การแยกและคัดเลือกโพรไบโอติกเพื่อประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม

Screening of Microorganisms as Probiotic for feeding Ornamental Fish

นฤมล อยู่หนุน และกัญญา สอนสนิท*

สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม
**jkanya@windowslive.com*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกจากลำไส้ปลาและน้ำจากบ่อเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม โดยทดสอบคุณสมบัติโพรไบโอติก ได้แก่ การย่อยสลายของเม็ดเลือดแดง การเจริญในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน การทนเกลือน้ำดี ความสามารถในการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในปลาสวยงาม (Aeromonas hydrophilia และ Staphylococcus aureus) พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างลำไส้ปลาและจากตัวอย่างน้ำได้ทั้งหมด 356 ไอโซเลท และมีเพียง 3 ไอโซเลทที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก (O10, Isa60 และ O76) โดย O10 และ Isa60 สามารถยับยั้งการเจริญของ A. hydrophila และ S. aureus ได้ตามลำดับ ในขณะที่ O76 ไม่สร้างบริเวณยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิด แต่สามารถเจริญคลุมพื้นที่โคโลนีของเชื้อก่อโรคได้ ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ทั้ง 3 ไอโซเลทจึงเหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม

คำสำคัญ: โพรไบโอติก ปลาสวยงาม เพาะเลี้ยง

Abstract

The purpose of this study was to isolate the probiotic bacteria from fish gut and water in aquarium Ornamental fish. Probiotic properties such as haemolytic activity, oxygen requirements, salt tolerance, temperatures, antibiotic susceptibility test and antimicrobial activity to ornamental fish pathogen (Aeromonas hydrophila and Staphylococcus aureus) were investigated. The results showed that 356 bacterial isolates were able to isolate from the samples and only the 3 of 356 were probiotics (Isa60, O10 และ O76). The isolates O10 and Isa60 showed the ability to inhibit the growth of A. hydrophila and S. aureus, respectively while O76 was unable to produce the inhibition zone against both pathogens but spread over on the pathogen colonies. Therefore, the 3 selected bacteria are suitable to be probiotic for application use in Ornamental fish aquaculture.

Keywords: probiotic, ornamental fish, aquaculture

1. บทนำ

ปัจจุบันมีการนิยมเลี้ยงปลาสวยงามไว้ตกแต่งบ้าน ที่ทำงาน เพื่อความเพลิดเพลินกันมากขึ้นทำให้มีเกษตรกรสนใจเพาะเลี้ยงปลาสวยงามกันเป็นจำนวนมาก จนเกิดเป็นธุรกิจปลาสวยงามของประเทศไทย ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ต้นทุนและผลตอบแทนในการลงทุน 1 ปี ในพื้นทีอำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี ของการเลี้ยงปลาทอง ปลาสอด ปลาหางนกยูง และปลาสวยงามมากกว่า 1 ชนิด พบว่าการลงทุนเลี้ยงปลาสวยงามมีความคุ้มค่า และได้กำไรในทุกประเภทการเลี้ยง ได้แก่ ปลาทองมีกำไร 639,553.35 บาทต่อไร่ต่อปี ปลาหางนกยูงมีกำไร 275,833.19 บาทต่อไร่ต่อปี ปลาสอดมีกำไร 485,606.28 บาทต่อไร่ต่อปี และปลาสวยงามมากกว่า 1 ชนิด มีกำไร 343,522.20 บาทต่อไร่ต่อปี สามารถคืนทุนให้แก่เกษตรกรภายใน 1 ปี (ณพกฤษ เอมศิริ, 2552) จากการขยายตัวอย่างรวดเร็วเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดจนบางครั้งทำให้เกิดสภาพการเพาะเลี้ยงที่ความหนาแน่นของจำนวนปลาสวยงามต่อพื้นที่ และก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพของปลาสวยงามได้ง่าย เนื่องจากการก่อให้เกิดสภาพความเครียดของปลา สภาพแวดล้อมในการเลี้ยงไม่ถูกสุขลักษณะ เกิดการสะสมของเสียพวกสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ทำให้ปลาเกิดการติดเชื้อและเกิดโรคต่าง ๆ ได้ง่าย (ชาญณรงค์ รอดคำ, 2550) ปัจจุบันมีการรักษาโรคดังกล่าวโดยใช้ยาปฏิชีวนะ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ยาปฏิชีวนะส่งผลให้เกิดเชื้อดื้อยา เกิดสารตกค้างในปลา และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงมีการลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงโดยการเสริมโพรไบโอติกลงไปในอาหารหรือในน้ำโดยตรง ซึ่งโพรไบโอติกคือ จุลินทรีย์ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญทำให้ปลามีสุขภาพที่ดีขึ้น ช่วยในกระบวนการย่อยและการต้านทานของเชื้อโรคเมื่อเข้าสู่ร่างกายโดยสร้างกรดและหสั่งสารที่ทำให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ อีกทั้งยังช่วยปรับสมดุลในลำไส้ให้ต่อสู้กับเชื้อโรคได้อีกด้วย วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อคัดแยกโพรไบโอติกจากลำไส้ปลาสวยงาม และน้ำเพาะเลี้ยงปลาสวยงามที่มีความสามารถ ยั้งยังเชื้อก่อโรคปลาสวยงามได้ในห้องปฏิบัติการ

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 แยกเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก

นำลำไส้ปลาในธรรมชาติ ปลาทับทิม 2 ตัวอย่าง มูลปลาสวยงาม 2 ตัวอย่าง และน้ำจากบ่อเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม 5 ตัวอย่าง ใช้ NSS ทำการเจือจาง เพาะเลี้ยงด้วยวิธี pour plate technique บนอาหาร PCA จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนีที่แยกได้บนอาหาร PCA มาเขี่ยบนอาหาร NA ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และนำไปเก็บรักษาเพื่อใช้ทดสอบต่อไป

2.2 ทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolytic activity)

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้เพาะเลี้ยงบนอาหาร nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปลูกเชื้อโดยใช้เทคนิค point inoculation ลงบนอาหาร blood agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สังเกตบริเวณใสที่เกิดขึ้นบนอาหารว่ามีการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์จะเกิดวงใสรอบโคโลนี

2.3 การทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรค

นำเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงมาทำการทดสอบการยับยั้งคือเชื้อ *A. hydrophila* และ *S. aureus* ด้วยวิธี agar well diffusion โดยนำเชื้อก่อโรคและเชื้อทดสอบมาเลี้ยงใน nutrient broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องซาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปรับความขุ่นของเซลล์ให้เท่ากับ McFarland no. 0.5 นำเชื้อก่อโรค Swab ลงบนอาหาร NA ทิ้งไว้ 5 นาทีทำการเจาะหลุมอาหาร NA ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนตริเมตร ใส่เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย

โพรไบโอติกที่แยกได้ลงในหลุม หลุมละ 20 ไมโครลิตรนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมงทำการบันทึกข้อมูลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

2.4 การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบในอาหาร NB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการ swab เชื้อลงบนอาหาร NA ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เจาะหลุมวุ้นด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนตริเมตร เติมยาปฏิชีวนะ คือ penicillin, amoxicillin และ erythromycin ลงในหลุมหลุมละ 20 ไมโครลิตรนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผล

2.5 การทดสอบการทนกรด-ด่าง

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบบนอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อลงในอาหาร NB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการเจริญจากความขุ่นของอาหาร

2.6 ทดสอบความสามารถในการเจริญที่ช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากนั้นเขี่ยเชื้อลงในอาหาร NB นำไปบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ 25, 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจดูการเจริญของเชื้อโดยสังเกตจากความขุ่นของอาหาร

2.7 การทดสอบการเจริญในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากนั้นเขี่ยเชื้อลงบนอาหาร NB แบ่งหลอดเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 นำไปบ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ชุดที่ 2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน 24 ชั่วโมงตรวจดูการเจริญของเชื้อโดยสังเกตจากความขุ่นของอาหาร

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลแยกเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก

จากการแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างลำไส้และน้ำจากบ่อเพาะเลี้ยงปลาสวยงามได้เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 356 ไอโซเลท

3.2 ทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolytic activity)

แบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด 356 ไอโซเลท พบว่ามี 76 ไอโซเลท ไม่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงซึ่งแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติด้านความปลอดภัยเมื่อนำไปใช้กับปลาสวยงาม

3.3 การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

นำแบคทีเรียที่ที่ผ่านการทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* และ *S. aureus* โดยวิธี agar well diffusion พบว่ามีเพียง 2 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ ได้แก่ O10 สามารถยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* ได้ 0.9±0.081 เซนตริเมตร (ภาพที่ 1) และ Isa60 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ 3.76±0.22 เซนตริเมตร (ภาพที่ 2) และพบไอโซเลท O76 ที่สามารถเจริญคลุมโคโลนีเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* และ *S. aureus* ได้

3.4 การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ

จากการทดสอบการต้านยาปฏิชีวนะโดยใช้ยา penicillin, amoxicillin และ erythromycin พบว่ามี 15 ไอโซเลทที่ไม่ต้านยาปฏิชีวนะ 16 ไอโซเลทที่ต้านยา amoxicillin 25 ไอโซเลทที่ต้านยา penicillin และ 13 ไอโซเลทที่ต้านยา erythromycin

3.5 การทดสอบความเป็นกรด-ด่าง

แบคทีเรียโพรไบโอติกที่คัดแยกได้มีจากการทดสอบการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชต่าง ๆ คือ 5, 6, 7, 8 และ 9 พบว่ามี 14 ไอโซเลท ที่ไม่สามารถเจริญได้ในค่าพีเอช 5 และ 1 ไอโซเลท ที่ไม่สามารถเจริญได้ที่พีเอช 6

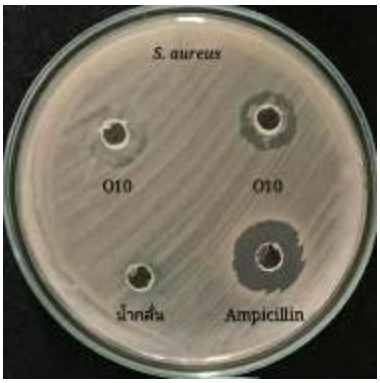
3.6 การทดสอบการทนต่อเกลือน้ำดี

ทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อทีเติม bile salt powder ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.3 , 0.6 ,0.8 และ 1 พบว่ามี 29 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ทุกความเข้มข้น แต่มี 5 ไอโซเลทที่ไม่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 จำนวน 3 ไอโซเลทที่ไม่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.6 และ จำนวน 4 ไอโซเลทที่ไม่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 และ 4 ไอโซเลทที่ไม่เจริญที่ความเข้มข้นร้อยละ 1

3.7 การทดสอบการเจริญในสภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ

จากการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อและนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 25, 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่ามี 32 ไอโซเลทที่สามารถเจริญได้ในสภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ พบ 1 ไอโซเลท ที่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 3 ไอโซเลทที่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และพบ 6 ไอโซเลทที่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 องซาเซลเซียส

ภาพที่ 1 ไอโซเลท ISa60 สามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้



ภาพที่ 2 ไอโซเลท O10 สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้

ตารางที่ 1 การทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง การยับยั้งเชื้อก่อโรค และความสามารถต้านยาปฏิชีวนะ

การทดสอบ	รายละเอียด	ไอโซเลท		
		Isa60	O10	O76
การย่อยเม็ดลือดแดง	α , β , γ	γ -hemolysis	γ -hemolysis	γ -hemolysis
ทดสอบการยับยั้ง	*A. hydrophila*	-	0.15±0.04	แย่งพื้นที่เจริญ
เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค(ซม.)	*S. aureus*	1.58±0.11	-	แย่งพื้นที่เจริญ
ต้านยาปฏิชีวนะ (ซม.)	amoxicillin	1.45±0.2	1.03±0.17	resistance
	erythromycin	1.46±0.17	resistance	resistance
	penicillin	1.54±0.23	0.65±0.07	0.83±0.08

ตารางที่ 2 การทดสอบการเจริญแบคทีเรียที่คัดแยกได้ที่สภาวะต่าง ๆ

สภาวะ	รายละเอียด	ไอโซเลท		
		Isa60	O10	O76
การเจริญในอาหารที่มีค่าความเป็น	5	++	+	+
กรดด่างต่าง ๆ	6	+++	++	+++
	7	++++	++++	++++
	8	+++	+++	+++
	9	+++	+++	+++
การเจริญในอาหารที่มีเกลือน้ำดี	0.3% (w/v)	+++	+++	+++
ความเข้มข้นต่าง ๆ	0.6% (w/v)	++	+++	++
	0.8% (w/v)	++	+++	++
	1.0% (w/v)	+	++	+
การเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ	25 ^{O}C	-	+++	+++
	30 ^{O}C	+++	+++	+++
	37 ^{O}C	++++	++++	+++
	45 ^{O}C	+++	++	+
การทดสอบความต้องการอากาศ	มีอากาศ	+++	++++	+++
	ไม่มีอากาศ	++++	+++	+++

หมายเหตุ + หมายถึง ระดับความขุ่นของอาหารเพาะเลี้ยงซึ่งจะแสดงถึงระดับการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

4. อภิปรายผลการวิจัย

ผลการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากลำไส้ปลาทับทิม มูลปลาสวยงาม และน้ำจากบ่อเพาะเลี้ยงปลาสวยงามพบว่าได้เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 356 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงพบว่ามีเพียง 41 ไอโซเลทที่ไม่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงได้ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติด้านความปลอดภัยเมื่อนำไปใช้ในปลาสวยงาม จากตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงเมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยวิธี agar well diffusion พบว่ามีเพียง 2 ไอโซเลท เท่านั้นที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ ได้แก่ ไอโซเลท Isa60 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรค *S. aureus* ได้ และไอโซเลท O10 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* ได้ และพบว่าไอโซเลท O76 สามารถแย่งพื้น

เจริญคลุมโคโลนีเชื้อก่อโรคได้ทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธี agar well diffusion พบว่าไอโซเลท O10 ต้านยา amoxicillin และ erythromycin ไอโซเลท O76 ต้านยา erythromycin และไอโซเลท Isa60 ไม่ต้านยาปฏิชีวนะที่ทดสอบเลย

จากตารางที่ 2 ผลทดสอบการทนกรด-ด่าง พบว่าไอโซเลท Isa60 ไอโซเลท O10 และไอโซเลท O76 สามารถเจริญได้ที่พีเอช 5-9 และทั้ง 3 ไอโซเลทสามารถเจริญได้ดีที่พีเอช 7 สามารถเจริญได้ในต่ำนั้นแสดงถึงการรอดชีวิตของเชื้อในการทดกรดในระบบทางเดินอาหารเชื้อ (ภณิดา เกื้อสุวรรณ และคณะ, 2557) ผลการทดสอบความสามารถในการเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือน้ำดีที่ 0.3 - 1.0% พบว่าไอโซเลท Isa60 ไอโซเลท O10 และไอโซเลท O76 สามารถเจริญได้ทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ แต่ทั้ง 3 ไอโซเลทเจริญได้ดีที่ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7 การรอดชีวิตของเชื้อแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ในการหลั่งเกลือน้ำดีในลำไส้เล็กของระบบทางเดินอาหาร (ภณิดา เกื้อสุวรรณ และคณะ, 2557) ผลการทดสอบการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่าง 30-45 องศาเซลเซียส พบว่าไอโซเลท O10 และไอโซเลท O76 เจริญได้ทุกช่วงอุณหภูมิที่ทำการทดสอบ ยกเว้นไอโซเลต Isa60 ที่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และทั้ง 3 ไอโซเลต เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และผลการทดสอบความสามารถเจริญในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลตเจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน

5. สรุปผลการวิจัย

จากการทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ต่อความเหมาะสมเป็นโพรไบโอติกนั้น แสดงให้เห็นว่าไอโซเลท Isa60 มีความเหมาะสมที่จะในไปใช้ศึกษาต่อในขั้นต่อไปเพื่อศึกษาผลที่จะมีต่อการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม และคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาสวยงาม

6. เอกสารอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์ และสิทธิ บุณยผลิน. (2530). การควบคุมและกำจัดโรคสัตว์น้ำ. **วารสารสงขลานครินทร์.** 9 (2), 259-271

คณาธิป พรหมนวล วิชุดา กล้าเวช และสุภฎา คีรีรัฐนิคม. (2557) .**การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต การใช้อาหารและความต้านทานโรคในปลาทับทิม.** การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 53. 1368-1375

คณิต ชูคันหอม และอนุชา เสนาราช. (2551). **ปรสิตภายนอกที่พบในปลาสวยงามในเขตพื้นที่จังหวัดขอนแก่น.** ประชุมวิชาการสัตวแพทย์ มข. ครั้งที่ 9 “สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้”. 208-214

ชนกนต์ จิตมนัส ภาสินันท์ สาระมาศ และน้ำเพชร ประกอบศิลป์. (2556). **แบคทีเรียที่แยกจากปลา นิลซึ่งเลี้ยงในระบบต่างกันบริเวณหมู่บ้านแม่แก้ด จ.เชียงใหม่**. เชียงใหม่: ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่. 1-8

ชาญณรงค์ รอดคำ. **โรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลา**. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ . จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชาญณรงค์ รอดคำ. (2550). **โรคสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย.** ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ครั้งที่ 33. 319-326

ไชยวัฒน์ ไชยสุต และศศิธร ศิริลุน. (2553). **โพรไบโอติก :จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ (Probiotics: Beneficial Microorganisms for Health).** สำนักการแพทย์ทางเลือก กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข

ณพกฤษ เอมศิริ. (2552). **การศึกษาระบบธุรกิจปลาสวยงามในประเทศไทย.** ปริญญาครุศาสตรมหาบัณฑิต (ธุรกิจการเกษตร) สาขาธุรกิจการเกษตร ภาควิชาเศรษฐศาสตร์เกษตรและทรัพยากร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นัยนา เสนาศร. (2558). ผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. เป็นโปรไบโอติกผสมอาหารในการเลี้ยงปลานิล. **วารสารวิจัย** 8. (2); 61-66

ภณิดา เกื้อสุวรรณ วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล และดวงพร คันธโชติ. (2557). **การคัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียแลคติกเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตผักดอง.** โครงการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 15 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 667- 676.