Thesis Title Mosquito Larvicidal Activity of Essential Oils Against the Pyrethroid Resistant and Susceptible Strains of *Aedes aegypti*

Author Miss Nataya Sutthanont

Degree Master of Science (Parasitology)

Thesis Advisory Committee

Prof. Wej Choochote	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Udom Chaithong	Member
Assoc. Prof. Dr. Atchariya Jitpakdi	Member
Assoc. Prof. Dr. Benjawan Pitasawat	Member

ABSTRACT

Five medicinal plants; *Citrus hystrix* (leech lime), *Citrus reticulata* (mandarin orange), *Zingiber zerumbet* (pinecone ginger), *Kaempferia galanga* (spiked ginger), and *Syzygium aromaticum* (clove) were selected for investigating the larvicidal efficacy of extracted essential oils against laboratory-reared *Aedes aegypti* mosquito, both pyrethroid-susceptible and -resistant strains. Extraction by steam distillation provided yields of volatile oils that ranged from 0.30-3.36% (v/w) according to dry weight. The highest oil content was found in *C. hystrix* (3.36%), followed by *S. aromaticum* (1.50%), *C. reticulata* (1.40%), *K. galanga* (0.76%), and *Z. zerumbet* (0.30%). The chemical compositions of selected essential oils were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). The principal constituents found in essential oil isolated from the dried fruit peel of *C. hystrix* were *β*-pinene (22.54%) and *d*-limonene (22.03%), followed by terpinene-4-ol (17.37%), together with trace amounts of *α*-terpineol (6.29%) and sabinene (5.49%). Compounds in *C. reticulata* peel oil comprised mostly *d*-limonene (62.39%), followed by *γ*-terpinene (14.06%), with minor

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

contents of 1-methyl-2-(1-methylethyl) (6.46%), α-humulene (5.22%), and methyl-*n*-methyl anthranilate (3.25%). The oils obtained from *Z. zerumbet* rhizome had α-humulene (31.93%) and zerumbone (31.67%) as major components, while *o*-menth-8-ene (8.46%), santolina triene (5.38%), β-caryophyllene (3.36%), and camphor (3.05%) were seen as minor constituents. The most abundant compounds in the essential oil from *K. galanga* rhizome were 2-propeonic acid (35.54%), pentadecane (26.08%), and ethyl-*p*-methoxycinnamate (25.96%), followed by minor quantities of 3-carene (2.47%) and eucalyptol (2.12%). The main component of *S. aromaticum* bud oil was eugenol (77.37%), with minor amounts of *trans*-caryophyllene (13.66%) and eugenol acetate (4.60%).

For a larvicidal bioassay, all five essential oils exerted promising efficacy in a dose dependent manner on both the pyrethroid susceptible and resistant strains of *Ae. aegypti* after 24 h exposure. Performance of the essential oils against both strains of *Ae. aegypti* was relatively similar. The highest potential was established from *C. reticulata*, followed by *C. hystrix*, *Z. zerumbet*, *K. galanga*, and *S. aromaticum*, with an LC_{50} of 15.42, 30.07, 48.88, 53.64, and 124.69 ppm, respectively, in the pyrethroid susceptible strain, and 19.38, 34.78, 53.08, 59.03, and 143.89 ppm, respectively, in the pyrethroid resistant strain. Apparently, the susceptibility to essential oils between the two strains of *Ae. aegypti* was slightly different, but statistically significant. All essential oils proved to be slightly more toxic against the pyrethroid susceptible strain than the resistant one, at LC_{50}, LC_{95}, and LC_{99} levels. These results suggest that volatile oils from the five selected medicinal herbs, particularly *C. reticulata*, could be promising as an alternative source for producing and developing larvicidal substances used in controlling and eradicating mosquito vectors, especially *Ae. aegypti* at breeding places.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยในการฆ่าลูกน้ำของยุงลาย *Aedes aegypti* สายพันธุ์ที่ดื้อและไวต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์
ผู้เขียน	นางสาวณฐยา สัทธานนท์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ปรสิตวิทยา)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศ. เวช ชูโชติ ประธานกรรมการ
	รศ. ดร. อุดม ชัยทอง กรรมการ
	รศ. ดร. อัจฉรียา จิตต์ภักดี กรรมการ
	รศ. ดร. เบญจวรรณ ปิตาสวัสดิ์ กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงของน้ำมันหอมระเหยได้ทำการคัดเลือกพืชสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ มะกรูด (*Citrus hystrix*), ส้มจีน (*Citrus reticulata*), กระทือ (*Zingiber zerumbet*), เปราะหอม (*Kaempferia galanga*) และกานพลู (*Syzygium aromaticum*) มาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) เพื่อทดสอบกับยุงลาย *Aedes aegypti* ที่เลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ที่ดื้อและสายพันธุ์ที่ไวต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ จากการสกัดพบว่าพืชทั้ง 5 ชนิดให้ผลิตผลของน้ำมันหอมระเหยอยู่ในช่วง 0.30-3.36 % (v/w) จากน้ำหนักแห้ง โดยพืชที่ให้ผลิตผลสูงสุดคือ มะกรูด (3.36%) รองลงมาได้แก่ กานพลู (1.50%), ส้มจีน (1.40%), เปราะหอม (0.76%) และกระทือ (0.30%) เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี Gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก ผิวมะกรูดมีองค์ประกอบหลักทางเคมี ได้แก่ β-pinene (22.54%) และ *d*-limonene (22.03%) รองลงมาคือ terpinene-4-ol (17.37%) และพบ α-terpineol (6.29%) และ sabinene (5.49%) ปริมาณเล็กน้อย สารสำคัญที่พบมากในน้ำ มันหอมระเหยจากผิวส้มจีน ได้แก่ *d*-limonene (62.39%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รองลงมาคือ γ-terpinene (14.06%) และพบ 1-methyl-2-(1-methylethyl) (6.46%), α-humulene (5.22%) และ methyl-*n*-methyl anthranilate (3.25%) ปริมาณเล็กน้อย น้ำ มันหอมระเหยจากเหง้ากระทือมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญคือ α-humulene (31.93%) และ zerumbone (31.67%) โดยพบ *o*-menth-8-ene (8.46%), santolina triene (5.38%), β-caryophyllene (3.36%) และ camphor (3.05%) ปริมาณเล็กน้อย สารที่พบมากในน้ำ มันหอมระเหยจากเหง้าเปราะหอม ได้แก่ 2-propeonic acid (35.54%), pentadecane (26.08%) และ ethyl-*p*-methoxycinnamate (25.96%) โดยพบ 3-carene (2.47%) และ eucalyptol (2.12%) ในปริมาณต่ำ องค์ประกอบหลักทางเคมีในน้ำ มันหอมระเหยจากดอกกานพลูคือ eugenol (77.37%) และสารอื่นๆ ได้แก่ *trans*-caryophyllene (13.66%) และ eugenol acetate (4.60%)

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงในห้องปฏิบัติการโดยการแช่ลูกน้ำยุงในสารทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้ง 5 ชนิด มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงในลักษณะแปรผันตามระดับความเข้มข้นของสารทดสอบ และ มีฤทธิ์ต่อยุงลาย *Ae. aegypti* ทั้งสองสายพันธุ์ได้ค่อนข้างคล้ายคลึงกัน โดยสามารถฆ่าลูกน้ำยุง ลาย *Ae. aegypti* ได้ทั้งสายพันธุ์ที่ดื้อและไวต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากส้มจีน จะมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงสูงสุด รองลงมาได้แก่ มะกรูด , กระทือ , เปราะหอมและกานพลู โดยมีค่า LC_{50} ในยุงสายพันธุ์ที่ไวต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ เท่ากับ 15.42, 30.07, 48.88, 53.64 และ 124.69 ppm ตามลำดับ และมีค่า LC_{50} ในยุงที่ดื้อต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ เท่ากับ 19.38, 34.78, 53.08, 59.03 และ 143.89 ppm ตามลำดับ อย่างไรก็ตามแม้ว่ายุงลาย *Ae. aegypti* ทั้งสองสายพันธุ์จะมีความไวต่อน้ำมันหอมระเหยต่างกันเพียงเล็กน้อยแต่ ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำมันหอมระเหยมีความเป็นพิษต่อยุงลาย *Ae. aegypti* สายพันธุ์ที่ไวต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์สูงกว่าสายพันธุ์ที่ดื้อต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ ที่ระดับ LC_{50}, LC_{95} และ LC_{99} จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าสามารถใช้น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด โดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มจีนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตและพัฒนาสารฆ่าลูกน้ำยุงเพื่อการควบคุมและกำจัดยุงพาหะนำโรค โดยเฉพาะการใช้ในแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลาย *Ae. aegypti*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved