Thesis Title Pesticidal Plant Extract for Reducing the Agricultural Use of Harmful Pesticides

Author Miss Pitchaya Mungkornasawakul

Degree Doctor of Philosophy (Environmental Science)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Araya Jatisatienr	Chairperson
Asst. Prof. Dr. Vicha Sardsud	Member
Asst. Prof. Dr.Chaiwat Jatisatienr	Member
Lect. Dr. Damrat Supyen	Member

ABSTRACT

Chapter 1 of this investigation provides an overview of insecticidal and fungicidal compounds from plants. Chapter two reports the plant selected from some interesting insecticidal plants. The plant selection was based on their insecticidal properties from literature reports and economical considerations. *Stemona spp.* and *M. siamensis* were selected and these plants were studied in order to discover new insecticidal compounds and to develop plant extract formulations for use as less harmful pesticides.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Chapters 3 and 4 review and discuss the structure elucidation of the bioactive compounds from *Stemona* spp. and *M. siamensis*. According to the strategies of extraction, isolation, purification, and structure determination, the results could be concluded as follows: Two new optically active pentacyclic *Stemona* alkaloids with a novel pyrido[1,2-*a*]azepine A,B-ring system, stemocurtisine and stemocurtisinol were isolated from the roots of *S. curtisii* together with a pyrrolo[1,2-*a*]azepine alkaloid, whose structure was independently discovered during the course of these studies by Hofer and Gregor (2003), namely oxyprotostemonine. The structures of the former two alkaloids were determined by single-crystal x-ray analysis. Furthermore, two novel dihydrostemofoline alkaloids were obtained from the roots of *S. burkillii*, namely 11(*S*), 12(*R*)-dihydrostemofoline and stemoburkilline, together with stemofoline and 2'-hydroxystemofoline. The known pyrido[1,2-*a*]azepine, oxystemokerrin, which was the diastereomer of stemocuticinol, was isolated from roots of *S. keriii*. The structure of this compound was confirmed by a single-crystal x-ray analysis. Two known coumarin compounds, surangin B and surangin C were obtained from *M. siamensis* together with mammea E/BB and mammea E/BC. Full characterization and structure elucidation of some compounds from the seeds of *M. siamensis* could not be achieved due to the small amounts of compounds isolated.

Chapter 5 provides an introduction and discussion of the biological activities of these compounds, their formulations and the persistence of these formulations. In addition, all the results and methodology of this study are presented in Chapter 6 while the conclusion and future work are described in Chapter 7.

The results of the biological activities of these compounds showed that three alkaloids from *S. curtisii* exhibited larvicidal activity against *Anopheles minimus* HO.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(LC_{50} 4-39 ppm). Additionally, the ethanolic extract and its components also showed repellent and antifeedant activities against *S. littoralis*, especially, oxyprotostemonine, demonstrated strong antifeedant activity. Whereas the compounds from *S. burkillii* showed that the mixture of stemofoline and 2'-hydroxystemofoline had the highest activity against brine shrimp (LC_{50} 26 ppm). Moreover, the crude extract of *S. burkillii* demonstrated antifeedant activity. The crude extract of *S. kerrii* showed weak antifeedant activity againt *S. littoralis*, while the hexane crude extract of *M. siamensis* and surangin B had strong antifeedant activities and surangin C expressed only weak activity.

For antifungal activity, the results showed that the crude extracts of most species studied were not active to *Cladosporium cladosporioides*. They gave the EC_{50} value of more than 1000 ppm.

For the results in the cauliflower field, there were no significant differences among the control and the formulations of *S. curtisii*, *M. siamensis* and the mixture of *M. siamensis* and eugenol in most of studied period, but they still gave good quality cauliflower products. The investigation of the persistence of the *S. curtisii* and *M. siamensis* formulations presented that the residues of both formulations could not be detected after 4 days after application.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ สารสกัดจากพืชที่กำจัดศัตรูพืช-สัตว์ได้เพื่อช่วยลดการให้สารกำจัดศัตรูพืช-สัตว์อันตรายทางการเกษตร

ผู้เขียน นางสาวพิชญา มังกรอัศวกุล

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. อารยา จาติเสถียร	ประธานกรรมการ
ผศ. ดร. วิชา สอาดสุด	กรรมการ
ผศ. ดร. ชัยวัฒน์ จาติเสถียร	กรรมการ
อ. ดร. คำรัส ทรัพย์เย็น	กรรมการ

บทคัดย่อ

บทที่1 ของงานวิจัยนี้ เป็นการเสนอการทบทวนเอกสาร เกี่ยวกับสารประกอบจากพืชที่มีฤทธิ์ต่อแมลงและเชื้อราโรคพืช ในบทที่ 2 เป็นการรายงานผลการคัดเลือกพืชจากพืชที่น่าสนใจใช้เป็นสารกำจัดแมลงบางชนิด โดยพิจารณาจากรายงานการมีคุณสมบัติในการกำจัดแมลงและจากความเหมาะสมทางด้านเศรษฐกิจ ได้ทำการคัดเลือกหนอนตายหยากและสารภีและนำไปศึกษาหาสารที่มีฤทธิ์กำจัดแมลง รวมทั้งนำไปพัฒนาเป็นสูตรเพื่อนำไปช่วยลดการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นอันตราย

ในบทที่ 3 และ 4 เป็นการรายงานทบทวนเอกสารและวิจารณ์เกี่ยวกับการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารออกฤทธิ์จากหนอนตายหยากและสารภี โดยจากขั้นตอนการสกัด การแยก การทำให้บริสุทธิ์ และการตรวจสอบหาสูตรโครงสร้างของสาร สามารถสรุปได้ว่า พบสารอัลคาลอยด์ที่เป็น optically pentacyclic 2 ชนิด ที่มีสูตรโครงสร้างแบบใหม่คือ pyrido [1,2-a] azepine A, B-ring ได้แก่ stemocurtisine และ stemocurtisinol จากรากของ *S. curtisii* พร้อมด้วย สารอัลคาลอยด์ oxyprotostemonine ซึ่งมีโครงสร้างเป็นแบบ pyrrolo [1,2-a]azepine ซึ่งโครงสร้างของสารชนิดนี้ถูกรายงานในระหว่างที่กำลังทำการศึกษา โดย Hofer and Gregor (2003) โดยโครงสร้างของสารอัลคาลอยด์สองชนิดแรกถูกตรวจสอบ โครงสร้างผลึกด้วยการวิเคราะห์ทางด้าน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เอกซเรย์ นอกจากนี้ยังพบอัลคาลอยด์ใหม่2ชนิดซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ stemofoline จากรากของ *S. burkillii* คือ 11(*S*),12(*R*)-dihydrostemofoline และ stemoburkilline รวมทั้ง stemofoline และ 2'hydroxystemofoline สารอัลคาลอยด์ที่ถูกรายงานแล้วและมีโครงสร้างแบบ pyrido [1,2-a]azepine คือ oxystemokerrin ซึ่งเป็น diasteriomer กับ stemocurtisinol ถูกแยกจากรากของ *S. kerrii* และ โครงสร้างของสารชนิดนี้ถูกยืนยันโดยการตรวจสอบโครงสร้างผลึกด้วยการวิเคราะห์ทางด้านเอกซเรย์ สารคิวมาริน 2 ชนิดซึ่งเป็นที่รู้จักแล้วคือ surangin B และ surangin C แยกได้จาก สารภี พร้อมด้วย mammea E/BB mammea E/BC แต่ไม่สามารถรายงานสูตรโครงสร้างของสารบางส่วนที่แยกได้จากเมล็ดสารภี เนื่องจาก ตัวอย่างที่แยกได้มีปริมาณน้อย

บทที่5 เป็นการเสนอบทนำ และวิจารณ์เกี่ยวกับ การศึกษาการมีฤทธิ์ต่อสิ่งมีชีวิตของสารประกอบเหล่านี้ นอกจากนี้ผลการทดลองและวิธีการทดลองของการศึกษาถูกแสดงในบทที่ 6 ในขณะที่สรุปผลการทดลอง และ ข้อแนะนำ ได้ถูกอธิบายในบทที่ 7

จากผลการทดลองพบว่าสารอัลคาลอยด์จาก *S. curtisii* มีความเป็นพิษ ต่อลูกน้ำยุงก้นปล่อง (LC_{50} 4-39 ppm) และ สารสกัด *S. curtisii* ยังมีฤทธิ์ ขับไล่ และ ยับยั้งการกินอาหารต่อหนอนกระทู้ผัก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง oxyprotostemonine มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารสูง ในขณะที่สารสกัด *S. burkillii* พบว่ามีความเป็นพิษต่อไรทะเล โดยสารผสมของ stemofoline และ 2'hydroxystemofoline มีความเป็นพิษมากที่สุด (LC_{50} 26 ppm) นอกจากนี้ สารสกัด *S. burkillii* ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหาร ต่อ หนอนกระทู้ผัก สำหรับ สารสกัด *S. kerrii* พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหาร ต่อ หนอนกระทู้ผัก รวมทั้งสารสกัดสารภี surangin B และ C ที่พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหาร ต่อ หนอนกระทู้ผัก เช่นกัน

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา ผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบของพืชเกือบทุกชนิดที่นำมาศึกษาไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช *Cladosporium cladosporioides* โดยแสดงค่า $EC_{50} > 1000$ ppm.

จากผลการทดลองในแปลงกะหล่ำดอก ส่วนใหญ่ของระยะเวลาการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างชุดควบคุมและสูตรสารกำจัดแมลงของ หนอนตายหยาก สารภี และสารผสม สารภีและ ยูจีนอล แต่ผลผลิตของกะหล่ำดอกที่ได้ยังมีคุณภาพดี และจากการทดสอบระยะเวลาของสารตกค้างของสูตรสารสกัดหนอนตายหยาก และสารภี พบว่าไม่สามารถตรวจสอบพบได้หลังจากทำการฉีดพ่นเป็นเวลา 4 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved