

เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* หรือเชื้อราเขียว (green muscardine fungi) เป็นเชื้อราสาเหตุโรคในแมลง พบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในดิน และแมลง ถูกนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยชีววิธี (biological control) เพื่อลดการใช้สารเคมีที่มีผลกระทบต่อสุขภาพทั้งของเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค รวมทั้งสิ่งแวดล้อม ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากเส้นใยของ *M. anisopliae* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose broth (PDB) จำนวน 4 ไอโซเลต (MA 001, MA 017, MA 019 และ SNB 03) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล ตามลำดับ

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ 4 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT-29) เซลล์ไตลิง (Vero) และ เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในหนู (P388) ด้วยวิธี MTT assay โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหาร RPMI ที่มี Fetal Bovine Serum (FBS) 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในตู้ที่ควบคุมคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ศึกษาอัตราการรอดของเซลล์ภายใน 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (125, 250, 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$) พบว่าสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ P388 มากที่สุด โดยความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ชนิด P388 ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในไอโซเลต MA 001, MA 017, MA 019 และ SNB 03 เท่ากับ 172.406, 284.450, 390.453 และ 770.076 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และไม่แสดงความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมในเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองในระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ

สูงสุด คือ 80 µg/ml และเมื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบต่อเชื้อจุลินทรีย์ 6 ชนิด ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าเฉพาะสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทที่แสดงฤทธิ์ต้านทานต่อเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Micrococcus luteus* ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 1000 µg/ml โดยพบสารที่เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่จากสารสกัดหยาบที่วิเคราะห์โดย GC-MS คือ Hexadecanoic acid, 9, 12-Octadecanoic acid และ 9-Octadecanoic acid

ABSTRACT

241739

Metarhizium anisopliae or green muscardine fungus is entomopathogenic fungi that found in soil and insects. *M. anisopliae* are used as a biological control in order to reduce chemicals which are injurious to the health of farmers and consumers as well as environment. In this study, chemical constituents and biological activities of crude extracts from 4 isolates (MA 001, MA 017, MA 019 and SNB 03) of *M. anisopliae* were investigated. Hexane, ethyl acetate and methanol extracts prepared from mycelium that grown on potato dextrose broth (PDB).

The cytotoxicity of the crude extracts was tested against for four cell lines: breast cancer cells (MCF-7), colorectal cancer cells (HT-29), monkey kidney cells (Vero cell) and leukemia cell in rats (P388) in culture using the MTT assay. Cell lines were grown in RPMI enriched with 10% (v/v) fetal bovine serum (FBS) at 37°C in humidified air containing 5% CO₂. The results obtained for cell viability after 24 of exposure to different concentrations crude extracts (125, 250, 500, 1000 and 2000 µg/ml). The cytotoxicity in P388 of ethyl acetate extract of MA 001, MA 017, MA 019 and SNB 03 were observed with the CC₅₀ values (50% Cytotoxicity Concentration) of 172.406, 284.450, 390.453 and 770.076 µg/ml., respectively. No genotoxic activity was observed in human lymphocytes cell culture at maximum concentration (80µg/ml). Crude extracts were tested against 6 pathogenic using disc diffusion methods. The ethyl acetate crude extract inhibited *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus* at concentrations greater than 1000 µg/ml. The mostly chemical constituents from crude extracts that analyzed by GC-MS were Hexadecanoic acid, 9, 12-Octadecanoic acid and 9-Octadecanoic acid.