

EFFECTS *Ricinus communis* L. EXTRACTION ON SURVIVAL RATE, GROWTH PERFORMANCE OF WHITE LEG SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)

Hong Mong Huyen^{1*}, Vo Tan Huy², Tran Thi Tuyet Hoa²

¹Faculty of Agriculture and Rural Development - Kien Giang University

²College of Aquaculture and Fisheries - Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 30/6/2023	Herbal products in the form of extracts are used as a drug to growth performance, antibacteria on aquatic animals, especially on shrimp. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of <i>Ricinus communis</i> L. extraction on the survival, growth and presence bacteria in intestine, hepatopancreas of white leg shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>). The shrimps (PL15) were collected and acclimatized for 15 days before conducting the experiment, and then assigned to four treatments with 0 (control); 0.5; 1.0 and 1.5% of <i>Ricinus communis</i> L. extraction, it was randomly arranged and triplicate for each treatment. Parameters of total bacteria, <i>Vibrio</i> spp. in the intestine, hepatopancreas of shrimps were determined at 30 and 60 days; the survival, growth at 60 days. The results showed that the <i>Ricinus communis</i> L. extraction at 1; 1.5% increase survival rate, growth for white leg shrimp, and improve the density of <i>Vibrio</i> spp. in the intestine and hepatopancreas. These results of research will be very useful when applying herbs in commercial shrimp farming.
Revised: 17/7/2023	
Published: 17/7/2023	
KEYWORDS	
Growth performance	
Survival rate	
<i>Ricinus communis</i> L. extraction	
<i>Vibrio</i>	
White leg shrimp	

TÁC ĐỘNG CỦA CAO CHIẾT THẢO DƯỢC (*Ricinus communis* L.) ĐẾN SỰ SỐNG, TĂNG TRƯỞNG CỦA TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)

Hồng Mộng Huyền^{1*}, Võ Tấn Huy², Trần Thị Tuyết Hoa²

¹Khoa NN&PTNT - Trường Đại học Kiên Giang

²Trường Thủy sản - Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 30/6/2023	Các chế phẩm thảo dược dưới dạng chất chiết xuất được sử dụng như một loại thuốc có tác dụng kích thích tăng trưởng, chống lại mầm bệnh vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản, đặc biệt trên tôm. Mục tiêu nghiên cứu này nhằm xác định hiệu quả của cao chiết thảo dầu (<i>Ricinus communis</i> L.) lên sự sống, tăng trưởng và sự hiện diện vi khuẩn đường ruột, gan tụy của tôm thẻ chân trắng (<i>Litopenaeus vannamei</i>). Tôm thẻ chân trắng giai đoạn PL15 (postlarvae 15) được thuần dưỡng 15 ngày trước khi được cho ăn thức ăn có trộn cao chiết thảo dầu. Nghiên cứu được thực hiện gồm 4 nghiệm thức với các nồng độ bổ sung cao chiết thảo dầu lần lượt 0 (đối chứng); 0,5%; 1,0% và 1,5%, mỗi nghiệm thức được bố trí ngẫu nhiên và lặp lại 3 lần. Thông số về mật số vi khuẩn tổng, <i>Vibrio</i> spp. trong ruột, gan tụy tôm được xác định ở thời điểm 30 và 60 ngày; sự sống và tăng trưởng được xác định ở thời điểm 60 ngày. Kết quả cho thấy thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu 1; 1,5% giúp gia tăng tỷ lệ sống và kích thích tăng trưởng đối với tôm thẻ chân trắng, đồng thời cải thiện mật độ vi khuẩn <i>Vibrio</i> spp. trong ruột và gan tụy tôm. Những kết quả nghiên cứu này sẽ rất hữu ích khi ứng dụng thảo dược trong nuôi tôm thương phẩm.
Ngày hoàn thiện: 17/7/2023	
Ngày đăng: 17/7/2023	
TỪ KHÓA	
Tăng trưởng	
Sự sống	
Cao chiết thảo dầu	
<i>Vibrio</i>	
Tôm thẻ chân trắng	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8250>

* Corresponding author. Email: hmhuyen@vnkgu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Trong nuôi trồng thủy sản, các sản phẩm thảo dược đã được nhiều nghiên cứu chứng minh mang đến hiệu quả về tăng trưởng và tăng cường miễn dịch [1]-[3]. Đồng thời, qua kết quả thí nghiệm *in-vitro* và *in-vivo* cũng cho thấy thảo dược có tiềm năng chống lại nhiều tác nhân gây bệnh trên động vật thủy sản [4]-[6]. Đặc biệt, hoạt tính kháng khuẩn là một trong những hoạt tính của thảo dược được nhiều nhà nghiên cứu xem xét và ứng dụng nhiều trong nuôi trồng thủy sản, với nhiều loài thảo dược có hoạt tính kháng khuẩn cao, có phổ kháng khuẩn rộng diệt được cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm [7], [8]. Bên cạnh đó, khả năng thúc đẩy quá trình tăng trưởng của động vật thủy sản cũng được ghi nhận [9]-[11], các sản phẩm thảo dược còn giúp cải thiện hiệu quả hấp thu thức ăn, cải thiện tiêu hóa, tăng cường hàm lượng vitamin (C, E), protein, axit amin thiết yếu, axit béo không bão hòa và các loại khoáng vi lượng (Na, K) ở gan, cơ của động vật thủy sản [12].

Thầu dầu có tên khoa học là *Ricinus Communis* Linn thuộc họ Euphorbiaceae, castor plant là tên gọi tiếng Anh. Chúng sống phổ biến ở vùng nhiệt đới, là cây bụi, thân gỗ lâu năm, cây được trồng để lấy lá, hoa hoặc tinh dầu. Theo y học Ấn Độ, các thành phần khác nhau của thầu dầu đã được sử dụng cho điều trị nhiều bệnh khác nhau. Cụ thể lá, rễ và tinh dầu chiết xuất từ hạt của cây thầu dầu được sử dụng cho điều trị viêm và rối loạn gan. Cây cũng có khả năng bảo vệ gan, chất chống oxy hóa và kháng khuẩn. Gốc rễ là thành phần trong các đơn thuốc trị bệnh về thần kinh và khớp như đau thắt lưng, viêm màng phổi và đau thần kinh tọa. Rễ cũng có khả năng chống viêm, phân hủy gốc tự do, chống đái tháo đường và kháng khuẩn [13], [14]. Ngoài ra, cao chiết thầu dầu còn được ghi nhận có khả năng giúp tôm thẻ chân trắng tăng cường các chỉ tiêu miễn dịch, đồng thời giúp tôm gia tăng tỷ lệ sống, chống lại *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính. Cụ thể, bổ sung cao chiết thầu dầu với nồng độ 0,5% và 1,0% trong 30, 60 ngày giúp tăng cường chỉ số huyết học, hoạt tính PO và tỷ lệ sống đạt 73,33% khi cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus* ở nồng độ 1,0% [15].

Trên các cơ sở đó, nghiên cứu này sẽ tập trung đánh giá khả năng tác động của cao chiết thầu dầu lên tăng trưởng và giảm lượng vi khuẩn *Vibrio* spp. đường ruột, gan tụy tôm thẻ chân trắng khi ăn thức ăn có bổ sung cao chiết thầu dầu. Kết quả này có ý nghĩa rất lớn trong việc lựa chọn liều lượng sử dụng hiệu quả, đáp ứng nhu cầu cần thiết xác định hiệu suất tăng trưởng cũng như khả năng kháng lại tác nhân gây bệnh trên tôm và là cơ sở để ứng dụng thử nghiệm ngoài ao nuôi.

2. Đối tượng, vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) (postlarvae 15) dùng cho thí nghiệm được kiểm tra không nhiễm vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (*V. parahaemolyticus*) và virus gây bệnh đốm trắng (WSSV).

Cao chiết thầu dầu (*R. communis* L.) là lá thầu dầu được sấy khô và nghiền nhuyễn thành bột mịn. Những bột này được ly trích bằng methanol, cụ thể chúng được ngâm với tỉ lệ 1:10 trong 3 ngày. Sau đó, dung dịch ly trích được lọc qua giấy lọc Whatman No. 1 và cao chiết được thu hồi bằng phương pháp cô quay chân không ở 48°C, đồng thời cũng loại bỏ dung môi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của cao chiết thầu dầu đến tăng trưởng

Chuẩn bị thức ăn: Cao chiết thầu dầu được trộn với thức ăn (Grobest No.1, 40% đạm) có nồng độ lần lượt là 0,5; 1,0 và 1,5%. Sau đó, thức ăn được áo với dầu mực để ngăn sự phân tán của cao chiết trong nước và giảm mùi của cao chiết. Thức ăn được làm khô trong bóng râm và trữ trong ngăn mát cho đến khi sử dụng.

Bố trí thí nghiệm: Tôm thẻ chân trắng PL15 được thuần hóa trong 15 ngày (PL30). Tôm thẻ chân trắng được nuôi trong bể composite 0,5 m³ mật độ nuôi 75 con, ở độ mặn 15‰. Thí nghiệm được bố trí 4 nghiệm thức, trong đó 3 nghiệm thức bổ sung cao chiết thảo dược với nồng độ lần

lượt là 0,5; 1,0 và 1,5%, nghiệm thức đối chứng không bổ sung (0%). Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp lại. Tôm được bổ sung thảo dược liên tục trong 60 ngày, ghi nhận và đánh giá: (i) Chỉ tiêu môi trường nuôi hàng ngày (nhiệt độ, pH); (ii) Chỉ tiêu vi sinh; (iii) Tốc độ tăng trưởng của tôm. Tôm cho ăn theo nhu cầu với chế độ 4 lần/ngày. Nước bể nuôi được sục khí liên tục, các bể có chế độ xiphong, thay nước 2-3 ngày/lần, mỗi lần thay 30% thể tích nước. Các chỉ tiêu theo dõi của thí nghiệm tăng trưởng, bao gồm:

Tốc độ tăng trưởng: Chỉ tiêu về chiều dài, khối lượng và tỉ lệ sống được xác định ở thời điểm ngày 60 sau khi tôm cho ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu. Các chỉ tiêu này được tính dựa theo các công thức sau:

$$DWG \text{ (g/ngày)} = (W_f - W_i)/T \quad (1)$$

$$SGR \text{ (%/ngày)} = \{(\ln(W_f) - \ln(W_i))/T\} \times 100 \quad (2)$$

$$DLG \text{ (cm/ngày)} = (L_f - L_i)/T \quad (3)$$

$$SGRL \text{ (%/ngày)} = \{(\ln(L_f) - \ln(L_i))/T\} \times 100 \quad (4)$$

Trong đó: *DWG* là tăng trưởng theo ngày về khối lượng, *DLG* là tăng trưởng theo ngày về chiều dài, *SGR* là tăng trưởng đặc biệt theo ngày về khối lượng, *SGRL* là tăng trưởng đặc biệt theo ngày về chiều dài, *W_f* là trọng lượng cuối cùng, *W_i* là trọng lượng ban đầu, *L_f* là chiều dài cuối cùng, *L_i* là chiều dài ban đầu và *T* là tổng thời gian thí nghiệm.

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = (\text{số lượng tôm cuối} / \text{số lượng tôm ban đầu}) \times 100 \quad (5)$$

2.2.2 Thí nghiệm đánh giá tác động của cao chiết thảo dầu đến vi đường ruột, gan tụy tôm thẻ chân trắng

Từ thí nghiệm xác định sự ảnh hưởng của cao chiết thảo dầu đến tăng trưởng, tôm được thu mẫu để xác định mật độ vi khuẩn tổng và *Vibrio* spp. Tôm được thu 3 mẫu tôm/nghiệm thức (ruột và gan tụy tôm) ở thời điểm ngày 30, 60 sau khi cho ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu và xác định mật độ vi khuẩn bằng phương pháp pha loãng lần lượt theo cơ số 10 và đếm trên đĩa thạch NA có bổ sung thêm 1,5% NaCl và TCBS. Mật độ vi khuẩn hiện diện trong ruột và gan tụy tôm được tính theo công thức:

$$\text{Mật độ vi khuẩn (CFU/g)} = (\text{Số khuẩn lạc} \times \text{độ pha loãng}) \times 10 \quad (6)$$

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Tổng hợp số liệu thí nghiệm được thực hiện trên phần mềm Microsoft Office Excel 2010. Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 để kiểm tra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) bằng phép thử Duncan.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của cao chiết thảo dầu lên tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng

Khi ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu với nhiều nồng độ khác nhau liên tục trong 60 ngày giúp tôm thẻ chân trắng gia tăng về hiệu suất tăng trưởng. Cụ thể, ở các nghiệm thức, khối lượng tôm nuôi dao động từ 5,74 – 9,12 g/con; đặc biệt ở các nghiệm thức có bổ sung cao chiết thảo dầu khối lượng tôm cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng (5,74 g/con). Trong đó, nghiệm thức bổ sung 1,5% cao chiết thảo dầu thì tôm có khối lượng lớn nhất đạt 9,12 g/con, tốc độ tăng trưởng ngày là 0,15 g/ngày (6,28%/ngày) cao hơn so với nghiệm thức bổ sung 0,5% (0,13 g/ngày; 6,21%/ngày) và 1,0% (0,12 g/ngày; 6,17%/ngày) nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) (Bảng 1).

Bảng 1. Chỉ số tăng trưởng của tôm thẻ ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu sau 60 ngày

Nghiệm thức	W _i (g)	W _f (g)	DWG (g/ngày)	SGR (%/ngày)
0,5%	0,19±0,01 ^a	7,83±0,58 ^b	0,13±0,01 ^b	6,21±0,09 ^b
1,0%	0,19±0,03 ^a	7,69±0,50 ^b	0,12±0,01 ^b	6,17±0,27 ^b
1,5%	0,21±0,02 ^a	9,12±0,93 ^b	0,15±0,02 ^b	6,28±0,25 ^b
0% (đối chứng)	0,20±0,01 ^a	5,74±0,93 ^a	0,09±0,02 ^a	5,58±0,34 ^a

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có ký tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Tôm thẻ chân trắng ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu với các nồng độ khác nhau liên tục trong 60 ngày nuôi có sự cải thiện về tăng trưởng. Tôm nuôi ở các nghiệm thức có chiều dài dao động từ 8,75 – 10,1 cm. Trong đó, chiều dài của tôm ở nghiệm thức bổ sung 1,5% cao chiết là lớn nhất với giá trị 10,1 cm và khác biệt không có ý nghĩa ($P>0,05$) so với các nghiệm thức bổ sung 0,5 và 1,0% cao chiết, tương ứng với 9,92 và 9,72 cm. Ngoài ra, chiều dài tôm ở các nghiệm thức có bổ sung cao chiết đều cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$) so với nghiệm thức đối chứng (8,75 cm) (Bảng 2). Tương tự, tốc độ tăng trưởng về chiều dài theo ngày dao động từ 0,25 – 0,29 cm/ngày và các nghiệm thức có bổ sung cao chiết đều cao hơn nghiệm thức đối chứng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$). Tuy nhiên, tốc độ tăng trưởng đặc biệt theo ngày giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$).

Bảng 2. Tăng trưởng về chiều dài của tôm ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu sau 60 ngày

Nghiem thức	L_i (cm)	L_f (cm)	DLG(cm/ngày)	SGRL (%/ngày)
0,5%	1,24±0,07 ^{ab}	9,92±0,13 ^b	0,29±0,01 ^b	3,47±0,11 ^a
1,0%	1,23±0,02 ^{ab}	9,72±0,18 ^b	0,28±0,01 ^b	3,45±0,05 ^a
1,5%	1,28±0,03 ^b	10,1±0,26 ^b	0,29±0,01 ^b	3,44±0,02 ^a
0% (đối chứng)	1,16±0,04 ^a	8,75±0,55 ^a	0,25±0,02 ^a	3,37±0,04 ^a

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có ký tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$).

Tỷ lệ sống của tôm ở các nghiệm thức thí nghiệm dao động từ 53,3-63,1%. Trong đó, nghiệm thức bổ sung 1,5% cao chiết đạt tỷ lệ sống cao nhất (63,1%), kế tiếp là nghiệm thức bổ sung 1,0 và 0,5% tương ứng với 58,7 và 57,80%, thấp nhất là nghiệm thức đối chứng với 53,3% ($P>0,05$). Sinh khối tôm nuôi ở các nghiệm thức dao động từ 0,56 – 1,08 kg/m³, trong đó nghiệm thức bổ sung 1,5% cao chiết đạt sinh khối cao nhất (1,08 kg/m³) và các nghiệm thức có bổ sung cao chiết đều cao hơn có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$) so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 3).

Bảng 3. Tỷ lệ sống và sinh khối tôm ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu sau 60 ngày nuôi

Nghiem thức	Tỷ lệ sống (%)	Sinh khối tôm (kg/m ³)
0,5%	57,8±6,82 ^a	0,84±0,04 ^b
1,0%	58,7±4,62 ^a	0,85±0,07 ^b
1,5%	63,1±8,66 ^a	1,08±0,22 ^c
0% (đối chứng)	53,3±12,9 ^a	0,56±0,05 ^a

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có ký tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$).

Kết quả tương tự cũng được ghi nhận ở một số nghiên cứu khác. Sankar và cộng sự (2011) [16] ghi nhận bổ sung cao chiết thảo dầu vào khẩu phần ăn cơ bản của ấu trùng tôm sú liên tục trong 60 ngày có thể tăng hoạt tính enzyme tiêu hóa (protease, amylase và lipase) làm tăng hiệu quả tiêu hóa và hấp thụ protein, carbohydrate, lipid và cellulose giúp cải thiện tốc độ tăng trưởng, giảm FCR và tăng tỉ lệ sống của ấu trùng so với nghiệm thức không bổ sung cao chiết. Cao chiết thảo dược (*Syzygium cumini*, *Phyllanthus emblica*, *Azadirachta indica* và *R. communis*) được bổ sung vào thức ăn trong 45 ngày cũng cho thấy khả năng làm tăng hoạt tính enzyme tiêu hóa (protease, amylase, lipase) giúp cải thiện tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống của ấu trùng tôm *Macrobrachium malcolmsonii*. Cụ thể, bổ sung cao chiết *S. cumini* và *P. emblica* với liều lượng 5% vào thức ăn giúp gia tăng tốc độ tăng trưởng (0,45 và 0,44 g) và tỷ lệ sống (92%) cao nhất [17].

Các nghiên cứu về đánh giá khả năng kích thích tăng trưởng của một số cao chiết thảo dược khác trên tôm như nghiên cứu của Venkatramalingam và cộng sự (2007) [18] ghi nhận cao chiết củ gừng giúp gia tăng hoạt tính của các enzyme tham gia vào quá trình tiêu hóa thức ăn, điều này trực tiếp làm tăng cường hiệu quả sử dụng thức ăn của tôm nuôi. Ấu trùng tôm sú được ăn thức ăn có bổ sung cao chiết gừng với các tỷ lệ khác nhau (0, 25, 50, 75 và 100%), kết quả sau 30 ngày nuôi thì tỷ lệ sống cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 100% với 86%, kế tiếp là 75, 50, 25 và thấp nhất là 0% với tỷ lệ sống là 80%. Ngoài ra, khi cao chiết gừng được bổ sung vào chế độ ăn

của ấu trùng còn cải thiện được tốc độ tăng trưởng và gia tăng tỷ lệ tăng trưởng đặc biệt. Tương tự, khi bổ sung zingerone (chiết xuất từ gừng) vào khẩu phần ăn của tôm thẻ chân trắng trong 56 ngày giúp kích thích tăng trưởng và tăng tỷ lệ sống của tôm. Tốc độ tăng trưởng cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 5,0 mg/kg (238,56%) cao hơn có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với các nghiệm thức bổ sung 0; 1,0 và 2,5 mg/kg tương ứng với 172,8; 209,61 và 212,89% [19]. Theo Lawhavinit và cộng sự (2011) [20], tỷ lệ phần trăm tăng trưởng trung bình trong ngày và tăng cân cao hơn đáng kể ($P < 0,05$) giữa thức ăn có chứa chất chiết xuất ethanol từ củ nghệ ở mức 7,5 và 15 g/kg thức ăn khi so sánh với nhóm không bổ sung thảo dược. Ngoài ra, cao chiết từ củ nghệ còn giúp tăng cường một số chỉ số miễn dịch không đặc hiệu như chỉ số tổng số tế bào máu, hoạt tính phenoloxidase và hoạt tính diệt khuẩn tăng lên khi nồng độ chất chiết xuất củ nghệ tăng.

Như vậy, khi tôm thẻ chân trắng ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu giúp tôm gia tăng tốc độ tăng trưởng và tăng tỷ lệ sống sau 60 ngày cho ăn liên tục. Nhìn chung, qua khảo sát tài liệu cho thấy, trong cao chiết thảo dầu có các hợp chất hóa học, các hợp chất này có hoạt tính chống oxy hóa, chống viêm, giảm bệnh tiểu đường, giảm đau, chống ung thư, chống nôn, chống hen, những hoạt động này được thực hiện nhờ sự hiện diện của các thành phần hóa học quan trọng như flavonoid, glycoside, alkaloids, steroid, terpenoid,... Ở lá của thảo dầu có các thành phần như alkaloids, quercetin, xylopyranoside quercetin, kaempferol- β -rutinoside, N demethylricinine flavones glycosides kaempferol-3-O and kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside, quercetin-3-O- β -monoterpenoid, gallic acid, quercetin, gentisic acid, rutin, epicatechin và ellagic acid [13].

3.2. Ảnh hưởng của cao chiết thảo dầu đến mật độ vi khuẩn tổng và mật độ vi khuẩn *Vibrio* trong ruột và gan tụy của tôm thẻ chân trắng

Cao chiết thảo dầu được xác định có hoạt tính kháng khuẩn cao, diệt được vi khuẩn Gram âm và vi khuẩn Gram dương trong các thử nghiệm *in-vitro* [9], [21], [22]. Do đó, trong nghiên cứu này cũng đánh giá tác động của các mức nồng độ cao chiết thảo dầu về khả năng ức chế vi khuẩn trong điều kiện *in-vivo*, cụ thể là ở các thời điểm bổ sung cao chiết thảo dầu 30 và 60 ngày.

Ở thời điểm sau 30 ngày, mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. trong ruột tôm thẻ chân trắng ăn thức ăn bổ sung chất chiết thảo dầu dao động từ $5,18 - 9,35 \times 10^6$ CFU/g. Kết quả cho thấy, mật độ *Vibrio* spp. trong ruột tôm ở các nghiệm thức bổ sung cao chiết thảo dầu có sự khác biệt nhưng không có ý nghĩa ($P > 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng. Tuy nhiên, mật độ *Vibrio* spp. trong gan tụy tôm ở các nghiệm thức bổ sung cao chiết lại khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng ($P < 0,05$). Cụ thể, mật độ *Vibrio* spp. trong gan tụy dao động từ $31,2 - 174,0 \times 10^3$ CFU/g. Mặc dù, nghiệm thức bổ sung 1,0% ($31,7 \times 10^3$ CFU/g) có mật số vi khuẩn cao hơn nghiệm thức bổ sung 0,5% ($31,2 \times 10^3$ CFU/g) nhưng tỉ lệ mật độ vi khuẩn *Vibrio*/ mật độ vi khuẩn tổng ở nghiệm thức bổ sung 1,0% lại thấp hơn và thấp nhất với 27,2%, tiếp theo là nghiệm thức bổ sung 1,5% (35,9%); 0,5% (41,7%) và 0% (91,1%) (Bảng 4).

Bảng 4. Mật độ vi khuẩn ở ruột (10^6 CFU/g) và gan tụy (10^3 CFU/g) của tôm thẻ chân trắng sau 30 ngày ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu

Cơ quan	Nghiệm thức	Vi khuẩn tổng	<i>Vibrio</i> spp.	V/T (%)
Ruột	0,5%	58,5 $\pm$ 32,7 ^a	5,92 $\pm$ 1,45 ^a	10,1
	1,0%	62,7 $\pm$ 28,2 ^a	5,18 $\pm$ 1,87 ^a	8,3
	1,5%	17,8 $\pm$ 1,09 ^a	5,86 $\pm$ 0,93 ^a	32,9
	0% (đối chứng)	49,4 $\pm$ 26,5 ^a	9,35 $\pm$ 3,30 ^a	18,9
Gan tụy	0,5%	74,9 $\pm$ 35,1 ^a	31,2 $\pm$ 22,0 ^a	41,7
	1,0%	116,6 $\pm$ 5,61 ^{ab}	31,7 $\pm$ 10,6 ^a	27,2
	1,5%	202,1 $\pm$ 69,7 ^b	72,6 $\pm$ 17,6 ^a	35,9
	0% (đối chứng)	191,1 $\pm$ 32,2 ^{ab}	174,0 $\pm$ 42,4 ^b	91,1

Ghi chú: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có ký tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). V/T: tỉ lệ vi khuẩn *vibrio*/vi khuẩn tổng.

Mật khác, sau 60 ngày bổ sung cao chiết thảo dầu thì mật độ vi khuẩn tổng và *Vibrio* spp. trong ruột tôm ghi nhận tăng cao hơn thời điểm 30 ngày nuôi và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ($P>0,05$). Mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. trong ruột dao động từ $23,4 - 45,2 \times 10^6$ CFU/g. Mặc dù, mật độ vi khuẩn tổng trong gan tụy tôm ăn thức ăn bổ sung cao chiết sau 60 ngày nuôi khác biệt không có ý nghĩa nhưng mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. lại khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$). Cụ thể, nghiệm thức bổ sung 1,0% cao chiết thảo dầu có mật số *Vibrio* thấp nhất với $44,4 \times 10^3$ CFU/g (8,1%) khác biệt so với các nghiệm thức còn lại ($P<0,05$) (Bảng 5).

Bảng 5. Mật độ vi khuẩn ở ruột (10^6 CFU/g) và gan tụy (10^3 CFU/g) của tôm thẻ chân trắng sau 60 ngày ăn thức ăn bổ sung cao chiết thảo dầu

Cơ quan phân tích	Nghiệm thức	Vi khuẩn tổng	<i>Vibrio</i> spp.	V/T (%)
Ruột	0,5%	$195,1 \pm 70,1^a$	$45,2 \pm 13,2^a$	23,2
	1,0%	$143,7 \pm 37,1^a$	$23,4 \pm 3,92^a$	16,3
	1,5%	$121,4 \pm 29,8^a$	$33,6 \pm 20,4^a$	27,7
	0% (đối chứng)	$119,3 \pm 38,9^a$	$42,0 \pm 9,58^a$	35,2
Gan tụy	0,5%	$866,7 \pm 159,2^a$	$62,3 \pm 25,6^{ab}$	7,2
	1,0%	$550,1 \pm 159,4^a$	$44,4 \pm 9,48^a$	8,1
	1,5%	$950,0 \pm 290,1^a$	$82,3 \pm 18,0^b$	8,7
	0% (đối chứng)	$604,4 \pm 242,4^a$	$78,5 \pm 5,78^b$	13,0

Ghi chú: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có ký tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$). V/T: tỉ lệ vi khuẩn *vibrio*/vi khuẩn tổng.

Kết quả ghi nhận việc bổ sung cao chiết thảo dầu cũng giúp giảm lượng vi khuẩn *Vibrio* spp. trong ruột và gan tụy tôm sau 60 ngày bổ sung. Tuy nhiên, ở nghiệm thức bổ sung nồng độ cao chiết thảo dầu cao (1,5%) lại có hiệu quả diệt khuẩn trong ruột và gan tụy thấp hơn so với nồng độ 0,5% và 1% cao chiết ($P<0,05$). Như vậy, cao chiết thảo dầu được bổ sung cho tôm với nồng độ cao và trong thời gian dài có thể gây ức chế khả năng bảo vệ của hệ miễn dịch của tôm, làm giảm hiệu quả diệt vi khuẩn *Vibrio* spp. của cao chiết. Kết quả ghi nhận trong thí nghiệm này tương tự với nghiên cứu của Malar and Charles (2013) [23] khi bổ sung cao chiết *Curcuma longa* vào thức ăn tôm sú (*P. monodon*). Trong đó, nghiệm thức bổ sung 25 ppm có mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. thấp nhất với $0,77 \times 10^9$ CFU/g, có hiệu quả diệt *Vibrio* spp. cao hơn đáng kể so với nghiệm thức bổ sung cao chiết 12,5 và 50 ppm tương ứng với mật độ là 1,67 và $6,19 \times 10^9$ CFU/g. Velmurugan and Citarasu (2010) [24] nhận định hệ vi sinh đường ruột tôm thẻ đuôi đỏ (*F. indicus*) có sự chênh lệch về chất lượng và số lượng khi bổ sung hỗn hợp cao chiết thảo dược (*Murraya koenigii*, *Psoralea corylifolia* và *Quercus infectoria*) vào thức ăn của tôm. Ở nghiệm thức tôm ăn thức ăn bổ sung hàm lượng 1000 mg/kg thức ăn thì mật độ vi khuẩn tổng và *Vibrio* spp. trong ruột tôm thấp hơn ($2,8 \times 10^3$ và $1,35 \times 10^2$ CFU/g) so với nghiệm thức đối chứng ($5,8 \times 10^5$ CFU/g). Ngoài ra, hỗn hợp cao chiết thảo dược còn có thể kiểm soát hiệu quả các tác nhân gây bệnh khác như *Salmonella*, *Vibrio* sp., *Yersinia* và *Aeromonas* sp. có trong tôm *F. indicus*. Trong khi đó, Supamattaya và cộng sự (2004) [25] lại không ghi nhận sự thay đổi đáng kể về số lượng vi khuẩn trong gan tụy và ruột của tôm sú khi được sử dụng cao chiết nghệ ở hàm lượng 50 và 200 mg/kg thức ăn. Điều này được giải thích là do hàm lượng curcuminoid trong cao chiết thấp, dẫn đến tôm kém hấp thụ thức ăn.

Thảo dầu được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học cao, trong đó khả năng kháng khuẩn là một trong những hoạt tính tiêu biểu của chúng. Cụ thể, chiết xuất bằng ether dầu hỏa, ethanolic và acetone của thảo dầu cho vùng ức chế vi khuẩn cao, hay chiết xuất hexane và methanol từ rễ thảo dầu có hoạt động kháng lại vi khuẩn gây bệnh rất tốt, tuy nhiên chất chiết xuất bằng nước lại không có tính chất kháng khuẩn đáng kể [22], [26],

Ahmad và cộng sự (2016) [27] cho rằng thầu dầu có tác dụng bảo vệ gan, dễ tiêu hóa và trong chiết xuất thầu dầu có các thành phần steroid, saponin, alkaloid, flavonoid và glycoside. Theo ghi nhận của Prince và cộng sự (2011) [28] về tác dụng bảo vệ gan của chiết xuất etanolic từ lá thầu dầu thì trong lá thầu dầu có sự hiện diện của flavonoid và tannin; các chất này có hiệu quả ức chế hoạt động của transaminase huyết thanh và peroxid hóa lipid trong gan, giúp điều hòa phosphatase axit và kiềm trong gan. Hay hoạt chất N-demethyl ricinine chiết xuất từ thầu dầu là thành phần trong thuốc chống tiêu hóa và chúng có tiềm năng bảo vệ gan giảm lượng paracetamol gây ra tổn thương về gan [29]-[31].

Ngoài ra, một báo cáo khác cho chất chiết thầu dầu có chứa tanin, flavonoid, triterpenoids và sesquiterpen chúng tham gia vào hoạt động chống oxy hóa và ức chế peroxid hóa lipid và nó còn có tác dụng kích thích sự lành lại nhanh chóng của vết thương [32]; hay hoạt động chống độc nhờ vào sự hiện diện của các thành phần như saponin, steroid, alkaloids [33]; đồng thời chúng giúp điều hòa miễn dịch bằng cách kích hoạt hệ thống miễn dịch không đặc hiệu thông qua quá trình thực bào các vật thể lạ nhờ vào bạch cầu [34].

4. Kết luận và kiến nghị

Bổ sung 0,5% và 1,0% cao chiết thầu dầu vào chế độ ăn của tôm thẻ chân trắng trong 60 ngày giúp giảm mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. trong ruột, gan tụy tôm và cải thiện tốc độ tăng trưởng.

Tiếp tục thử nghiệm đánh giá hiệu quả của cao chiết thầu dầu lên tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm ở ngoài ao, từ những kết quả đó có thể sử dụng cao chiết thầu dầu trong nuôi tôm thương phẩm nhằm hạn chế xuất hiện bệnh cũng như kích thích tăng trưởng đối với tôm nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. Citarasu, "Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry," *Aquaculture International*, vol. 18, no. 3, pp. 403-414, 2010.
- [2] S. B. Chakraborty and C. Hancz, "Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture," *Rev. Aquac.*, vol. 3, pp. 103-119, 2011.
- [3] R. Harikrishnan, C. Balasundaram, and M. S. Heo, "Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish," *Aquaculture*, vol. 317, pp. 1-15, 2011.
- [4] S. Direkbusarakom, "Application of Medicinal Herbs to Aquaculture in Asia," *Walailak J Sci Technol.*, vol. 1, pp. 7-14, 2004.
- [5] C. Chitmanat, K. Tongdonmuan, and P. Khanom, "Antiparasitic, antibacterial, and antifungal activities derived from a Terminalia catappa solution against some tilapia (*Oreochromis niloticus*) pathogens," *Acta Hort.*, vol. 678, pp. 179-182, 2005.
- [6] J. Ji, C. Lu, Y. Kang, G. X. Wang, and P. Chen, "Screening of 42 medicinal plants for in vivo anthelmintic activity against *Dactylogyrus intermedius* (Monogenea) in goldfish (*Carassius auratus*)," *Parasitology research*, vol. 111, no. 1, pp. 97-104, 2012.
- [7] S. B. R. Castro, C. A. G. Leal, F. R. Freire, D. A. Carvalho, D. F. Oliveira, and H. C. P. Figueiredo, "Antibacterial activity of plant extracts from Brazil against fish pathogenic bacteria," *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 39, no. 4, pp. 756-760, 2008.
- [8] L. Roomiani, M. Soltani, A. Akhondzadeh Basti, A. Mahmoodi, A. Taheri Mirghaedi, and F. Yadollahi, "Evaluation of the chemical composition and in vitro antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora*, *Anethum graveolens* and *Eucalyptus globulus* against *Streptococcus iniae*; the cause of zoonotic disease in farmed fish," *Iranian Journal of fisheries sciences*, vol. 12, no. 3, pp. 702-716, 2013.
- [9] G. Immanuel, V. C. Vincybai, V. Sivaram, A. Palavesam, and M. P. Marian, "Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles," *Aquaculture*, vol. 236, pp. 53-65, 2004.
- [10] M. H. Ahmad, A. M. D. El Mesallamy, F. Samir, and F. Zahran, "Effect of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) on growth performance, feed utilization, whole-body composition, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia," *J. Appl. Aquac.*, vol. 23, pp. 289-298, 2011.

- [11] M. Abdel-Tawwab, "The use of American ginseng (*Panax quinquefolium*) in practical diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): growth performance and challenge with *Aeromonas hydrophila*," *J. Appl. Aquac.*, vol. 24, pp. 366-376, 2012.
- [12] S. Radhakrishnan, P. Saravana Bhavan, C. Seenivasan, R. Shanthi, and R. Poongodi, "Influence of medicinal herbs (*Alteranthera sessilis*, *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth and biochemical parameters of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*," *Aquac. Int.*, vol. 22, pp. 551-572, 2014.
- [13] M. Vaishali, H. Dinesh, D. Keshav, and P. Shreyas, "A comprehensive review of phytopharmacology of *Ricinus communis* (Linn.)," *International Journal of Phytopharmacology*, vol. 5, no. 4, pp. 328-334, 2014.
- [14] S. Ram and Geetanjali, "Phytochemical and pharmacological investigations of *Ricinus communis* Linn," *Algerian Journal of Natural Products*, vol. 3, no. 1, pp. 120-129, 2015.
- [15] H. M. Huyen, T. T. T. Hoa, and V. T. Huy, "Effects of *Ricinus communis* L. extract on the immuneresponse and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* of the white leg shrimp (*Penaeus vannamei*)," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 55, no. 4, pp. 72-80, 2019.
- [16] G. Sankar, A. Elavarasi, K. Sakkaravarthi, and K. Ramamoorthy, "Biochemical changes and growth performance of black tiger shrimp larvae after using *Ricinus communis* extract as feed additive," *International Journal of PharmTech Research*, vol. 3, no. 1, pp. 201-208, 2011.
- [17] P. S. Bhavan, S. Mohammedsiddiq, V. Srinivasan, T. Muralisankar, and N. Manickam, "Effects of seeds of medicinal plants, *Syzygium cumini*, *Phyllanthus emblica*, *Azadirachta indica* and *Ricinus communis* on growth promotion in *Macrobrachium malcolmsonii* early juveniles," *International Journal of Research Studies in Bioscience*, vol. 2, no. 11, pp. 95-106, 2014.
- [18] K. Venkatramalingam, J. G. Christopher, and T. Citarasu, "Zingiber officinalis an herbal appetizer in the tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) larviculture," *Aquaculture Nutrition*, vol. 13, no. 6, pp. 439-443, 2007.
- [19] Y. P. Chang, C. H. Liu, C. C. Wu, C. M. Chiang, J. L. Lian, and S. L. Hsieh, "Dietary administration of zingerone to enhance growth, non-specific immune response, and resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles," *Fish & shellfish immunology*, vol. 32, no. 2, pp. 284-290, 2012.
- [20] O. Lawhavinit, W. Surachetpong, B. Inthasri, and N. Areechon, "Efficiency of chitosan to *Vibrio* spp. isolated from diseased black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius in Thailand," *Kasetsart J.*, vol. 40, pp. 235- 241, 2011.
- [21] A. Bhaumik, M. Swapna, M. Sucharitha, S. Sravya, M. Lavanya, and Md. S. Ahmed, "Phytochemical and antimicrobial screening of various extracts of castor fruit-seeds (*Ricinus communis* L.)," *International Journal of Information Research and Review*, vol. 1, no. 10, pp. 124-127, 2014.
- [22] H. M. Huyen, V. T. Huy, and T. T. T. Hoa, "Antimicrobial activity of herbal extracts against shrimp pathogenic bacteria," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 54 (Aquaculture) (2), pp. 143-150, 2018.
- [23] H.V. Malar and P. M. Charles, "Effect of turmeric *Curcuma longa* Linn. extract on immunity and resistance to *Vibrio harveyi* in black tiger shrimp *Penaeus monodon*," *International Journal of Research in Zoology*, vol. 3, no. 2, pp. 21-26, 2013.
- [24] S. Velmurugan and T. Citarasu, "Effect of herbal antibacterial extracts on the gut floral changes in Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*," *Romanian Biotechnological Letters*, vol. 15, no. 6, pp. 5709-5717, 2010.
- [25] K. Supamattaya, N. Suntornchareonnon, M. Boonyaratpalin, and J. Ruangsri, "Effect of three Thai medicinal plants on growth performance, immune functions and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius)," in *Proceedings of the JSPS-NRCT International Symposium Management of Food Safety in Aquaculture and HACCP*, 2004, pp. 20-21.
- [26] A. Mathur, S. K. Verma, S. Yousuf, S. K. Singh, G. B. K. S. Prasad, and V. K. Dua, "Antimicrobial potential of roots of *Ricinus communis* L. against pathogenic microorganisms," *International Journal of Pharmaceutical and Bio Sciences*, vol. 2, no. 1, p. 545, 2011.
- [27] N. Ahmad, A. Mishra, F. Ahsan, T. Mahmood, N. Hasan, & Z.Khan, "*Ricinus communis*: Pharmacological actions and marketed medicinal products". *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, vol 2, no. 6, pp. 179-188, 2016.

-
- [28] E. S. Prince, P. Parameswari, and R. M. Khan, "Protective Effect of *Ricinus communis* Leaves extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in albino rats," *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 7, no. 4, pp. 269-278, 2011.
- [29] B. Shukla, P. K. S. Visen, G. K. Patnaik, N. K. Kapoor, and B. N. Dhawan, "Hepatoprotective effect of an active constituent isolated from the leaves of *Ricinus communis* Linn," *Drug Development Research*, vol. 26, pp. 183-193, 1992.
- [30] P. K. S. Visen, B. Shukla, G. K. Patnaik, S. C. Tripathi, D. K. Kulshetra, R. C. Srimal, and B. N. Dhawan, "Hepatoprotective activity of *Ricinus communis* leaves," *Pharmaceutical Biology*, vol. 30, pp. 241-250, 1992.
- [31] M. V. Natu, S. Agarwal, and S. L. Agarwal, "Protective Effect of *Ricinus communis* L. leaves in Experimental Liver Injury," *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 9, pp. 265-268, 1997.
- [32] A. K. Saini, R. Goyal, V. K. Gauttam, and A. N. Kalia, "Evaluation of anti-inflammatory potential of *Ricinus communis* Linn. Leaves extracts and its flavonoids content in Wistar rats," *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, vol. 2, no. 5, pp. 690-695, 2010.
- [33] D. J. Taur and R. Y. Patil, "Antiasthmatic activity of *Ricinus communis* L. roots," *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 1, pp. S13- S16, 2011.
- [34] A. Kumar, V. Singh, and S. Ghosh, "An experimental evaluation of *in vitro* immunomodulatory activity of isolated compounds of *Ricinus communis* L. on human neutrophils," *International Journal of Green Pharmacy*, vol. 5, pp. 201-204, 2011.