# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

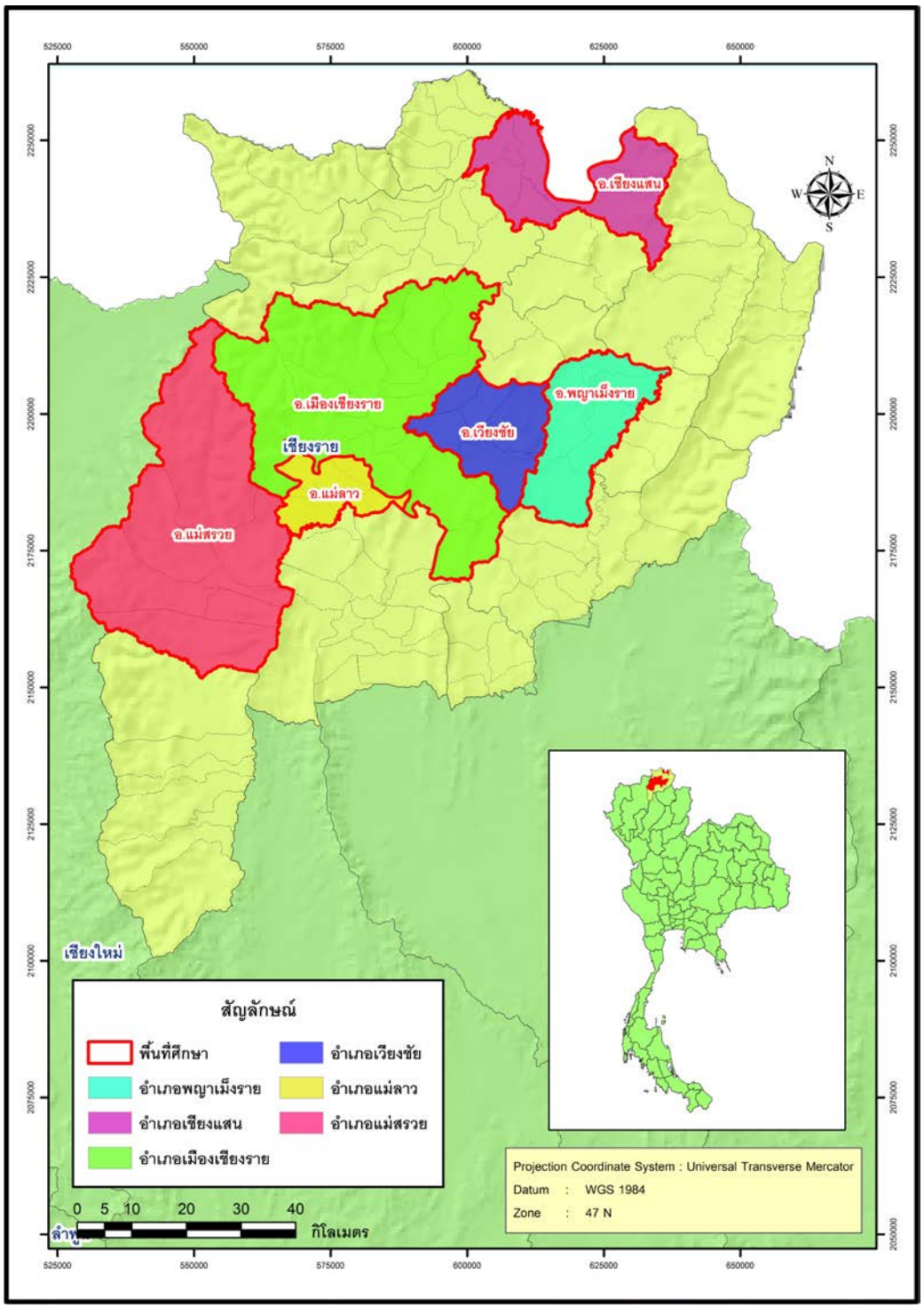
## 3.1 การรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนศัตรูผักที่พบว่าติดเชื้อ *Pandora neoaphidis* ในสภาพแปลงเกษตรกร

การเก็บรวบรวมตัวอย่าง และประเมินประชากรเพลี้ยอ่อนที่ถูกทำลายโดยเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง (entomopathogens) *P. neoaphidis* ในสภาพแปลงเกษตร รวมทั้งการประเมินเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราสาเหตุโรคแมลงเหล่านั้น ในสภาพธรรมชาติ ในพื้นที่สามจังหวัดภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ซึ่งได้แก่ อำเภอเชียงแสน พระยาเม็งราย เวียงชัย เมืองเชียงราย แม่ลาว และแม่สรวย จังหวัดเชียงราย (ภาพที่ 3.1) อำเภอสะเมิง แม่ริม แม่แตง ดอยสะเก็ด สันทราย สารภี และ จอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ (ภาพที่ 3.2) อำเภอบ้านธิ เมืองลำพูน ป่าซาง แม่ทา เวียงหนองล่อง และ ลี้ จังหวัดลำพูน (ภาพที่ 3.3) เดือนละ 1-2 ครั้ง โดยกำหนดชนิดพืช เป็น พืชผักวงศ์กะหล่ำ (Cruciferae) เช่น คะน้า กะหล่ำ กวางตุ้ง วงศ์ Solanaceae เช่น พริก และมะเขือชนิดต่าง ๆ และวงศ์ถั่ว (Leguminoceae) เช่น ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม ที่มีรายงานอ้างว่าพบการทำลายโดยเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) และเพลี้ยอ่อนกลุ่มที่ทำลายพืชผักในวงศ์ถั่ว (*Aphis craccivora* หรือ *Aphis fabae*) ชนิดนี้ จำนวน 6 จุดต่อจังหวัด โดยแต่ละจุดขนาดไม่เกินจุดละ 1,600 ตารางเมตร พื้นที่ขนาดไม่เกินจุดละ 400 ตารางวา จำนวน 6 จุดต่อจังหวัด โดยสุ่มตรวจสอบเพลี้ยอ่อนที่ตายจากการติดเชื้อรา 100 หน่วย (ต้น/แปลงย่อย) เดือนละ 1 ครั้งต่อพื้นที่ เดือนละหนึ่งครั้ง ตามวิธีของ Steinhaus (1967), Poinar and Thomas (1984) และ Tanada and Kaya (1993) ระหว่างการสำรวจ ณ แต่ละจุดสำรวจรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนศัตรูผักที่พบว่าติดเชื้อ *P. neoaphidis* จากการสุ่มเก็บใบพืชที่ถูกเพลี้ยไฟทำลายแบบสุ่มกระจาย (random sampling) จำนวน 10 ตัวอย่างแต่จุด (50 ใบ และ/หรือ ชิ้นพืชต่อตัวอย่าง) ตรวจสอบลักษณะอาการของเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ ซึ่งสามารถสังเกตได้โดยการที่เพลี้ยอ่อนตายเกาะนิ่งบนใบพืช และปกคลุมด้วยเส้นใย และ/หรือ สปอร์ของเชื้อรา ซึ่งมีสีส้ม (ภาพที่ 3.4) หลังจากบันทึกข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนทั้งหมด เพลี้ยอ่อนที่เป็นโรค และคำนวณเปอร์เซ็นต์การก่อโรคของเชื้อรา เพื่อการนำนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์เพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดที่ติดเชื้อ จากแต่ละพื้นที่ มาหาค่าเฉลี่ยของแต่ละเดือน และนำมาแสดงผลเป็นพลศาสตร์ประชากรเพลี้ยอ่อนในเป้าหมายแต่ละชนิดและเชื้อรา *P. neoaphidis* ในรอบหนึ่งปี ตามวิธีของ Dent and Walton (1997) จากสูตร

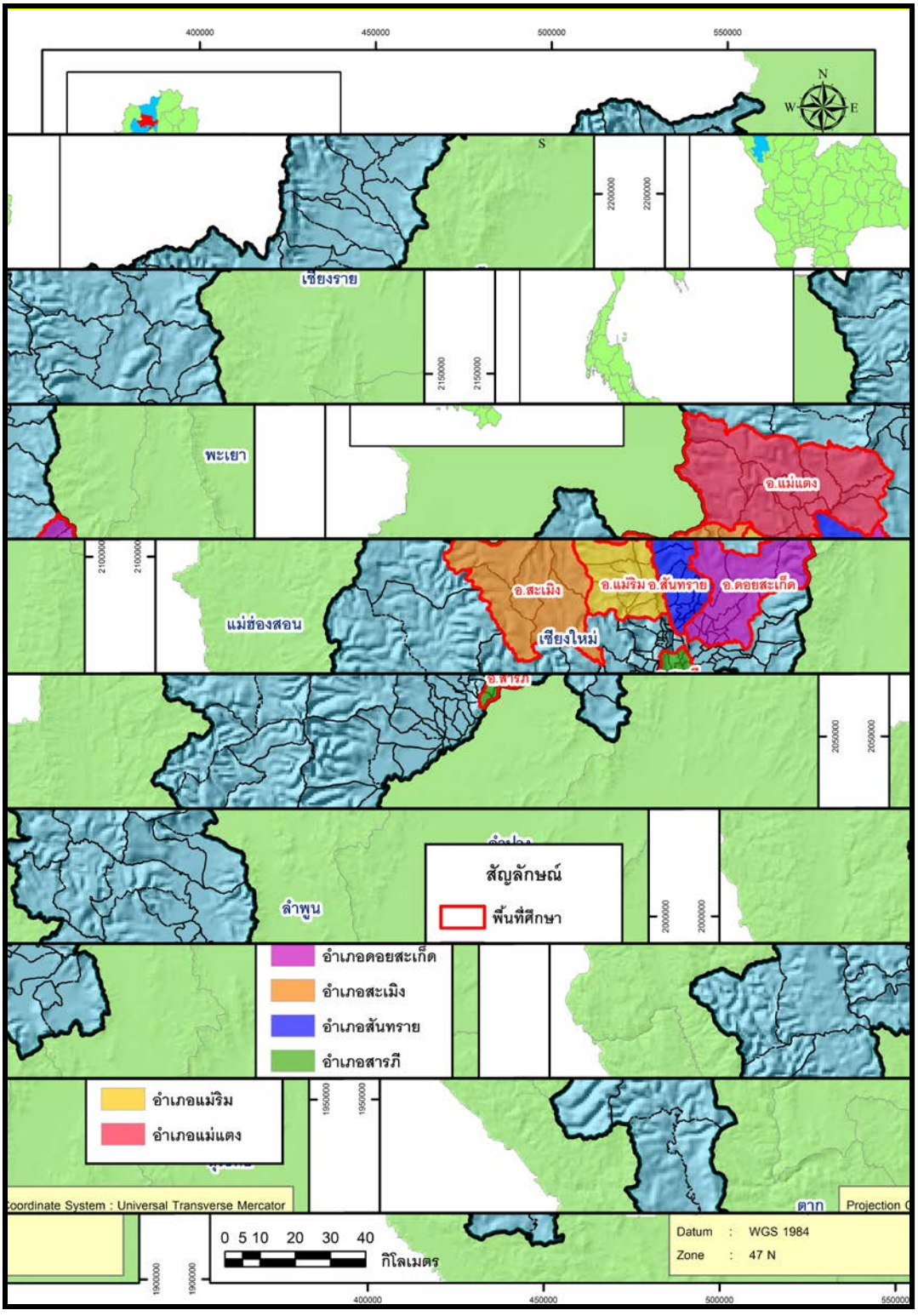
$$\text{เปอร์เซ็นต์เพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อรา} = \frac{\text{จำนวนเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อรา } \textit{P. neoaphidis} \times 100}{\text{จำนวนเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดทั้งหมดที่พบแต่ละต้น}}$$

นำแต่ละตัวอย่างใส่กล่องพลาสติกใส ขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 18 x 18 x 12 เซนติเมตรที่ปูด้วยกระดาษทิชชูซึ่งใช้สำหรับงานครัว (towel) สีขาว และนำกล่องพลาสติกดังกล่าวใส่ภาชนะให้ความเย็น (cooler) ซึ่งบรรจุน้ำแข็งแห้งสำเร็จรูปในภาชนะบรรจุ (dry ice) เพื่อให้ความ

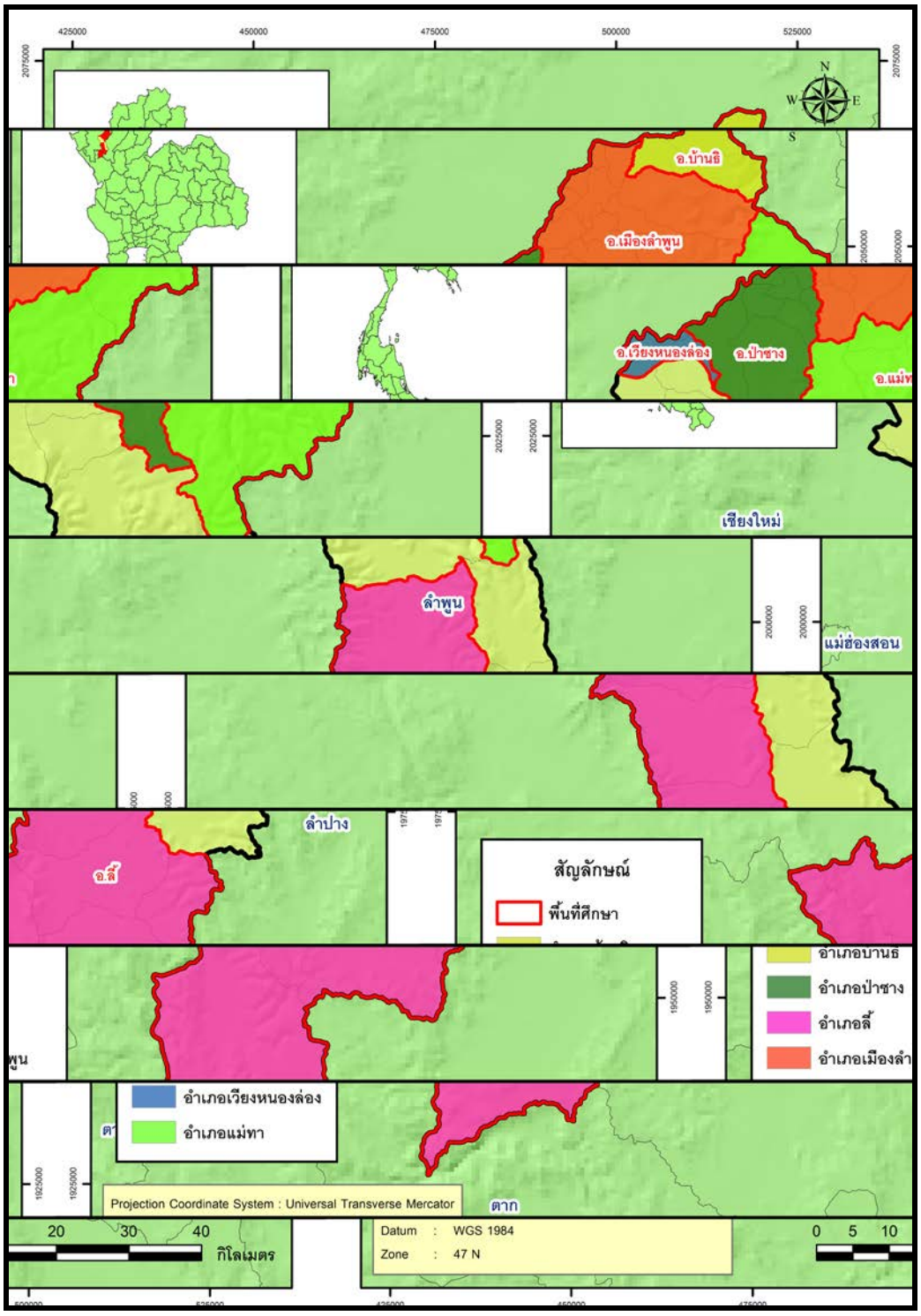
เย็น เพื่อนำตัวอย่างมาศึกษา ณ ห้องปฏิบัติการด้านการควบคุมโดยชีววิธี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (MJU Biological Control Laboratory – MJU-BCL) และตรวจสอบโดยเริ่มจากนำตัวอย่างที่เก็บจากภาคสนามมาเก็บในตู้ให้ความเย็น (Mirage รุ่น F2-269 ซันโย ยูนิเวอร์แซลอิเล็กทริค ประเทศไทย) ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป




**ภาพที่ 3.1** แผนที่พื้นที่ศึกษา ในจังหวัดเชียงราย ได้แก่ใน อำเภอเชียงแสน พระยาเม็งราย เวียงชัย เมืองเชียงราย แม่ลาว และ แม่สรวย ซึ่งทำการสำรวจ รวบรวม และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่พบทำลายเพลี้ยไฟแปลงปลูกพืชซึ่งมีการระบาดของเพลี้ยไฟพริก ในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2556 ถึง มีนาคม 2557 (ที่มา: รุ่งเกียรติ และ ศมาพร, 2559)




**ภาพที่ 3.2** แผนที่พื้นที่ศึกษา ในจังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่อำเภอสะเมิง แม่ริม แม่แตง ดอยสะเก็ด สันทราย และ สารภี ที่ได้ทำการสำรวจ รวบรวม และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่พบทำลายเพลี้ยไฟแปลงปลูกพืชซึ่งมีการระบาดของเพลี้ยไฟพริก ในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2556 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2557 (ที่มา: รุ่งเกียรติ และ ศมาพร, 2559)




**ภาพที่ 3.3** แผนที่พื้นที่ศึกษา ในจังหวัดลำพูนได้แก่ อำเภอบ้านธิ เมืองลำพูน ป่าซาง แม่ทา เวียงหนองล่อง และ ลี้ ซึ่งทำการสำรวจ รวบรวม และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ที่พบทำลายเพลี้ยไฟแปลงปลูกพืชซึ่งมีการระบาดของเพลี้ยไฟพริกในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2556 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2557 (ที่มา: รุ่งเกียรติ และ ศมาพร, 2559)

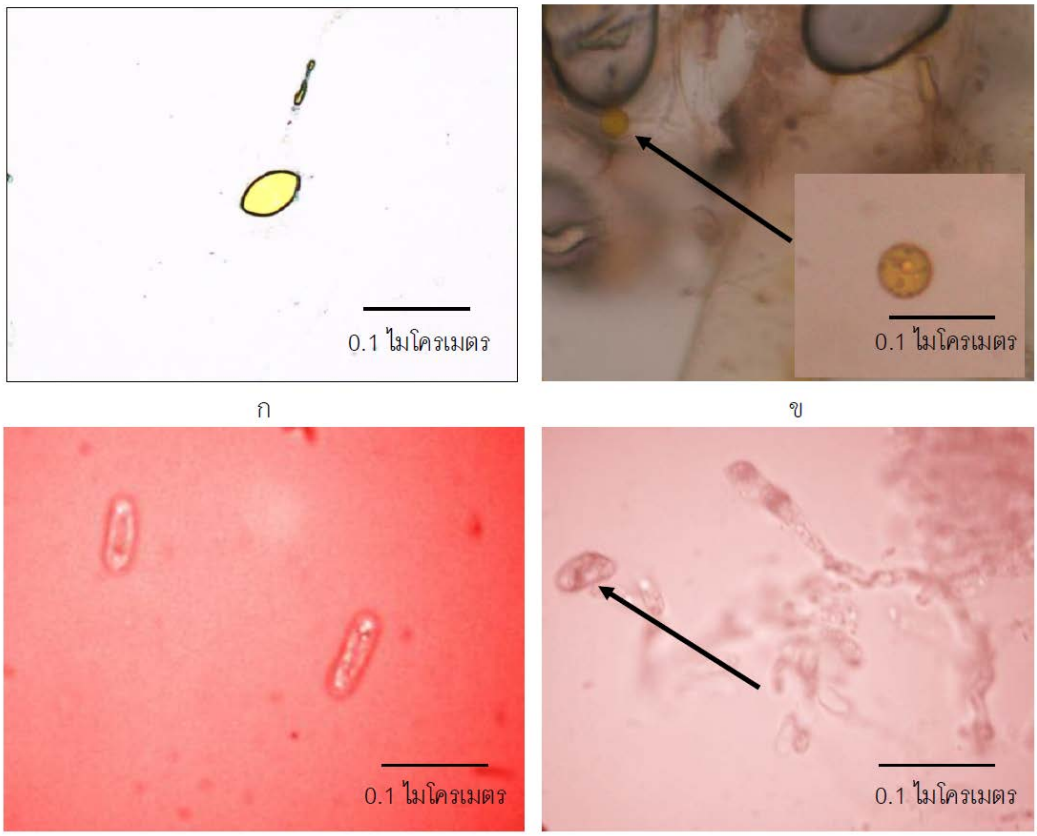
ก

ข

**ภาพที่ 3.4** ลักษณะอ้างอิงของเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ และสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* (ที่มา: รุ่งเกียรติ และ ศมาพร, 2556)

### 3.2 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ จำแนกชนิด ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และเพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. neoaphidis*

แยกเชื้อบริสุทธิ์ จำแนกชนิด ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และเพาะเลี้ยงเชื้อ ตามวิธีของรุ่งเกียรติ และ คณะ, 2557ก.) กล่าวคือการนำเพลี้ยอ่อนที่ติดเชื้อ *P. neoaphidis* มาเตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อราโดยวิธี Dilution plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) และ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) และเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar Supplemented with Yeast Extract (SDAY) บ่มจานอาหารดังกล่าวในสภาพอุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 $\pm$ 10 เปอร์เซ็นต์ และสภาพแสง: มืด เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง และ สังเกตได้จากมีลักษณะสีขาว และเปลี่ยนเป็นสีขาวอมส้ม เส้นใยไม่ฟู ร่วมกับการนำสปอร์จากโคโลนีดังกล่าวไปตรวจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยนำแขวนลอยดังกล่าวมาหยดลงบนแผ่นสไลด์ และตรวจความหลากหลายของรูปร่างและขนาดสปอร์ ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope ที่กำลังขยาย 10 – 40X โดยตรวจไฮโซเลทละ 3 ซ้ำ บันทึกขนาดลักษณะการเกิดเส้นใยบนตัวแมลง สีของเส้นใย และรูปร่างของสปอร์ของเชื้อที่พบ โดยสังเกตจากลักษณะ สปอร์ของเชื้อรานี้มีลักษณะใส มีรูปร่างหลากหลาย รูปร่างกลม ไปจนถึงแบบผลมะนาว ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 8-10 ไมโครเมตร (ภาพที่ 3.4)




**ภาพที่ 3.5** ความหลากหลากหลายของรูปร่างสปอร์ของเชื้อรา *Pandora neoaphidis* ซึ่งมี 4 รูปแบบได้แก่ รูปผลมะนาว (ก.) รูปหัวท้ายมน (ข.) รูปกลม (ค.) และ กลุ่มที่มีรูปร่างไม่แน่นอน (ง.) (ที่มา: รุ่งเกียรติ และ คณะ, 2557)

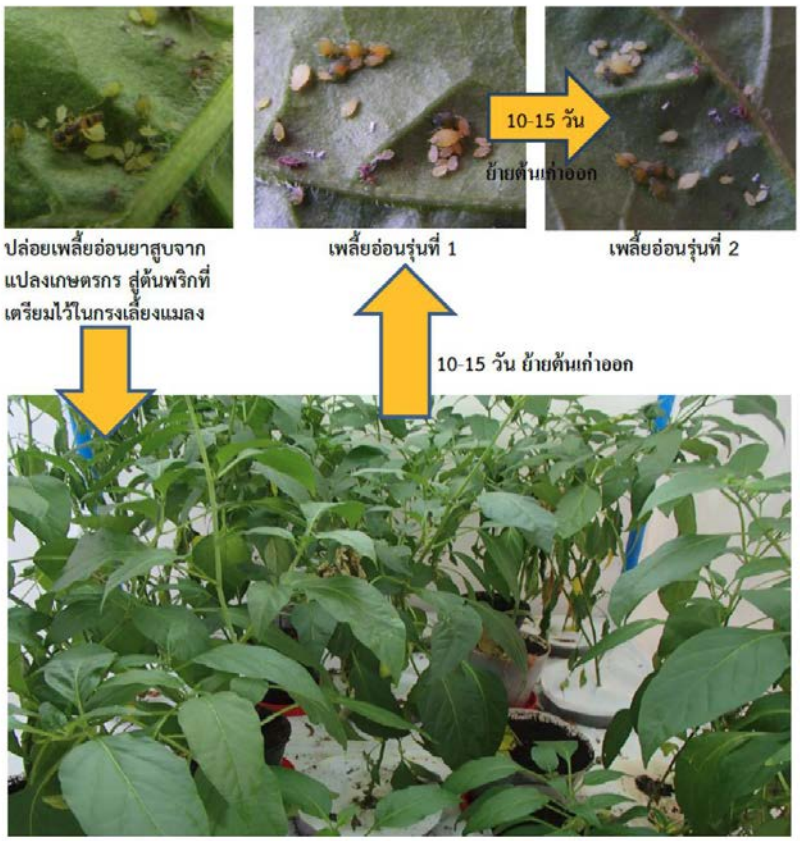
เพิ่มปริมาณของเชื้อรา *P. neoaphidis* แต่ละไอโซเลทซ์ เพื่อนำไปใช้สำหรับการประเมินความรุนแรงในระดับห้องปฏิบัติการตามวิธีของ รุ่งเกียรติ และ ศมาพร (2557) เพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 บนวัสดุเพาะคือเมล็ดข้าวฟ่าง โดยเริ่มจากเตรียมข้าวฟ่าง โดยการนึ่งให้สุกเพียง 50 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาเกลี่ยให้เย็นในถาดซึ่งสานด้วยไม้ไผ่เพื่อลดความชื้นส่วนเกิน เติม Sabouraud Dextrose Broth (SDB) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักข้าวทุก 150 กรัม นำวัสดุเพาะแต่ละชนิดมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณ 25 กรัมต่อจาน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ระดับอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และนำออกมาผึ่งให้เย็นในสภาพอุณหภูมิห้อง ย้ายเชื้อบริสุทธิ์มาวางบนอาหาร SDAY หลังจากเชื้ออายุ 10 วัน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้ออยู่ มาวางในจานวัสดุเพาะที่เตรียมไว้ วางบนชั้น ในสภาพอุณหภูมิ $20 \pm 2$ องศาเซลเซียส ในสภาพมืด ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ จนกว่าจะพบว่าเส้นใย และสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* เจริญจนเต็มวัสดุเพาะ จึงนำไปเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ เพื่อการทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับเพลี้ยอ่อนต่อไป

**3.3 การคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ที่เหมาะสมกับการควบคุมเพลี้ยอ่อนชนิดในเป้าหมายแต่ละชนิดในระดับห้องปฏิบัติการ**

การเตรียมประชากร และ/หรือ หน่วยทดลอง

เพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) โดยเริ่มจากเตรียมต้นพริกมาเพาะในกระถางพลาสติกขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง x สูง เท่ากับ 15 x 10 เซนติเมตร ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 50 x 50 เซนติเมตร และให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ขนาด 14 วัตต์ ในช่วงแสง:มืด เท่ากับ 14: 8 ชั่วโมง เพื่อให้ต้นพริกมีการเจริญเติบโตทางใบ สำหรับการใช้เพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนยาสูบต่อไป โดยการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนดังกล่าวจากแปลงเกษตรโดยเก็บใบพริก มันฝรั่ง หรือมะเขือเทศ ที่มีวัยต่างๆ ของเพลี้ยอ่อนทำลายอยู่มาวางบนต้นพริกที่เตรียมไว้ และปล่อยให้เพลี้ยอ่อนยาสูบขยายพันธุ์ 1-2 รุ่น (เพลี้ยอ่อนจะใช้เวลา 10-15 วันสำหรับการขยายพันธุ์ต่อรุ่น) โดยสังเกตจากการพบกลุ่มตัวอ่อนระยะที่ 1-2 ของเพลี้ยอ่อนบนต้นพริกต้นใหม่ (รุ่นที่ 1) จากนั้นย้ายต้นพริกที่เริ่มปล่อยเพลี้ยอ่อนครั้งแรกออกจากกรง และนำพริกต้นใหม่วางในกรงเลี้ยงเพื่อให้มีเพลี้ยอ่อนรุ่นที่สองต่อไป (ภาพที่ 3.5)

เตรียมเพลี้ยอ่อนผักตามวิธีของ รุ่งเกียรติ และ ศมาพร (2557) โดยเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนผัก (*Lipaphis erysimi*) ให้ปลอดเชื้อโดยเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนดังกล่าวจากแปลงเกษตรโดยเก็บใบผักคะน้า และ กะหล่ำ ที่มีวัยต่างๆ ของเพลี้ยอ่อนทำลายอยู่ มาวางบนต้นคะน้า (อายุ 30 วัน) ที่เตรียมไว้ในกระถางปลูกในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 50 x 50 x 50 เซนติเมตร ในเรือนทดลอง กรงละ 1 ต้น และปล่อยให้เพลี้ยอ่อนดังกล่าวขยายพันธุ์ 1-2 รุ่น (20-30วัน) โดยสังเกตจากการพบกลุ่มตัวอ่อนระยะที่ 1-2 ของเพลี้ยอ่อนบนต้นผักต้นใหม่ (รุ่นที่ 1) จากนั้นย้ายต้นผักที่เริ่มปล่อยเพลี้ยอ่อนครั้งแรกออกจากโรงเรือน จากนั้นนำต้นผักต้นใหม่มาวางในกรงเลี้ยงเพื่อให้มีเพลี้ยอ่อนรุ่นที่สองต่อไป




**ภาพที่ 3.6** ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ต้นพริก (ที่มา: รุ่งเกียรติ และ ศมาพร, 2557ข.)

เพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis fabae* และ/หรือ *A. craccivora*) โดยเริ่มจากเตรียมต้นถั่วฝักยาวมาเพาะในกระถางพลาสติกขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง x สูง เท่ากับ 15 x 10 เซนติเมตร ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 50 x 50 x 50 เซนติเมตร และให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ขนาด 14 วัตต์ ในช่วงแสง:มืด เท่ากับ 16: 8 ชั่วโมง เพื่อให้ต้นถั่ว มีการเจริญเติบโตทางใบสำหรับการใช้เพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนถั่ว ต่อไป โดยการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนดังกล่าวจากแปลงเกษตรโดยเก็บใบถั่วฝักยาว และหรือใบถั่วเหลือง ที่มีวัยต่างๆ ของเพลี้ยอ่อนเหล่านี้ทำลายอยู่มาวางบนต้นถั่วที่เตรียมไว้ และปล่อยให้เพลี้ยอ่อนถั่วขยายพันธุ์ 1-2 รุ่น (เพลี้ยอ่อนจะใช้เวลา 10-15 วันสำหรับการขยายพันธุ์ต่อรุ่น) โดยสังเกตจากการพบกลุ่มตัวอ่อนระยะที่ 1-2 ของเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วต้นใหม่ (รุ่นที่ 1) จากนั้นย้ายต้นถั่วที่เริ่มปล่อยเพลี้ยอ่อนครั้งแรกออกจากกรง และนำถั่วฝักยาวต้นใหม่วางในกรงเลี้ยงเพื่อให้มีเพลี้ยอ่อนรุ่นที่สองต่อไป

เตรียมสารละลายสปอร์ของเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 ซึ่งเพาะเลี้ยงได้จากอาหารเทียมแต่ละชนิด โดยขูดสปอร์จากผิวอาหารเลี้ยงเชื้อมาละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ นับจำนวนสปอร์โดยใช้เครื่องนับจำนวนสปอร์ Neybauer

Hemocytometer และปรับความเข้มข้นของสปอร์ $10^{10}$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามวิธีของ Poinar and Thomas (1984) โดยใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่มีสารจับใบ Tween 20 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลายปลูกเชื้อรา *P. neoaphidis* ไอโซเลท Pd105 โดยใช้สารแขวนลอยสปอร์ที่ได้จากเชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียมชนิดต่างๆ กับเพลี้ยอ่อนที่เตรียมไว้ โดยนำต้นพืช (พริกในกรณีทดสอบกับเพลี้ยอ่อนยาสูบ คะน้าในกรณีทำการทดสอบเพลี้ยอ่อนผัก และ ถั่วฝักยาวหากเป็นเพลี้ยอ่อนถั่ว) มีเพลี้ยอ่อนรุ่นที่สอง ที่เพาะเลี้ยงไว้มาตัดใบที่มีกลุ่มของเพลี้ยอ่อนที่ต้องการทดสอบอยู่จำนวนหนึ่งใบ ใช้พู่กันเบอร์ 2 เขี่ยเพลี้ยอ่อนออกจนเหลือ 50 ตัวต่อใบ วางใบพืชที่มีเพลี้ยอ่อนในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่ปูด้วยกระดาษกรอง (No.1) ชุ่มน้ำเพื่อให้มีระดับความชื้นสัมพันธ์ประมาณ 80 - 90 เปอร์เซ็นต์ และพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ความเข้มข้น $10^{10}$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) โดยมีวิธีควบคุม (control) คือการพ่นน้ำกลั่นผสม Tween 20 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์) หลังจากการปลูกเชื้อแล้ว วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อในสภาพอุณหภูมิ 20 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพมืด และบันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนที่ตาย และ ที่มีชีวิตอยู่ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง (รุ่งเกียรติ และ ศมาพร, 2557)

การเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการรวบรวมข้อมูลและคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Percent Cumulative Mortality – PCM) ของแมลงที่ทดสอบโดยนำข้อมูลการตายมาปรับเป็นค่าการตายที่ถูกต้อง (corrected control mortality) ตามขบวนการทางพิษวิทยาโดยใช้ Abbott's Correction Formula (Abbott, 1925, p. 265-267) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ตายของแมลงที่ทดสอบ} = \frac{\%\text{การตายของแมลงที่ได้รับเชื้อ} - \%\text{ ตายของแมลงที่ไม่ได้รับเชื้อ X100}}{\%\text{การตายของแมลงที่ไม่ได้รับเชื้อ X100}}$$

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำซ้ำวิธีการทดลองละ 5 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของเพลี้ยอ่อนในเวลาที่กำหนดที่วัดได้จากทั้งสองการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อหานัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ และหากพบนัยสำคัญ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Gomez & Gomez, 1984; Snedecor & Cochran,1989)

3.4 เครื่องมือในการวิจัยและการตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

ตู้สำหรับเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ (Laminar flow) ที่มีการรับรองมาตรฐานตามมาตรฐานของ NSF ได้แก่ การทดสอบความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน โดยวัดปริมาณของสปอร์ของแบคทีเรียที่ออกมาจากพื้นที่การทำงานภายในตู้สู่สิ่งแวดล้อม ทดสอบความปลอดภัยของชิ้นงาน โดยวัดปริมาณของสปอร์ของแบคทีเรียภายนอกที่เข้ามาในพื้นที่การทำงานภายในตู้ และ ทดสอบการป้องกันการเกิด cross contamination โดยวัดปริมาณสปอร์ของแบคทีเรียที่ตกค้างภายในตู้หลังจากการทำงานรวมทั้งการทดสอบต่างๆนี้จะวัดทั้งความเร็วของการไหลเวียนอากาศภายในและภายนอกตู้ วัดความเร็วของอากาศที่หมุนเวียนในห้องปฏิบัติการ ทดสอบ

การรั่วของแผ่นกรอง HEPA นอกจากนี้ยังทดสอบไปถึง การสั่นและความดังของตู้ขณะทำงาน และวัดปริมาณความเข้มแสงในห้องปฏิบัติงาน โดยช่างดูแลอุปกรณ์

หม้อนึ่งความดันไปน้ำ (Tomy autoclave SS-320, Tomy Seiko Co. Ltd., Japan) ซึ่งได้รับการประกันคุณภาพและบำรุงรักษาจากบริษัทผู้จำหน่าย ผู้เชี่ยวชาญ หรือผู้ผลิต ได้แก่ (1) ตัวบ่งชี้ทางกายภาพ ประกอบไปด้วย โลหะอัลลอยด์ ที่สามารถทนอุณหภูมิสูงที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีได้ โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ถ้าโลหะนี้เกิดหลอมเหลวหรือเสียหายจากการทำงานของเครื่องจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่สามารถมองเห็นได้ (2) ตัวบ่งชี้ทางเคมีได้แก่ การมีเทปสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave tape) ซึ่งจะมีแถบสีที่จะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีดำหรือน้ำตาลเข้ม เมื่อผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (3) ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ โดยตัวบ่งชี้ชนิดนี้คือการบรรจุสปอร์ของแบคทีเรียที่ทนความร้อนได้สูงมาก ถ้าเครื่อง autoclave ไม่สามารถทำอุณหภูมิที่ถูกต้อง สปอร์เหล่านี้จะเจริญเติบโตต่อไปได้ ซึ่งตัวบ่งชี้ทางชีวภาพนี้จะได้กล่าวถึงอย่างละเอียดในหัวข้อต่อไป อีกทั้งมีการทดสอบเครื่อง autoclave ทุกๆ 6 เดือน โดยการทำ spore test โดยใช้ชุดทดสอบแบบสำเร็จ (spore strips) ของเชื้อแบคทีเรียพวก *Bacillus stearothermophilus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนได้สูงมาก โดยใส่ชุดทดสอบซึ่งภายในมีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ หลังจากเริ่มการทำงานเครื่องแล้วจะทำให้หลอดแก้วภายในชุดทดสอบแตกสปอร์ที่อยู่ภายใน ก็จะตกลงไปในอาหารเหลวภายใน หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำชุดทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ถ้าสปอร์ถูกทำลายทั้งหมดสีของอาหารจะยังคงเป็นสีฟ้าเช่นเดิม แต่ถ้าสปอร์มีการเจริญเติบโตและมีกระบวนการเมตาบอลิซึมเกิดขึ้นจะทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง อีกทั้งมีการใช้เครื่องมือ และมีการบรรจุสิ่งที่จะฆ่าเชื้ออย่างปลอดภัยตามคำแนะนำของผู้ผลิต

กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope และกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope ซึ่งมีการตรวจสอบคุณภาพโดยบริการหลังการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ รวมทั้งมีการจัดการด้านพื้นฐานการใช้และการดูแลเบื้องต้นโดยผู้ใช้และดูแลอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ในห้องปฏิบัติการเช่น การเก็บกล้องจุลทรรศน์ไว้ในที่ที่ปราศจากฝุ่นละออง ไม่มีความชื้นสูง ในห้องมีอากาศถ่ายเทได้สะดวก หลีกเลี่ยงจากสถานที่ที่มีเชื้อรา การเตรียมสไลด์ที่เหมาะสมกับการใช้กล้อง การเช็ดเลนส์ต้องใช้กระดาษเช็ดเลนส์ทุกครั้งโดยน้ำยาที่ใช้เช็ดเลนส์ ได้แก่ xylene 85% ผสม ether 15% หรือ alcohol 80% ผสม ether 20% ส่วนไมโครมิเตอร์ที่ใช้วัดขนาดของสิ่งที่ส่องใต้กล้อง ได้มีการเทียบค่าระยะห่างของแต่ละช่องกัน stage micrometer เมื่อต้องการวัดขนาดวัตถุ ให้ใส่แผ่นกระจกกลมในกระบอกเลนส์ใกล้ตา วางแผ่น stage micrometer บนแท่นวางสไลด์ หลังปรับกล้องให้เห็นภาพขีดแบ่งบนสไลด์ แล้วเทียบระยะห่างแต่ละช่องบนแผ่นกระจกกลมกับขีดแบ่งบนแผ่นสไลด์ และ คำนวณค่าของระยะห่างของช่องบนแผ่นกระจกกลมตามสูตร ค่า 1 ช่องของ ocular micrometer = จำนวนช่องของ stage micrometer / จำนวนช่องของ ocular micrometer x ค่า 1 ช่องของ stage micrometer

อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาอื่น ๆ เช่นเครื่องแก้วและเครื่องมือวิทยาศาสตร์ขนาดเล็ก มีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ รวมทั้งมีการปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด

เรือนทดลอง กรง กล่อง และและอุปกรณ์พื้นฐาน สำหรับเพาะเลี้ยงแมลงมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางผู้รับเหมาจัดทำและผู้ตรวจรับ รวมทั้งมีการปฏิบัติงานตามความเหมาะสมในระดับที่ทดสอบ

อุปกรณ์สำหรับฉีดพ่นเชื้อราโรคแมลงมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ

อุปกรณ์สำหรับให้ความชื้น (Devatec Steam Humidifier) มีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ

เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (Temperature and Humidity Data Logger รุ่น SKL200THIIa, SK Sato, Japan) ซึ่งมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ

เครื่องชั่งดิจิตอล (Digital Scale 3000g, GM-3KG, Lutron, Taiwan) ซึ่งมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ

เครื่องเขย่าสารและควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) KS 4000 ic control, Germany มีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการขายจากทางบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศทุก 6 เดือน รวมทั้งมีการปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้มีการสั่งซื้อจากตัวแทนจำหน่วยที่ได้รับความเชื่อถือ รวมทั้งมีการคัดเลือกบริษัทผู้ผลิตที่มีคุณภาพ มีการตรวจสอบสภาพและอายุการใช้งาน และการใช้ในอัตราและวิธีการตามคำแนะนำของผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด โดยสารเคมีที่ใช้ในการศึกษานี้ ได้แก่

1. Potato Dextrose Agar (PDA) (Hi-Media Laboratories PVt. Ltd., Mumbai 400 086, India)
2. Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (BIOMARK Laboratory, Pune 411011, India)
3. Beef Extract (Becton Dickinson Microbiolog Systems Company, Spatks, USA)
4. Peptone (Hi Media Laboratories PVt. Ltd., Mumbai400 086, India )
5. Casein Acid Hydrolysate (Hi-Media Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai 400 086, India)
6. agar (ผงวุ้น)
7. Malt Extract (Fluka biochemika)
8. Magnesium sulphate, Maso47H2O) (CARLO ERBA REAGENTI, France)
9. K2HPO4 (CARLO ERBA REAGENTI, France)
10. Glycerol
11. Dextrose (DIFCO, BECTON DICKINSON, MD, USA)
12. สารจับใบ Tween 80
13. สารเคมีพื้นฐานที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา
14. ethanol 70 %
15. methanol
16. acetic acid
17. $CaCl_2$
18. น้ำมันพืช
19. สารจับใบ Tween 80
20. ปุ๋ยเคมี สูตร 15-0-0
21. เมล็ดธัญพืชที่ให้เป็นวัสดุเพาะ ได้แก่ เมล็ดข้าวฟ่าง
22. สารเคมีพื้นฐานที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา

23. กรงเพาะเลี้ยงแมลง ตาข่ายซาราน (Saran wrap) ขนาดกว้าง x ยาวx สูง 4x 5x 4 เมตร และชุดหลอดไฟขนาด 14 วัตต์ ซึ่งติดตั้งเครื่องจับเวลา (timer) ปิดเปิดไฟฟ้า
24. เมล็ดพันธุ์พืชสำหรับปลูกพืชอาศัย ได้แก่ เมล็ดยาสูบ มะเขือเทศ พริกชี้ฟ้า ถั่วฝักยาว
25. ดินปลูกพืช เช่น ดินเพาะกล้า (peat moss ยี่ห้อ Triple Leaf) ดินผสมอินทรียวัตถุแบบสำเร็จพร้อมปลูก (ยี่ห้อดินงาม)