บทที่ 6
ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาในครั้งนี้มีข้อควรระมัดระวังในการวิจัยและมีประเด็นที่น่าสนใจและสมควรที่จะต้องศึกษาวิจัยต่อไปดังนี้

1. ในการแยกหาเชื้อ *Metarhizium* spp. จากตัวอย่างดินด้วยวิธี baiting technique โดยใช้หนอนนก (yellow mealworm; *Tenebrio molitor*) เป็นเหยื่อล่อ เป็นวิธีหนึ่งที่เหมาะสม ในการคัดแยกเชื้อราก่อโรคแมลงที่อยู่ในดิน แต่หากไม่แยกเชื้อบริสุทธิ์โดยทันทีหลังพบการตายของหนอนนก หรือเก็บรักษาซากหนอกนกไว้นานเกินไป จะทำให้แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ยากขึ้น รวมทั้งมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ

2. การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสทั้ง 2 รูปแบบ (แบบกึ่งปริมาณและเชิงปริมาณ) จะต้องชั่ง ตวง และผสมสารที่ใช้ในการทดสอบให้ได้มาตรฐานเดียวกัน อีกทั้งในการผสมสารนั้นจะต้องผสมสารละลายให้เข้ากันดี เพื่อลดข้อผิดพลาดที่อาจเกิดในการทดลองลง รวมทั้งต้องคำนึงถึงสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสด้วย เช่น อุณหภูมิ และ pH เป็นต้น รวมทั้งการเก็บรักษา culture filtrate ที่ -20 องศาเซลเซียส ไม่ละลายและแช่แข็งใหม่ซ้ำอีก เพื่อลดอัตราการเสื่อมสภาพของโปรตีน

3. การเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสทั้งในแบบกึ่งปริมาณและเชิงปริมาณนั้น จำเป็นต้องใช้ culture filtrate ที่เตรียมได้ชุดเดียวกันเพื่อความแม่นยำของข้อมูล อีกทั้งเพื่อการประเมินถึงความสอดคล้องของวิธีตรวจหากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสทั้งสองรูปแบบ

4. การทดสอบถึงประสิทธิภาพในการทำลายแมลงของเชื้อ *Metarhizium* spp. ที่แยกได้นั้น แม้จะพบว่าสามารถทำลายแมลงที่ทดสอบได้สูง แต่ในการนำมาประยุกต์ใช้นั้น จำเป็นต้องมีการทดสอบกับแมลงเฉพาะชนิดก่อนทุกครั้ง ทั้งนี้เพราะแมลงต่างชนิดกันมีการตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อไอโซเลตเดียวกันได้ไม่เท่ากัน

5. ในการตรวจสอบการสร้างสารพิษ destruxin นั้นควรใช้ destruxin มาตรฐานมาเปรียบเทียบกับการตรวจสอบสารพิษจากเชื้อรา *Metarhizium* spp. ด้วย เพื่อให้ผลการตรวจสอบมีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น สารพิษ destruxin นี้สมควรที่จะได้ทดสอบถึงประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงและศึกษาวิธีการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

6. การโคลนสามารถเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน *pr1* ของเชื้อรา *Metarhizium* spp. ไอโซเลต Lop2/2 ซึ่งมีขนาดประมาณ 1,500 คู่เบสได้ และในขั้นตอนการโคลนยีนนั้นการทำ

ผลิตภัณฑ์ PCR ให้บริสุทธิ์มีผลต่อประสิทธิภาพในการโคลนยีน ดังนั้นการใช้ชุดทดสอบ (Kit) สำหรับการทำผลิตภัณฑ์ PCR ให้บริสุทธิ์ จึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการโคลนยีน ส่วนขั้นตอนการส่งถ่ายรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย *Escherichia coli* ก็เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญด้วยเช่นกัน ประสิทธิภาพของการส่งถ่ายนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ปริมาณ recombinant plasmid จะต้องมีจำนวนมากเพียงพอ, ขนาดและรูปร่างของพลาสมิด โดยพลาสมิดขนาดเล็กจะเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่าขนาดใหญ่ หากขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ต้องการมีมากกว่า 15 กิโลเบส ควรใช้พาหะชนิดอื่นที่เหมาะสม เช่น lamda phage หรือ cosmid เป็นต้น สำหรับระยะของเซลล์แบคทีเรียที่จะนำมาทำเป็นคอมพีเทนต์เซลล์นั้น ควรเป็นเซลล์ที่มีการเจริญอยู่ในระยะ log phase จึงจะเหมาะสม