywały wyboru pomiędzy liśćmi badanymi i kontrolnymi. Badane substancje (**1–7**) (rys. 1) stosowano w postaci 0,1% roztworów w 70% etanolu, w których zanurzano liście na okres 30 s. Kontrolne liście, o porównywalnej powierzchni, zanurzano w 70% etanolu. Badane i kontrolne liście umieszczano na szalkach Petriego i pozostawiano przez 1 h w celu odparowania rozpuszczalnika. Mszyce nakładano wzdłuż środkowej linii szalki, a następnie rejestrowano liczbę mszyc zasiedlających badane (T – test) i kontrolne (K – kontrola) liście po upływie 1, 2, 24 h (liczba obserwacji: 8 dla każdej substancji, 20 mszyc w próbie). Otrzymane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu testu t-Studenta (ANOVA, parametryczny), porównując pary danych, przy poziomie istotności $p = 0,05$ (STATISTICA 9.1 StatSoft). Obliczono także względny współczynnik deterencji (R), który był miarą aktywności badanego związku, według wzoru:

$$R = (K - T) / (K + T)$$

Wartości względnego współczynnika deterencji mogą wahać się w przedziale od $R = -1$ (bardzo silny deterent) do $R = 1$ (bardzo silny atraktant).

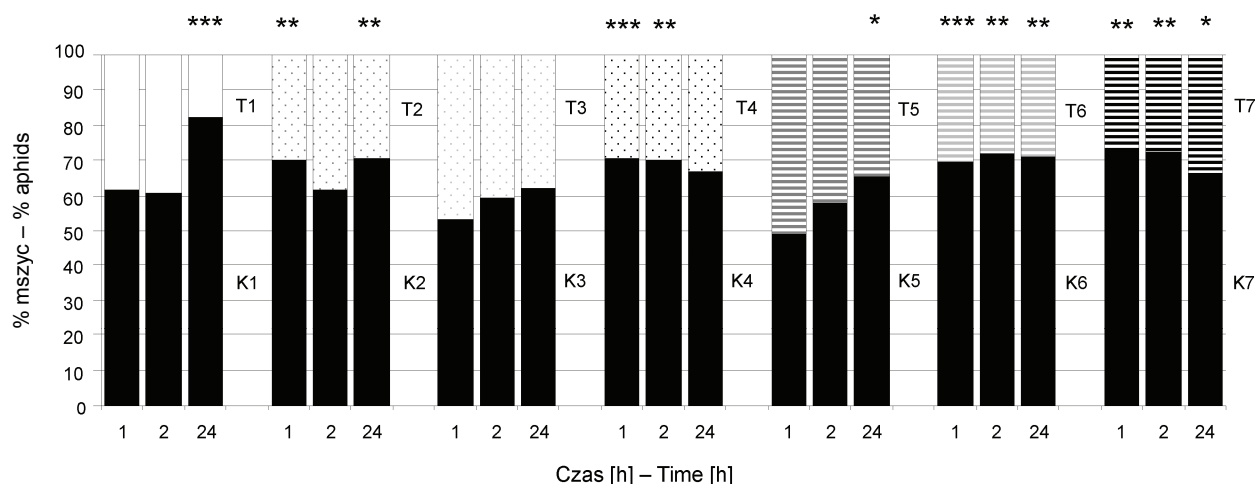
Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Na podstawie testu zasiedlania stwierdzono, że naturalny bicykliczny keton (+)-nootkaton (**1**) wykazuje



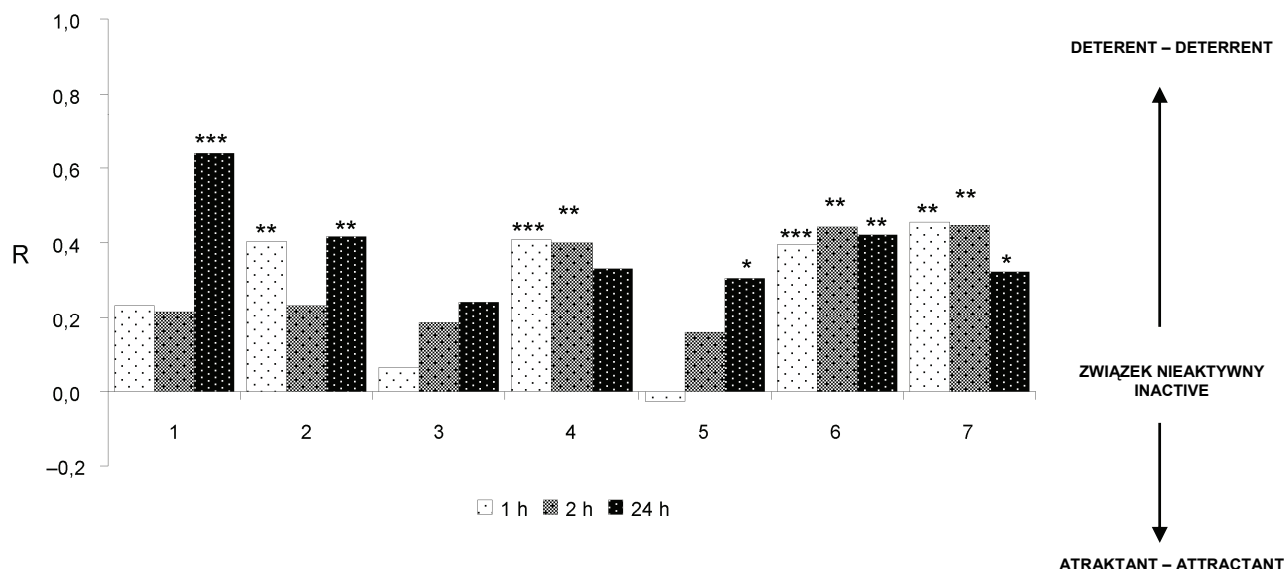
Rys. 1. Szlak biotransformacji (+)-nootkatonu (**1**) w kulturze: *B. cinerea* AM235 (**a**), *D. igniaria* KCh6670 (**b**), *A. ochraceus* AM456 (**c**), *Chaetomium* sp. KCh6651 (**d**), *F. culmorum* AM10 (**e**), *A. niger* MB (**f**) oraz produkty tej biotransformacji: (+)-9 α -hydroksynootkaton (**2**), (+)-13-hydroksynootkaton (**3**), (+)-11,12-epoksy-9 α -hydroksynootkaton (**4**), (+)-11,12-epoksynootkaton (**5**), (+)-11,12-dihydroksynootkaton (**6**), (+)-7,11,12-trihydroksynootkaton (**7**)

Fig. 1. Metabolic pathway of (+)-nootkatone (**1**) in the culture: *B. cinerea* AM235 (**a**), *D. igniaria* KCh6670 (**b**), *A. ochraceus* AM456 (**c**), *Chaetomium* sp. KCh6651 (**d**), *F. culmorum* AM10 (**e**), *A. niger* MB (**f**) and the products of biotransformation: (+)-9 α -hydroxynootkatone (**2**), (+)-13-hydroxynootkatone (**3**), (+)-11,12-epoxy-9 α -hydroxynootkatone (**4**), (+)-11,12-epoxynootkatone (**5**), (+)-11,12-dihydroxynootkatone (**6**), (+)-7,11,12-trihydroxynootkatone (**7**)



Rys. 2. Zasiadanie liści z (+)-nootkatonem (**1**) i produktami jego biotransformacji (**2–7**) przez *M. persicae* (Sulz.) po upływie 1 h, 2 h i 24 h (test wyboru; 8 powtórzeń, 20 mszyc w próbie). Za 100% przyjęto sumę mszyc na kontrolnym (**K**) i pokrytym badaną substancją (**T**) liściu. Gwiazdki wskazują różnice statystycznie istotne (test t-Studenta, *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$). **T1–T6** oznaczają liście z badanymi substancjami: (+)-nootkaton (**T1**), (+)-9 α -hydroksynootkaton (**T2**), (+)-13-hydroksynootkaton (**T3**), (+)-11,12-epoksy-9 α -hydroksynootkaton (**T4**), (+)-11,12-epoksynootkaton (**T5**), (+)-11,12-dihydroksynootkaton (**T6**), (+)-7,11,12-trihydroksynootkaton (**T7**). Odpowiednio, **K1–K6** oznaczają liście kontrolne

Fig. 2. Percent of *M. persicae* (Sulz.) infested the leaves treated with of (+)-nootkatone (**1**) and products of its biotransformation (**2–7**) 1 h, 2 h, and 24 h after treatment (choice test; 8 replicates; 20 aphids in a probe). The sum of aphids on the control (**K**) and treated (**T**) leaves was accepted as 100%. Stars indicate statistically significant differences (Student's t-test, *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$). **T1–T6** denote leaves treated with studied compounds: (+)-nootkatone (**T1**), (+)-9 α -hydroxynootkatone (**T2**), (+)-13-hydroxynootkatone (**T3**), (+)-11,12-epoxy-9 α -hydroxynootkatone (**T4**), (+)-11,12-epoxynootkatone (**T5**), (+)-11,12-dihydroxynootkatone (**T6**), (+)-7,11,12-trihydroxynootkatone (**T7**). **K1–K6** denote the respective control leaves



Rys. 3. Względny współczynnik deterencji (R) (+)-nootkatonu (1) i produktów jego biotransformacji (2–7) wobec mszycy brzoskwiniowej *M. persicae* (Sulz.) po upływie 1 h, 2 h i 24 h (test wyboru; 8 powtórzeń, 20 mszyc w próbie). Gwiazdki wskazują różnice statystycznie istotne (test t-Studenta, *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$). Cyfry 1–7 oznaczają badane substancje: (+)-nootkaton (1), (+)-9 α -hydroksynootkaton (2), (+)-13-hydroksynootkaton (3), (+)-11,12-epoksy-9 α -hydroksynootkaton (4), (+)-11,12-epoksynootkaton (5), (+)-11,12-dihydroksynootkaton (6), (+)-7,11,12-trihydroksynootkaton (7)

Fig. 3. The relative indices of deterrence (R) of (+)-nootkatone (1) and the products of its biotransformation (2–7) to the peach potato aphid *M. persicae* (Sulz.) 1 h, 2 h and 24 h after treatment (choice test; 8 replicates; 20 aphids in probe). Stars indicate statistically significant differences (Student's t-test, *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$). Numbers 1–7 denote the studied compounds: (+)-nootkatone (1), (+)-9 α -hydroxynootkatone (2), (+)-13-hydroxynootkatone (3), (+)-11,12-epoxy-9 α -hydroxynootkatone (4), (+)-11,12-epoxynootkatone (5), (+)-11,12-dihydroxynootkatone (6), (+)-7,11,12-trihydroxynootkatone (7)

działanie deterentne w stosunku do *M. persicae*. Ograniczenie zasiedlania badanych liści przez mszycę, wartość poziomu istotności różnicy statystycznej oraz względnego współczynnika deterencji ($R = 0,64$) po 24 h od zastosowania, oznaczone dla tego związku, świadczą o jego silnych właściwościach deterentnych (rys. 2, 3).

Strukturalne modyfikacje (+)-nootkatonu (1) miały istotny wpływ na aktywność biologiczną jego pochodnych uzyskanych w wyniku biotransformacji. Stwierdzono, że w grupie badanych pochodnych (2–7) (+)-nootkatonu (1) najbardziej aktywne deterentnie były związki: (+)-11,12-dihydroksynootkaton (6) i (+)-7,11,12-trihydroksynootkaton (7), które ograniczały zasiedlanie roślin przez cały czas trwania doświadczenia (rys. 2). Wartości względnego współczynnika deterencji (R) dla tych związków przekraczały wartość 0,32 (rys. 3). Działanie deterentne po 24 h od zastosowania badanych substancji zaobserwowano w przypadku (+)-9 α -hydroksynootkaton (2) i (+)-11,12-epoksynootkatonu (5) ($R = 0,31$, rys. 3). Ograniczający, ale krótkotrwały wpływ na zasiedlanie roślin przez mszycę brzoskwiniową stwierdzono w obecności (+)-11,12-epoksy-9 α -hydroksynootkatonu (4), natomiast (+)-13-hydroksynootkaton (3) nie wykazywał aktywności deterentnej wobec mszycy brzoskwiniowej (rys. 2, 3).

Badane pochodne (+)-nootkatonu (1) wykazywały zróżnicowaną aktywność deterentną wobec mszycy brzoskwiniowej. Najbardziej aktywne okazały się jednak pochodne z dwiema (6) i trzema grupami hydroksylowymi (7) w cząsteczce, których ograniczający wpływ na zasiedlanie roślin przez *M. persicae* utrzymywał się od początku aż do zakończenia doświadczenia (rys. 2, 3). Podobne

wyniki uzyskali Dancewicz i wsp. (2008), badając aktywność antyfidantną laktonowych pochodnych (R)-(+)- i (S)-(-)-pulegonu wobec mszycy brzoskwiniowej. δ -hydroksy- γ -laktony były najaktywniejszymi antyfidantami dla *M. persicae* spośród wszystkich uzyskanych pochodnych pulegonu (Dancewicz i wsp. 2008).

Zaobserwowane w przypadku (+)-11,12-dihydroksynootkatonu (6) i (+)-7,11,12-trihydroksynootkatonu (7) ograniczanie zasiedlania roślin przez *M. persicae* może istotnie zmniejszać ryzyko przenoszenia wirusów nietrwałych przez mszycę (Martin i wsp. 1997; Tjallingii 2001).

Wnioski / Conclusions

1. Naturalny lakton seskwiterpenowy (+)-nootkaton (1) wykazywał silne deterentne oddziaływanie w stosunku do mszycy brzoskwiniowej (*Myzus persicae* [Sulz.]). Działanie deterentne stwierdzono po 24 godzinach od zastosowania nootkatonu.
2. (+)-11,12-dihydroksynootkaton (6) i (+)-7,11,12-trihydroksynootkaton (7) wykazywały słabsze, w porównaniu do (+)-nootkatonu (1), ale długotrwałe deterentne oddziaływanie w stosunku do *M. persicae*. Zasiedlanie liści przez *M. persicae* było ograniczone w czasie od 1–24 godzin po zastosowaniu.
3. (+)-9 α -hydroksynootkaton (2), (+)-11,12-epoksy-9 α -hydroksynootkaton (4) i (+)-11,12-epoksynootkaton (5) wykazywały krótkotrwałe działanie deterentne w stosunku do mszycy brzoskwiniowej. Zasiedlanie

liści przez *M. persicae* było ograniczone odpowiednio: po 1 h i 24 h (pochodna **2**), podczas pierwszych dwóch godzin (pochodna **4**) lub po 24 h (pochodna **5**) po zastosowaniu.

4. (+)-13-hydroksynootkaton (**3**) nie wykazywał aktywności deterentnej wobec *M. persicae*.

Literatura / References

- Anstead J.A., Williamson M.S., Eleftherianos I., Denholm I. 2004. High-throughput detection of knockdown resistance in *Myzus persicae* using allelic discriminating quantitative PCR. *Insect Biochem. Molec.* 34: 871–877.
- Bizzaro D., Mazzoni E., Barbolini E., Giannini S., Cassanelli S., Pavesi F., Cravedi P., Manicardi G.C. 2005. Relationship among expression, amplification, and methylation of FE4 esterase genes in Italian populations of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 81: 51–58.
- Blackman R.L., Eastop V.F. 2000. Aphids on the World's Crops. An Identification and Information Guide. Wiley, LTD, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 466 pp.
- Blackman R.L., Eastop V.F. 2007. Taxonomic issues. p. 1–29. In: „Aphids as Crop Pests” (H. van Emden, R. Harrington, eds.). CAB International, Wallingford, 717 pp.
- Cox P.D. 2004. Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. *J. Stored Prod. Res.* 40: 1–25.
- Dancewicz K., Gabryś B., Dams I., Wawrzęczyk C. 2008. Enantiospecific effect of pulegone and pulegone-derived lactones on settling and feeding of *Myzus persicae* (Sulz.). *J. Chem. Ecol.* 34 (4): 530–538.
- Erdtman H., Hirose Y. 1962. The chemistry of the natural order Cupressales: 46. The structure of nootkatone. *Acta Chem. Scand.* 16: 1311–1314.
- Foster S.P., Denholm I., Devonshire A.L. 2000. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the UK. *Crop Prot.* 19: 873–879.
- Foster S.P., Devine G., Devonshire A.L. 2007. Insecticide resistance. p. 261–287. In: „Aphids as Crop Pests” (H. van Emden, R. Harrington, eds.). CAB International, Wallingford, 717 pp.
- Fraatz M.A., Berger R.G., Zorn H. 2009. Nootkatone – a biotechnological challenge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 83: 35–41.
- Gliszczynska A., Lysek A., Janeczko T., Świtalska M., Wietrzyk J., Wawrzęczyk C. 2011. Microbial transformation of (+)-nootkatone and the antiproliferative activity of its metabolites. *Bioorg. Med. Chem.* 19: 2464–2469.
- Griffiths D.C., Pickett J.A., Smart L.E., Woodcock C.M. 1989. Use of insect antifeedants against aphid vectors of plant virus disease. *Pestic. Sci.* 27: 269–276.
- Ibrahim S.A., Henderson G., Zhu B.C.R., Fei H., Laine R.A. 2004. Toxicity and behavioral effects of nootkatone, 1,10-dihydronootkatone, and tetrahydronootkatone to the formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Econ. Entomol.* 97: 102–111.
- Lixin M., Henderson G. 2010. Evaluation of potential use of nootkatone against maize weevil (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) and rice weevil [*S. oryzae* (L.)] (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 46: 129–132.
- Maistrello L., Henderson G., Laine R.A. 2001. Efficacy of vetiver oil and nootkatone as soil barriers against formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Econ. Entomol.* 94: 1532–1537.
- Martin B., Collar J.L., Tjallingii W.F., Fereres A. 1997. Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. *J. Gen. Virol.* 78: 2701–2705.
- Miyazawa M., Nakamura Y., Ishikawa Y. 2000. Insecticidal sesquiterpene from *Alpina oxyphylla* against *Drosophila melanogaster*. *J. Agr. Food Chem.* 48: 3639–3641.
- Pickett J.A., Wadhams L.J., Woodcock C.M. 1994. Attempts to control aphid pests by integrated use of semiochemicals. The BCPC Conference – Pests and Diseases: 1239–1246.
- Russell R.J., Claudianos Ch., Campbell P.M., Horne I., Sutherland T., Oakeshott J.G. 2004. Two major classes of target site insensitivity mutations confer resistance to organophosphate and carbamate insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 79: 84–93.
- Schoonhoven L.M. 1982. Biological aspects of antifeedants. *Entomol. Exp. Appl.* 31: 57–69.
- Shaw P.E., Wilson III C.W. 1981. Importance of nootkatone to the aroma of grapefruit oil and the flavor of grapefruit juice. *J. Agr. Food Chem.* 29: 677–679.
- Thackray D.J., Jones R.A.C., Bwy A.M., Coutts B.A. 2000. Further studies on the effects of insecticides on aphid vector numbers and spread of cucumber mosaic virus in narrow-leaved lupins (*Lupinus angustifolius*). *Crop Prot.* 19: 121–139.
- Tjallingii W.F. 2001. Plant penetration by aphids as revealed by electrical penetration graphs. *Aphid and Other Homopterous Insects* 8: 105–120.
- Zhu B.C.R., Henderson G., Chen F., Maistrello L., Laine R.A. 2001. Nootkatone is a repellent for Formosan subterranean termite (*Coptotermes formosanus*). *J. Chem. Ecol.* 27: 523–531.