หัวข้อดุษฎีนิพนธ์	ผลของสารสกัดจากพืชต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวเคมีในยุงลาย *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) สายพันธุ์ที่ไวและดื้อต่อสารไพรีทรอยด์
ผู้เขียน	นางสาวจิตรวดี อินธิราช
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปรสิตวิทยา)
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุลักษณ์ จันทร์คำ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รศ.ดร.อุดม ชัยทอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร.อัจฉรียา จิตต์ภักดี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.ดวงรัตน์ ริยอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.นงคราญ ลำจวน อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การตรวจคัดกรองฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงเบื้องต้นของสารสกัดจากพืชจำนวน 17 ชนิด ที่เตรียมโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) และหมักกับตัวทำละลาย (Solvent maceration) แล้วนำมาทดสอบกับยุงลาย *Aedes aegypti* สายพันธุ์ Muang Chiang Mai-susceptible strain (MCM-S) ที่มีความไวต่อสารไพรีทรอยด์ พบว่าสารสกัดจากพืชมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงในระดับแตกต่างกัน โดยมีอัตราการตายของลูกน้ำยุงอยู่ในช่วง 0-100% ในการทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงของสารสกัดจากพืชที่ตรวจสอบแล้วว่ามีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงจำนวน 7 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน (Dose-response bioassay) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผลของเทียนเยาวพาณี (*Petroselinum crispum*) มีประสิทธิภาพฆ่าลูกน้ำยุงสูงสุด รองลงมาคือน้ำมันหอมระเหยของเทียนแกลบ (*Foeniculum vulgare*), ดอกจันทน์ (*Myristica fragrans*), ผักแขยง (*Limnophila aromatic*), ชะพลู (*Piper sarmentosum*) และขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) และสารสกัดเอทานอลของดอกจันทน์ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 43.22, 44.84, 47.42, 47.94, 49.19, 65.51 และ 75.45 ppm ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพกับยุงลาย *Ae. aegypti* ทุกสายพันธุ์ในขั้นตอนต่อมาพบว่า น้ำมันหอมระเหยเทียนเยาวพาณีสามารถใช้เป็นสารฆ่าลูกน้ำยุงและสารฆ่ายุงตัวเต็มวัยได้ โดยมีประสิทธิภาพสูงต่อยุงลาย *Ae. aegypti* สายพันธุ์ MCM-S ที่มีความไวต่อสารไพรี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทรอยด์เทียบเคียงได้กับประสิทธิภาพต่อยุงลาย *Ae. aegypti* สายพันธุ์ Pang Mai Dang-resistant (PMD-R) และ Upakut-resistant (UPK-R) ที่ดื้อต่อสารไพรีทรอยด์

การศึกษาเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพในการฆ่ายุงโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรมและสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าระยะลูกน้ำและตัวเต็มวัยของยุงลาย *Ae. aegypti* ทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ MCM-S, PMD-R และ UPK-R ที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยเทียนเยาวพาณีมีอาการผิดปกติที่เหมือนกันคือ มีอาการตื่นตัว กระสับกระส่าย เป็นอัมพาต และตาย สำหรับการสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางด้านสัณฐานวิทยาในระยะลูกน้ำพบว่าอวัยวะส่วนใหญ่ของลูกน้ำยุงมีรูปร่างลักษณะและโครงสร้างปกติ ยกเว้นส่วนของเหงือก (Anal gills) มีลักษณะเหี่ยวและยุบตัว อย่างไรก็ตามในยุงตัวเต็มวัยที่ได้รับสารกลับมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ปกติทั้งสี รูปร่าง และขนาด โดยไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายนอกต่างๆ ในส่วนหัว อก และท้องเลย

การศึกษาทางชีวเคมีในยุงลาย *Ae. aegypti* ก่อนที่จะได้รับน้ำมันหอมระเหยเทียนเยาวพาณี พบว่า ยุงลายสายพันธุ์ PMD-R และ UPK-R ที่ดื้อต่อสารไพรีทรอยด์จะมีระดับเอนไซม์ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกำจัดสารพิษ (Detoxification enzymes) ได้แก่ เอนไซม์ glutathione-S-transferases (GSTs), α/β esterases และ acid/alkaline phosphatases (ACP/ALK) สูงกว่าในยุงลายสายพันธุ์ MCM-S ที่มีความไวต่อสารไพรีทรอยด์ อย่างไรก็ตามพบว่าเอนไซม์ acetylcholinesterase (AChE) ที่มีบทบาทสำคัญมากเกี่ยวกับการส่งกระแสประสาทจะมีระดับไม่แตกต่างกันทางสถิติในยุงทั้ง 2 กลุ่มนี้ การศึกษาระดับการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ในยุงที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยเทียนเยาวพาณีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากระดับเอนไซม์ในยุงกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับน้ำมันหอมระเหยเทียนเยาวพาณี โดยทั้งในระยะลูกน้ำและตัวเต็มวัยของยุงลาย *Ae. aegypti* ทุกสายพันธุ์ที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยเทียนเยาวพาณีจะมีระดับเอนไซม์ GSTs, α/β carboxylesterases และ ACP/ALK เพิ่มมากขึ้น หรือมีระดับเอนไซม์ AChE ลดลง ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี gas chromatography/mass spectrometry พบว่าน้ำมันหอมระเหยเทียนเยาวพาณีมีสารประกอบทั้งหมด 19 ชนิด คิดเป็น 98.25% ขององค์ประกอบทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ในน้ำมันหอมระเหย โดยมีองค์ประกอบหลักทางเคมี ได้แก่ thymol (42.41 %), *p*-cymene (27.71 %) และ γ-terpinene (20.98 %)

การศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการฆ่ายุงทั้งระยะลูกน้ำและตัวเต็มวัยของผลิตภัณฑ์จากพืชต่อยุงลาย *Ae. aegypti* ทั้งสายพันธุ์ที่มีความไวและสายพันธุ์ที่ดื้อต่อสารไพรี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทรอยด์ โดยความสำเร็จดังกล่าวนี้ได้สะท้อนให้เห็นถึงศักยภาพของน้ำมันหอมระเหย โดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยเทียนเยาวพาณีที่สามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำไปพัฒนาเป็นสารฆ่าลูกน้ำและสารฆ่าตัวเต็มวัยเพื่อใช้สำหรับจัดการกับยุงพาหะนำโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประชากรยุงที่ดื้อต่อสารฆ่าแมลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Dissertation Title	Effects of Botanical Extracts on Physical and Biochemical Changes in the Pyrethroid Susceptible and Resistant Strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)	
Author	Miss Jitrawadee Intirach	
Degree	Doctor of Philosophy (Parasitology)	
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Anuluck Junkum	Advisor
	Assoc. Prof. Dr. Udom Chaithong	Co-advisor
	Assoc. Prof. Dr. Atchariya Jitpakdee	Co-advisor
	Asst. Prof. Dr. Doungrat Riyong	Co-advisor
	Dr. Nongkran Lumjuan	Co-advisor

ABSTRACT

Preliminary screening for the larvicidal activity of 17 plant species extracted by steam distillation and solvent maceration demonstrated varying efficacy against *Aedes aegypti*, Muang Chiang Mai-susceptible (MCM-S) strain, with larval mortality ranging from 0 to 100%. A dose-response larvicidal bioassay of seven effective extracts established *Petroselinum crispum* fruit oil as being the most effective against MCM-S *Ae. aegypti*, followed by oils of *Foeniculum vulgare*, *Myristica fragrans*, *Limnophila aromatica*, *Piper sarmentosum*, *Curcuma longa*, and *M. fragrans* ethanolic extract, with LC_{50} values of 43.22, 44.84, 47.42, 47.94, 49.19, 65.51, and 75.45 ppm, respectively. The essential oil of *P. crispum* was then investigated further, and it proved to be a promising larvicide and adulticide against all strains of *Ae. aegypti*. High susceptibility to *P. crispum* oil was observed in the larvae and adults of MCM-S, which are pyrethroid-susceptible *Ae. aegypti*, and comparable to pyrethroid-resistant, Pang Mai Dang-resistant (PMD-R) and Upakut-resistant (UPK-R) strains.

Investigation of mosquitocidal actions by observing the behavioral and morphological changes of *P. crispum* oil-treated organisms under light and scanning

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

electron microscopes revealed that the treated larvae and adults of MCM-S, PMD-R, and UPK- R showed similar abnormal behavior such as excitation, restlessness, paralysis, and death. Determination of the morphological changes in the larvae demonstrated that most organs, except anal gills, were normal in structure. The shrunken and collapsed anal gills were observed remarkably in the *P. crispum* oil-treated larvae of all of the mosquito strains, whereas the treated adults showed normal appearance in color, shape, and size, with no abnormality of external structures such as the head, thorax, or abdomen.

Biochemical study of *Ae. aegypti* mosquitoes prior to treatment with *P. crispum* oil revealed higher levels of some important detoxifying enzymes in resistant UPK-R and PMD-R, such as glutathione-S-transferases (GSTs), α/β esterases, and acid/ alkaline phosphatases (ACP/ALK) than in susceptible MCM-S. However, the activity level of acetylcholinesterase (AChE), which plays a very important role in nerve signal transmission, was not significantly different between the resistant and susceptible strains. After exposure to *P. crispum* oil for 24 h, altered levels of enzyme activity, which either increased GSTs, α/β carboxylesterases, and ACP/ALK activity or decreased AChE activity, were detected in all strains of larval and adult of *Ae. aegypti*. Chemical analysis of *P. crispum* oil, using gas chromatography/mass spectrometry, revealed that 19 compounds, accounted for 98.25 % of whole oil, with the main constituents being thymol (42.41 %), *p*-cymene (27.71 %), and γ-terpinene (20.98 %).

This study demonstrated the potential mosquitocidal efficacy of plant-derived products against the larvae and adults of pyrethroid-susceptible and resistant *Ae. aegypti*. The successful results demonstrated herein may reflect the potential of essential oils, specifically *P. crispum* oil, as an alternative for further development of larvicides and adulticides in the management of mosquito vectors, particularly insecticide resistant populations.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved