

Zur Wirkung einiger Reifractionen aus Samen von *Azadirachta indica* auf Fraßaktivität und Metamorphose von *Epilachna varivestis* (Col. Coccinellidae)

H. SCHMUTTERER und H. REMBOLD

Abstract

Effects of some pure fractions of extracts from neem (Azadirachta indica) seeds on feeding activity and metamorphosis of Epilachna varivestis (Col. Coccinellidae)

In a number of publications of various authors on the ingredients of neem tree (*Azadirachta indica*) seeds only azadirachtin was mentioned as an effective growth regulator in insects of various orders. This triterpenoid was also identified as a potent phagorepellent and sterilant.

In the present investigation some fractions of extracts from neem seeds of West African origin (Togo) were purified. Four finally obtained pure fractions showed strong to very strong growth disruption effects in *Epilachna varivestis*, a fifth one was somewhat less active.

After uptake of the neem seed ingredients by feeding on treated bean leaves various more-or-less typical symptoms appeared in fourth instar larvae. They can be described as follows:

Under the influence of fractions 18-79a I and 18-79a II the larvae gradually shriveled until they died; fraction 18-79b I caused blackish legs in the shriveling test insects. After the uptake of fractions 18-80b and 18-80d reddish-brown spots appeared in the dorso-lateral zones of the thorax. The larvae showing this type of symptoms were very large and died not before about three weeks after appearance of such spots.

Only fraction 18-79a I showed obvious phagorepellent properties mainly during the first day of the so-called "petri dish test". Fractions 18-79a I, 18-79a II and 18-80b also prevented moulting from the 3rd to the 4th instar larva even in very low concentrations. After uptake of fraction 18-79b I and 18-80d the majority of 3rd instar larvae was able to moult but the resulting 4th instar larvae refused to feed on untreated bean leaves and died some days afterwards.

1 Einleitung

Es ist seit längerer Zeit bekannt, daß Teile des Neem-Baumes (*Azadirachta indica* A. Juss), vor allem Samen, das Triterpenoid Azadirachtin (ZANNO et al. 1975) enthalten, das neben einer mehr oder weniger starken fraßabschreckenden Wirkung auch metamorphosestörende Effekte bei Insekten verschiedener Ordnungen, wie z. B. Lepidopteren und Coleopteren zeigt (BUTTERWORTH und MORGAN 1971; MEISNER et al. 1976; RUSCOE 1972; STEETS 1975, 1976; ZANNO et al. 1975; LADD et al. 1978). Hinzu kommen noch sterilisierende Eigenschaften (STEETS und SCHMUTTERER 1975). Neben Azadirachtin allein wurden bisher vor allem die Eigenschaften von Gesamtextrakten und teilweise gereinigten Fraktionen aus Samen und Blättern getestet. Die letztgenannten Verfahren ließen keine Aussagen darüber zu, ob außer Azadirachtin auch andere Inhaltsstoffe beim Zustandekommen metamorphosestörender Wirkungen beteiligt waren. Um diese Frage besser beantworten zu können, wurden durch fortlaufende Fraktionierungen und Bioteste einige Reinsubstanzen aus

Neem-Samen gewonnen, deren Wirkung auf die Fraßaktivität und die Metamorphose von *Epilachna varivestis* Muls. beschrieben werden soll.

2 Material und Methoden¹

2.1 Pflanzliches Ausgangsmaterial und Reinigung der Extrakte

2.1.1 Pflanzenmaterial

Als Ausgangsmaterial dienten Neem-Samen westafrikanischer Herkunft (Togo)², die schon wenige Wochen nach der Ernte verarbeitet wurden. Diese Samen waren nach dem Sammeln vom Fruchtfleisch befreit und schonend im Schatten getrocknet worden.

2.1.2 Reinigung der Neem-Samenfraktionen und Anwendung

In einer typischen Aufarbeitung wurden 250 g Samen geschrotet und viermal mit insgesamt 12 l Methanol bei Raumtemperatur extrahiert. Das Methanol wurde im Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand (41 g) mehrfach mit insgesamt 1,5 l n-Hexan extrahiert, wodurch 17 g einer Lipidfraktion anfielen, die stark fraßhemmende und metamorphosestörende Wirkung besaß. Der in Hexan unlösliche Rückstand hatte die gleiche biologische Wirkung. Er wurde in mehreren Portionen auf einer Kieselgelsäule (500 g) fraktioniert, wobei eine Bande mit stark metamorphosestörender Aktivität durch Ethylacetat eluiert wurde (3,2 g). Rechromatographie im gleichen System lieferte schließlich 1,5 g eines Substanzgemisches, das durch präparative Dünnschichtchromatographie (Merck KG 60-F-254, 0,5 mm) im System Ethylacetat-20% Methanol und Rechromatographie im System n-Hexan – Ethylacetat (2:3) die reinen Stoffe lieferte. Für die Untersuchung der biologischen Wirkung wurden die auf 1 g Neem-Samen bezogenen Aliquote in 10 ml Methanol gelöst und bei Bedarf entsprechend verdünnt.

2.2 Insektenmaterial

Als Testtiere dienten – wenn nicht anders erwähnt – ausschließlich Viertlarven von *Epilachna varivestis* (Col., Coccinellidae) wenige Stunden nach der Häutung. Die Käferlarven wurden in Petrischalen- und Käfigtesten – wie sie bei REMBOLD et al. (1979) näher beschrieben sind – mit den Wirkstoffen in Kontakt gebracht. In beiden Fällen handelt es sich um Fraßteste, wobei aber auch Kontaktwirkungen über die Beine und andere ventrale Körperteile nicht auszuschließen waren. Im Petrischalentest wurde zu Beginn des Versuches und dann nach 24 und 48 h das Gewicht der Larven ermittelt, woraus Schlüsse auf die Fraßtätigkeit der Testinsekten bzw. auf fraßabschreckende Wirkungen der Testsubstanzen gezogen werden konnten. Anschließend wurden die Tiere bis zu ihrem Tode bzw. zum Abschluß der Metamorphose in Bellaplastschalen gehalten und mit unbehandelten Bohnenblättern gefüttert. Der Test in größe-

¹ Die Verfasser schulden Frau DAGMAR PLATZ, Frau INGE KLEINSCHMIT und Frau MARLENE GRÜNE für ihre Mithilfe bei der Versuchsdurchführung besonderen Dank.

² Herrn Dr. S. ADHIKARY (Lomé-Togo) wird für die Übersendung der Neem-Samen an dieser Stelle besonders gedankt.

ren Käfigen diene vor allem zur Ausschaltung möglicher Gaswirkungen der Testsubstanzen und Lösungsmittel, da mit solchen in dem kleinen Luftvolumen der Petrischalen zu rechnen war. Die Testtiere verblieben bis zum Tode bzw. bis nach der Imaginalhäutung in den Käfigen. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte in der Regel täglich.

3 Ergebnisse und Diskussion

Bei einer größeren Zahl von untersuchten Reifraktionen ergaben die Bioteste übereinstimmend, daß drei Fraktionen sehr gut, eine gut und eine weitere etwas schwächer wirksam waren. Es zeigte sich auch, daß sich die Resultate von Petrischalen- und Käfigtesten weitgehend deckten. Lediglich die Reifraktion 18-18d war im Käfigtest etwas besser, was sich aber damit erklären ließ, daß hier die Versuchstiere dem Wirkstoff längere Zeit ausgesetzt waren und folglich auch mehr von ihm aufnehmen konnten. Im einzelnen wurden mit den aktiven Fraktionen folgende Ergebnisse erzielt:

Reifraktion 18-79a I³

Diese war die einzige Fraktion mit deutlicher fraßabschreckender Wirkung, besonders am 1. Versuchstag. Dieser Effekt wurde mit sinkender Konzentration schrittweise geringer. Vier Viertlarven nahmen in der Versuchsvariante mit einer Konzentration⁴ von 1:2 überhaupt keine Nahrung auf. Die Metha-

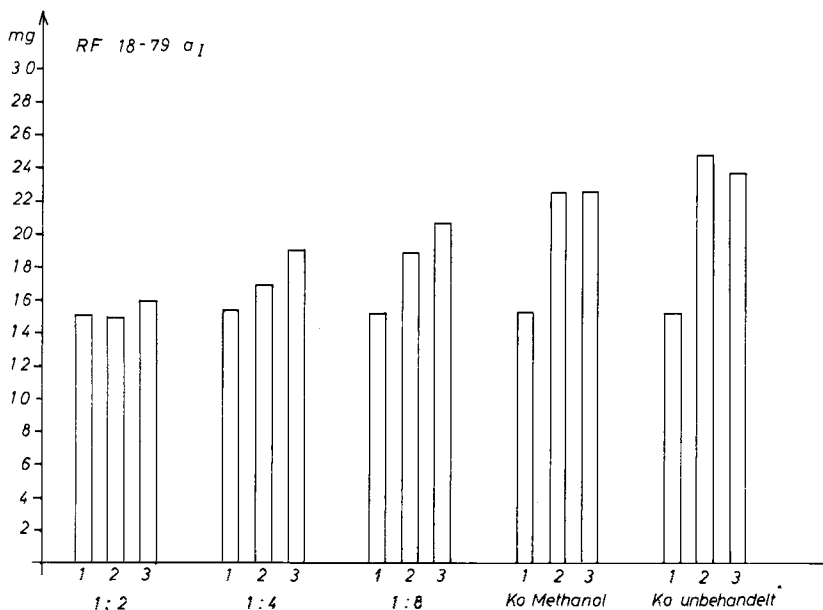


Abb. 1. Wirkung der Reifraktion 18-79a I auf die Nahrungsaufnahme durch *L*₄ von *E. varivestis* im Verlauf von 2 Tagen. 1 = Gesamtgewicht bei Versuchsbeginn, 2 = Gesamtgewicht nach 24 h, 3 = Gesamtgewicht nach 48 h (20 Tiere pro Versuchsvariante)

³ Reifraktion 18-79a I ist mit Azadirachtin identisch.

⁴ Die Stammlösung entsprach 0,1 g Neem-Samen pro ml Methonol.

nol-Kontrolle unterschied sich nur wenig von der unbehandelten Kontrolle (Abb. 1).

Die Versuchstiere fraßen nach Überführung in Bellaplastschalen entweder überhaupt nicht mehr oder nur noch sehr wenig und gingen, allmählich zusammenschrumpfend, schon wenige Tage nach Versuchsbeginn ein. Manche von ihnen verfärbten sich dabei dunkelbraun, andere zeigten einzelne schwarz verfärbte Beine. Sehr typisch war auch eine zunächst verstärkte Kotabgabe und der Versuch der Tiere, sich mit dem Hinterende festzuheften. Die ersten toten Larven wurden 4, die letzten 22 Tage nach Versuchsbeginn registriert. Der Eintrocknungsprozeß und das Absterben der Käferlarven ging bei dieser Fraktion deshalb relativ rasch vor sich, weil die Tiere infolge geringer Nahrungsaufnahme über keine Reservestoffe verfügten, die ihnen ein längeres Leben ermöglicht hätten.

Nur zwei Larven, die im Schalentest nichts gefressen hatten, häuteten sich zu Puppen. Eine dieser Puppen starb ab, das andere Tier konnte sich aus der Puppenhaut nicht befreien. In der Methanol-Kontrolle und der unbehandelten Kontrolle häuteten sich 16 bzw. 19 Tiere zu Imagines, von denen 1 bzw. 4 leichte Flügeldefekte aufwiesen.

Zusammenfassend läßt sich über die Reinfraaktion 18-79a I sagen, daß geringe Nahrungsaufnahme und dadurch auch geringe Größe der L₄, allmähliches Einschrumpfen des Körpers, begleitet von dunkler Verfärbung bei einigen Individuen, Schwarzfärbung einzelner Beine und schließlich eine Art „Ver-trocknungstod“ charakteristisch waren (Abb. 2).

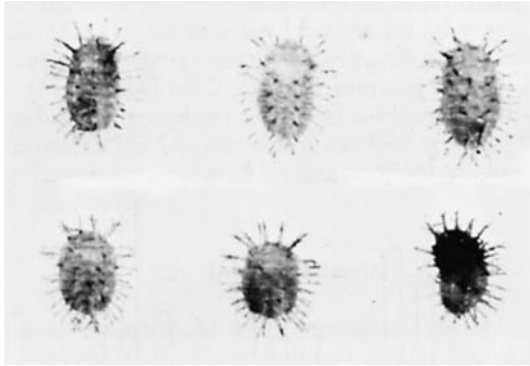


Abb. 2. Durch Aufnahme der Reinfraaktion 18-79a I geschädigte, zusammenschrumpfende Viertlarven von *E. varivestis*

Reinfraktion 18-79a II

Im ganzen gesehen zeigte diese Fraktion eine sehr ähnliche Wirkung wie 18-79a I. Der fraßabschreckende Effekt erwies sich jedoch, wenn man die drei angewendeten Konzentrationen mit der Methanol-Kontrolle vergleicht, als wesentlich geringer. Die Larven waren deshalb im Durchschnitt auch etwas größer und lebten meist einige Tage länger. Die Symptome an den Versuchstieren stimmten sonst mit denen der Fraktion 18-79a I überein, d. h. es wurde ein allmähliches Zusammenschrumpfen der meist mit dem Hinterende auf der Unterlage angehefteten Tiere beobachtet. Manche Viertlarven verfärbten sich

dabei dunkel. Bei einigen Tieren nahmen auch einzelne Beine oder Beinpaare eine dunkelbraune bis schwärzliche Färbung an. In der Versuchsvariante mit einer Konzentration von 1:2 waren 22, in der mit einer von 1:4 25 und in der mit einer von 1:8 29 Tage nach Versuchsbeginn alle L_4 abgestorben. Keinem Tier gelang es, sich zur Puppe zu entwickeln. In der Methanol-Kontrolle und der unbehandelten Kontrolle waren die Ergebnisse mit denen bei Fraktion 18-79a I identisch.

Die Reifraction 18-79a II bewirkt also neben leichter Fraßabschreckung sehr starke Metamorphosestörungen, wobei die an den Viertlarven auftretenden Symptome denen der Fraktion 18-79a I stark ähneln. Die Lebensdauer der Tiere ist wohl vor allem infolge stärkerer Fraßtätigkeit etwas länger, wobei sich mit Abnahme der Wirkstoffkonzentration eine deutliche Zunahmetendenz zeigt.

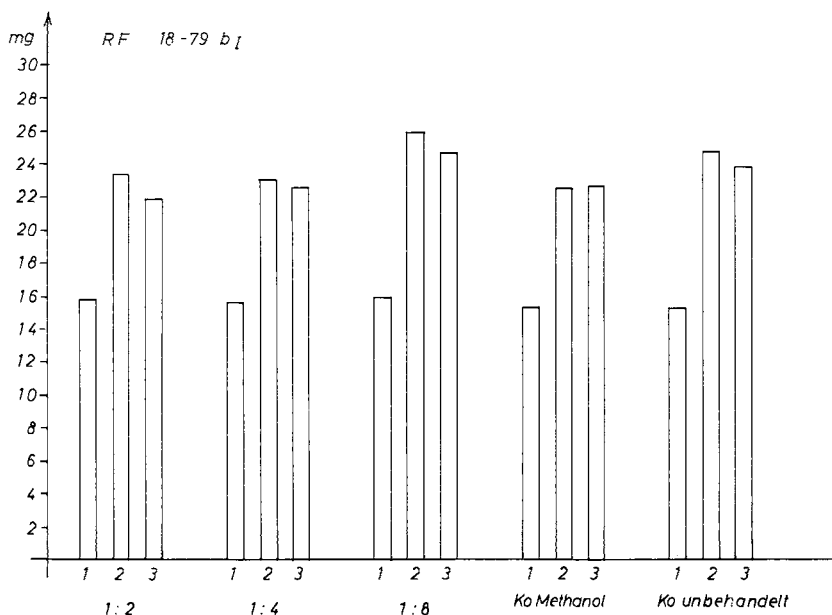


Abb. 3. Wirkung der Reifraction 18-79b I auf die Fraßaktivität von *E. varivestis*-Viertlarven im Verlauf von 2 Tagen. 1 = Gesamtgewicht bei Versuchsbeginn, 2 = Gesamtgewicht nach 24 h, 3 = Gesamtgewicht nach 48 h (20 Tiere pro Versuchsvariante)

Reifraction 18-79b I

Bei dieser Fraktion fiel zunächst besonders auf, daß die Versuchstiere in den verschiedenen Varianten etwa gleichviel fraßen wie die der Methanol-Kontrolle, eine Fraßhemmung demnach nicht zustande gekommen war (Abb. 3).

Etwa 4 Tage nach Versuchsbeginn stellten die Viertlarven, die dann eine zur Verpuppung ausreichende Größe erreicht hatten, den Fraß ein und versuchten, sich mit dem Hinterende festzuheften. Gleichzeitig begann ihr Körper allmählich zu schrumpfen. Bei den meisten Tieren verfärbten sich sämtliche Beine schwarz (Abb. 4).

Der Tod der letzten Larven wurde in allen Varianten erst 30-32 Tage nach Versuchsbeginn registriert. Nur einem Tier war es möglich, das Imaginalsta-

dium zu erreichen. In der Methanol-Kontrolle schlüpfen 15 normale Imagines, während in der unbehandelten Kontrolle vier von 19 Käfern leichte Flügeldefekte aufwiesen, was teilweise durch die trockene Laborluft, die beim Schlüpfen herrschte, verursacht worden sein dürfte.

Die Effekte der Reinfraction 18-79b I weichen also von denen der Fraktionen 18-79a I und 18-79a II vor allem durch die fehlende fraßabschreckende Wirkung und die daraus resultierende Größe der Viertlarven, aber auch durch die Schwarzfärbung von meist allen Beinen der Mehrzahl der Versuchstiere ab.

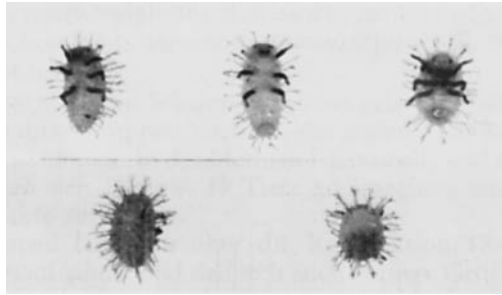


Abb. 4. Durch Einwirkung der Reinfraction 18-79b I geschädigte Viertlarven von *E. varivestis* (Schrumpfungerscheinungen, schwarze Beine)

Reinfraction 18-80b

Auch diese Fraktion zeichnete sich durch eine sehr starke Wirkung aus, was dadurch unterstrichen wird, daß in den Versuchsvarianten kein Tier das Puppenstadium erreichte. In der Methanol-Kontrolle häuteten sich 20, in der unbehandelten Kontrolle 19 Tiere zu Imagines, wobei einzelne Käfer leichte Flügeldeformationen aufwiesen.

Schon wenige Tage nach Versuchsbeginn verfärbten sich die Tiere, die in den Versuchsvarianten sogar etwas stärker als in der Methanol-Kontrolle gefressen hatten, intensiv gelb, während die unbehandelten Kontrolltiere die normale zitronengelbe Färbung aufwiesen. Sie setzten einen – wenn auch gemäßigten Fraß – noch über einige Tage fort und erreichten dann volle Verpuppungsgröße. Bemerkenswert war weiterhin, daß nach mehreren Tagen auf der Haut der Dorsalseite im Bereich der Sklerite 1-4 rötlichbraune Flecke auftraten. Verschiedene Tiere hefteten sich mit dem Hinterleib auf der Unterlage an, andere zeigten einzelne, dunkel verfärbte Beine. Das Absterben der L₄ zog sich bis 3 Wochen nach Versuchsbeginn hin, wobei keine typischen „Austrocknungserscheinungen“ wie bei den vorher besprochenen Reinfractionen auftraten.

Die Besonderheiten der Fraktion 18-80b liegen also darin, daß der Fraß in den ersten Tagen im Vergleich zur Methanol-Kontrolle sogar leicht gesteigert und erst dann eingestellt wird, wenn die Tiere voll erwachsen sind. Ein besonderes Phänomen ist das Auftreten von rötlichbraunen Flecken, die sich im wesentlichen mit den dorsalen Skleriten decken. Der Tod der Versuchstiere tritt in den meisten Fällen ganz allmählich ein, so daß die letzten von ihnen erst 3 Wochen nach Versuchsbeginn sterben.

Reiffraktion 18-80d

Diese Fraktion war vor allem in der niedrigsten Konzentration nicht ganz so wirksam wie die vorher erwähnten Reiffraktionen, bewirkte jedoch ebenfalls sehr typische Symptome, die denen von 18-80b stark ähnelten. Bei einer Konzentration von 1:8 entstanden 7 normale Imagines, bei einer von 1:4 ein nicht geschädigter Käfer (Tab.).

Wirkung der Reiffraktion 18-80d auf die Metamorphose von *E. varivestis*. L₄ = Viertlarven, P = Puppen, PA = „pupal-adulte“ Tiere (Käfer, die sich nicht aus der Puppenhaut befreien konnten). Stammlösung: 0,1 g Neem-Samen/ml Methanol

Reiffraktion	Konzentration	Zahl der Tiere	tote L ₄	tote P	PA	normale Imagines	geschädigte Imagines
NN 18-80d	1:2	20	19	1	—	—	—
	1:4	20	17	2	—	1	—
	1:8	20	3	4	2	7	4
Ko Methanol		20	1	—	—	18	1
Ko unbehandelt		20	3	—	—	15	2

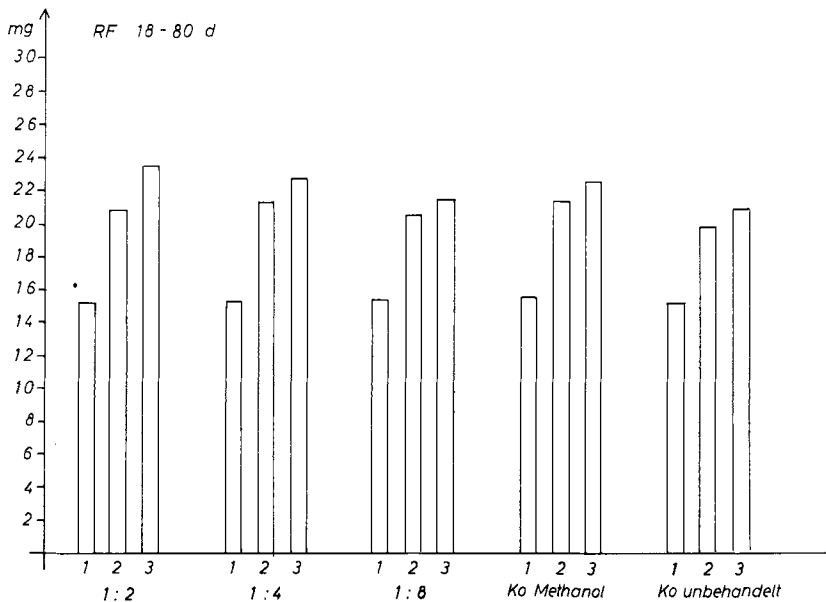


Abb. 5. Wirkung der Reiffraktion 18-80d auf die Fraßtätigkeit von L₄ von *E. varivestis* im Verlauf von 2 Tagen. 1 = Gesamtgewicht bei Versuchsbeginn, 2 = Gesamtgewicht nach 24 h, 3 = Gesamtgewicht nach 48 h (20 Tiere pro Versuchsvariante)

Überraschend war, daß vor allem die höchste Konzentration der Fraktion (1:2) den Fraß im Vergleich zur Methanol-Kontrolle und unbehandelten Kontrolle sogar etwas förderte (Abb. 5). Die Folge waren sehr gut genährte, voll ausgewachsene Larven, die sich etwa 6 Tage nach Versuchsbeginn intensiv gelb verfärbten. In den folgenden Tagen entstanden bei einigen Tieren die bereits bei Fraktion 18-80b erwähnten rötlichbraunen Flecken in der Tho-

rakalregion (Abb. 6). Bei der niedrigsten Konzentration (1:8) erfolgten nach 1 Woche die ersten Verpuppungen, in der 1:4-Variante zwei Tage später. Bei der höchsten Konzentration (1:2) trat nur eine Puppe auf. Die Puppen waren in vielen Fällen deformiert, d. h. beim Verpuppungsvorgang trat vor allem an den Flügelanlagen, die stark vorgewölbt waren, Hämolymphe aus. Aus solchen geschädigten Puppen schlüpften, wenn sie nicht vorher abstarben, stark mißgebildete Käfer, die außer deformierten Elytren und Hinterflügeln oft völlig veränderte Fleckenmuster auf den Flügeldecken zeigten. Die letzten Viertlarven starben erst 4 Wochen nach Versuchsbeginn.

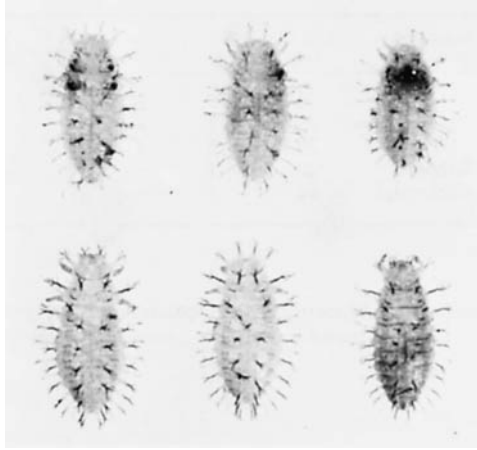


Abb. 6. Symptome an Viertlarven von *E. varivestis* nach Aufnahme der Reinfraction 18-80d (Fleckenbildung auf dem Thorax). Unten: unbehandelte Kontrolltiere

Demnach läßt sich über die Reinfraction 18-80d feststellen, daß sie sich durch leichte Fraßförderung bei höheren Konzentrationen und Erzeugung dunkel verfärbter Sklerite auf dem Thorakalbereich bezüglich ihrer Effekte stark der Fraktion 18-80b nähert. Abweichend ist die geringere Wirkung und die noch längere Lebensdauer auch stark geschädigter Viertlarven, was z. T. mit dem guten Ernährungszustand der Testtiere begründbar sein dürfte.

Anhand der mit den erwähnten Reinfractionen erzielten Ergebnisse läßt sich zusammenfassend feststellen: Alle Substanzen greifen stark in die Metamorphose ein, wobei die Fraktionen 18-79a I, 18-79a II, 18-79b I und 18-80b so wirksam sind, daß sich bei den angewandten Konzentrationen überhaupt keine Imagines entwickeln können.

Die drei erstgenannten Fraktionen wurden bis hinunter zu einer Konzentration von 1:64 getestet und waren auch dann noch voll wirksam, während 18-80b und 18-80d bei dieser Verdünnung nur noch schwach oder nicht mehr wirkten. Den Symptomen nach sind drei „Wirkstoffgruppen“ zu unterscheiden, von denen die erste durch die Fraktion 18-79a I und 18-79a II, die zweite durch 18-79b I und die dritte durch 18-80b und 18-80d repräsentiert wird. In der ersten Gruppe besteht zwischen den beiden Fraktionen nur bei der Fraßabschreckung, die bei 18-79a I weitaus am deutlichsten ist, ein nennenswerter Unterschied. Die Symptome an den Viertlarven sind sonst gleich. Die Fraktion 18-79b I bewirkt kaum Fraßabschreckung, so daß die L_4 eine zur

Verpuppung an sich ausreichende Größe aufweisen, das Verpuppungsstadium aber nicht erreichen, sondern vorher unter Schwarzfärbung der Beine absterben. Die Fraktionen 18-80b und 18-80d setzen sich noch deutlicher von den vorhergenannten ab, da sie den Larvenfraß sogar fördern können, vor allem bei Anwendung höherer Konzentrationen. Es entstehen deshalb sehr große Viertlarven, die jedoch in der Thorakalregion meist charakteristische, dunkel verfärbte Sklerite aufweisen. Die Tiere sterben nur sehr langsam ab. Wenn es doch zur Verpuppung kommt, tritt Hömolymphe aus der frischen Puppe aus und es entstehen, falls die Puppen überleben, stark mißgebildete Käfer.

Demnach müssen im Neem-Samen mehrere biochemisch vermutlich z. T. miteinander verwandte Stoffe vorhanden sein, die zweifelsfrei zur Gruppe der Insektenwachstumsregler zu zählen sind. Zumindest die Reifraction 18-79a I, 18-79a II und 18-80b können in einer Konzentration von 1:8 auch die Häutung von der L_3 zur L_4 vollständig verhindern, wirken also demnach wohl auch bei jedem anderen Häutungsschritt.

Durch die Fraktionen 18-79b I und 18-80d wurde bei Anwendung in gleicher Konzentration (1:8) die Häutung der L_3 zwar meist nicht verhindert, doch nehmen die L_4 dann keine oder nur noch sehr wenig Nahrung auf, so daß sie wenige bis einige Tage nach der Häutung ebenfalls absterben. Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß es sich bei allen untersuchten Reifractionen sehr wahrscheinlich nicht um solche mit juvenoid-, sondern ecdysoidartigem Charakter handelt. Hierzu ist ja auch Azadirachtin zu rechnen. Die Klärung der biologischen und biochemischen Eigenschaften der Reifractionen wird fortgesetzt.

Zusammenfassung

In bisherigen Veröffentlichungen über Inhaltsstoffe aus Neem- (*Azadirachta indica*-) Samen wurde lediglich das Triterpenoid Azadirachtin als metamorphosestörender Stoff bei Insekten verschiedener Ordnungen erwähnt. Gleichzeitig wurde es als sehr wirksames Phagorepellent identifiziert. Eine von laufenden Biotesten begleitete Fraktionierung der Extrakte aus Neem-Samen westafrikanischer Herkunft ergab, daß insgesamt vier stark bis sehr stark und ein weiterer, schwächer wirksamer Inhaltsstoff vorhanden sind, die tiefgreifende Einflüsse auf die Metamorphose von *Epilachna varivestis* ausüben können.

An Viertlarven treten nach oraler Aufnahme der Wirkstoffe unterschiedliche, mehr oder weniger typische Symptome auf, die sich in drei Gruppen einteilen lassen: Bei den Reifractionen 18-79a I und 18-79a II schrumpfen die Testtiere allmählich zusammen, bei 18-79b I werden vor dem Einschrumpfen des Körpers die Beine schwarz. Bei den Fraktionen 18-80b und 18-80d treten auf dem Thorax 1-4 rotbraune Flecke auf und die Larven sterben erst nach mehreren Wochen ab.

Lediglich die Fraktion 18-79a I zeigt eine deutliche fraßabschreckende Wirkung, besonders während des I. Versuchstages. Die Fraktionen 18-79a I, 18-79a II und 18-80b verhindern selbst in sehr niedriger Konzentration die Häutung von der L_3 zur L_4 . Die Reifractionen 18-79b I und 18-80d können die Häutung zwar bei den meisten L_3 nicht verhindern, doch sterben die L_4 dann wenige Tage später, meist ohne vorher noch Futter aufgenommen zu haben.

Literatur

- BUTTERWORTH, J. H., MORGAN, E. D., 1971: Investigations of the locust feeding inhibition of the seeds of the neem tree, *Azadirachta indica*. J. Insect Physiol. 17, 169-177.
- LADD, T. L. et al, 1978: Japanese Beetles: Extracts from Neem Tree Seeds as Feeding Deterrents. J. econ. Ent. 71, 810-813.
- MEISNER, J. et al., 1976: The residual effects of some products from neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seeds upon larvae of *Boarmia (Ascotis) selenaria* Schiff. in laboratory trials. Phytoparasitica 4, 185-192.

- RUSCOE, C. N. E., 1972: Growth disruption effects of an insect antifeedant. *Nature* (London) New Biol. 236, 159-160.
- REMBOLD, H. et al., 1979: Evidence of Growth Disruption in Insects without Feeding Inhibition by Neem Seed Fractions. *Z. PflKrankh. Pflschutz.* (im Druck).
- STEETS, R., 1975: Die Wirkung von Rohextrakten aus den Meliaceen *Azadirachta indica* und *Melia azederach* auf verschiedene Insektenarten. *Z. ang. Ent.* 77, 306-312.
- STEETS, R., 1976: Zur Wirkung von Inhaltsstoffen aus Meliaceen und Anacardiaceen auf Coleopteren und Lepidopteren. Diss. Univ. Giessen.
- STEETS, R., SCHMUTTERER, H., 1975: Einfluß von Azadirachtin auf die Lebensdauer und das Reproduktionsvermögen von *Epilachna varivestis* Muls. (Coleoptera, Coccinellidae). *Z. PflKrankh. Pflschutz* 82, 176-179.
- ZANNO, P. R. et al. 1975: Structure of the insect phagorepellent azadirachtin. *J. Am. Chem. Soc.* 97, 1975-1977.

Anschriften der Verfasser: Prof. Dr. H. SCHMUTTERER, Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie, Ludwigstr. 23, D-6300 Giessen; Prof. Dr. H. REMBOLD, Max-Planck-Institut für Biochemie, D-8000 München, Martinsried

Department of Entomology, Punjab Agricultural University, Ludhiana, India

Extraction of sex pheromone and behavioural responses of Angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella* (Olivier)

By K. R. KANAUIA and H. S. SIDHU

Abstract

Sex pheromone from the female Angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella* (Olivier) was extracted by maceration of the last three abdominal segments or immersion of whole body in seven solvents. All the solvents yielded an active pheromonal extracts which varied greatly in their efficacy. Hexane was found to be the best extractant in both the methods. Maceration method proved slightly more effective than immersion method. Pheromone was perceived by antennae of the males and amputation of both antennae up to half did not affect the response but further amputation affected the response adversely. Unmated males on exposure to increasing concentrations of pheromone responded by elevation and vibration of antennae followed by movement initiation, vibration of wings, random/oriented movement with raised abdominal tip and culminating in copulatory attempts.

1 Introduction

Angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella* (Olivier) is an important pest of stored grains and recently it has also been reported to infest under field conditions in India (KHARE 1972; AGRAWAL et al. 1977). Like many stored grain pests, the immature stages of this insect inhabit inside the grains and therefore chemical control excluding fumigants proves to be ineffective. The repeated exposure to fumigant may result in the selection of resistant mutants.