

**HIỆU QUẢ CỦA DỊCH CHIẾT CÂY BẠC HÀ MENTHA PIPERITA (L.)
LÊN THÀNH PHẦN VÀ HÀM LƯỢNG ĐẠM TỔNG SỐ TRONG HUYẾT
TƯƠNG VÀ SỨC KHÁNG KHUẨN EDWARDSIELLA TARDA Ở
CÁ ROHU (LABEO ROHITA HAM.)**

NGUYỄN THỊ THANH THỦY

Tóm tắt: Cá Rohu giống (*Labeo rohita* Ham.), ở Việt Nam còn gọi là cá Trôi, được chia ngẫu nhiên thành các lô riêng biệt: lô đối chứng ăn thức ăn bình thường và các lô xử lý (T_1 , T_2 và T_3) được ăn thức ăn có chứa dịch chiết cây Bạc Hà *Mentha piperita* (L.) với các nồng độ tương ứng là 10, 20 và 30 ml/100g thức ăn. Sau ba tuần thí nghiệm, tất cả các lô cá được thu mẫu máu để kiểm tra thành phần albumin (A), globulin (G), tỷ lệ A/G và hàm lượng đạm tổng số trong huyết tương. Sau đó các lô cá được tiêm ở khoang bụng một liều (10^6 tế bào/cá) dung dịch vi khuẩn *Edwardsiella tarda* chết xử lý bằng formol 1 %. Mẫu máu các lô cá được kiểm tra định kỳ hàng tuần. Sau hai tuần tiêm chủng, tất cả các lô cá được gây nhiễm khuẩn bằng cách tiêm một liều tương tự như tiêm chủng nhưng với dung dịch vi khuẩn *E. tarda* sống. Kết quả cho thấy rằng hàm lượng đạm tổng số và globulin trong huyết tương ở các lô cá xử lý tăng đáng kể ($P < 0.05$) so với lô đối chứng. Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể ($P > 0.05$) về tỷ lệ A/G giữa lô đối chứng và các lô xử lý. Hàm lượng đạm tổng số và globulin trong huyết tương ở cả lô đối chứng và các lô xử lý tăng đáng kể sau khi cá được tiêm chủng và nhiễm khuẩn *E. tarda*. Sức kháng khuẩn *E. tarda* tăng đáng kể ở các lô cá được ăn thức ăn có chứa dịch chiết cây Bạc Hà *M. piperita* (L.).

I. MỞ ĐẦU

Sự thay đổi hàm lượng đạm tổng số và các thành phần albumin (A), globulin (G) và tỷ lệ A/G trong huyết tương là một trong những chỉ số để đánh giá tình trạng sức khỏe và khả năng chịu đựng sốc của cá (Wedemeyer và McLeay, 1981). Theo Grasman và cộng sự (2000), sự thay đổi thành phần và hàm lượng đạm tổng số phản ánh trạng thái dinh dưỡng, sinh lý và tình trạng viêm nhiễm của cơ thể, vì vậy nó là chỉ số để đánh giá tình trạng sức khỏe ở những động vật bậc cao. Chất kích thích hệ miễn dịch có nguồn gốc thực vật đã và đang được dùng ngày càng phổ biến hơn trong phòng trị bệnh, đặc biệt là các bệnh nhiễm khuẩn cho tôm cá nuôi vì các chất này không gây tác dụng phụ như thường gặp khi dùng kháng sinh và vắc xin sống (Siwicki và cộng sự, 1994; Mulero và cộng sự, 1998). Một

nghiên cứu gần đây cho thấy rằng hoạt động của hệ miễn dịch đặc hiệu của cá rô phi *Oreochromis mossambicus* (Peters), thể hiện ở nồng độ kháng thể chống lại vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*, tăng đáng kể khi được tiêm dịch chiết thô cây Bạc Hà *Mentha piperita* (L.) (Michael, 2001). Cá Rohu (*Labeo rohita* (Ham.)), ở Việt Nam còn gọi là cá Trôi, một trong những loài cá nước ngọt tăng trưởng nhanh và có sức sinh sản lớn, đang được nuôi khá phổ biến ở nhiều nước châu Á và Việt Nam. Vi khuẩn *Edwardsiella tarda* là tác nhân gây bệnh nhiễm trùng máu “*Edwardsiella septicemia*” ở nhiều loài cá nuôi. Thí nghiệm này xác định ảnh hưởng của dịch chiết cây Bạc Hà *M. piperita* (L.) qua thức ăn đến hoạt động của hệ miễn dịch, thể hiện ở thành phần, hàm lượng đạm tổng số trong huyết tương và sức kháng khuẩn *E. tarda*, của cá Rohu giống (*Labeo rohita* Ham.).

II. TÀI LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Chuẩn bị thức ăn và dung dịch vi khuẩn

Cây *Mentha piperita* (L) tươi (50 g) được rửa sạch, xay nhuyễn và ngâm qua đêm trong dung dịch gồm 100 ml cồn 90⁰C và 100 ml nước cất. Dung dịch thô này được ly tâm để loại bỏ hết các chất xơ. Các lô thức ăn T₁, T₂ và T₃ được chuẩn bị bằng cách trộn thức ăn thông thường với dịch chiết thô ở các nồng độ tương ứng là 10, 20 và 30 ml/100 g thức ăn. Sau khi trộn đều, hỗn hợp này được chế biến thành dạng viên. Thức ăn viên này được làm khô tự nhiên và giữ trong tủ sấy ở nhiệt độ 50⁰C trong 24 giờ và bảo quản nơi khô ráo.

Dung dịch vi khuẩn sống dùng gây cảm nhiễm cá được chuẩn bị bằng cách nuôi cấy vi khuẩn thuần chủng *E. tarda* trong môi trường Tryptone Soya Broth (TSB) trong 24 giờ, ly tâm với dung dịch nước muối trung tính (PBS, pH = 7.4) tiệt trùng và điều chỉnh ở mật độ quang phổ (OD) 0.5 với bước sóng 540 nm (Hanson và Ainsworth, 1999). Dung dịch vi khuẩn *E. tarda* chết dùng cho tiêm chủng được chuẩn bị bằng cách xử lý vi khuẩn *E. tarda* sống với dung dịch formol 1% trong 24 giờ, sau đó ly tâm trong dung dịch nước muối trung tính tiệt trùng và điều chỉnh ở mật độ quang phổ 0.5 với bước sóng 540 nm như dung dịch vi khuẩn sống.

2. Bố trí thí nghiệm

Cá Rohu giống với kích thước đồng đều (35±2g) được chia ngẫu nhiên làm các lô riêng biệt (10 cá/lô, mỗi lô gồm 2 bể có thể tích 1 m³). Lô đối chứng (ĐC) âm và dương được ăn thức ăn không có dịch chiết thực vật; các lô xử lý T₁, T₂ và T₃ được ăn thức ăn có chứa dịch chiết *M.piperita* (L.) với các nồng độ 10, 20 và 30 ml/100g thức ăn. Sau 3 tuần thí nghiệm, mẫu máu được thu ở tĩnh mạch đuôi cá để kiểm tra hàm lượng đạm tổng số, albumin (A), globulin (G) và tỷ lệ A/G của huyết tương. Sau đó các lô xử lý và đối chứng

dương được tiêm chủng ở khoang bụng với 0.2 ml (10^6 tế bào/cá) dung dịch vi khuẩn *E. tarda* chết. Lô đối chứng âm được tiêm với 0.2 ml dung dịch nước muối sinh lý. Sau 2 tuần tiêm chủng, tất cả các lô cá được tiêm ở khoang bụng với 0.2 ml dung dịch vi khuẩn *E. tarda* sống. Sau khi gây cảm nhiễm, tất cả các lô cá đều được ăn thức ăn không có dịch chiết thực vật. Tỷ lệ tử vong của các lô cá được theo dõi hàng ngày. Cá sống sót sau 1 tuần cảm nhiễm được thu mẫu máu để xác định thành phần và hàm lượng đạm tổng số của huyết tương.

3. Phương pháp tách huyết tương và phân tích sinh hóa

Máu được thu từ tĩnh mạch đuôi của cá với chất chống đông là heparin (Sigma, Diagnostics). Ngay sau khi rút, máu của 10 cá trong cùng lô được trộn đều và đưa vào li tâm với tốc độ 10000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C. Sau khi li tâm 15 phút, huyết tương được tách ra và bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi phân tích các chỉ tiêu sinh hoá.

Hàm lượng đạm tổng số của huyết tương được xác định theo phương pháp của Bradford (1976) (dye binding method): Trộn đều 1 ml thuốc thử Biuret với 2 ml nước cất và 50 µl huyết tương và ủ ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút. Mật độ quang phổ (OD) của dung dịch được xác định bằng máy so màu quang phổ (AR 601 - Analyser, Glaxo Qualisystems) ở bước sóng 540 nm.

Albumin (A) và globulin (G) của huyết tương được xác định theo phương pháp của Doumas và cộng sự (1971) (Bromocresol green (BCG) method): Trộn đều 1 ml thuốc thử (buffered dye reagent) với 2 ml nước cất và 10 µl huyết tương, sau đó đo ngay mật độ quang phổ (OD) của dung dịch ở bước sóng 630 nm bằng máy AR 601 - Analyser, Glaxo Qualisystems.

Công thức tính:

$$1. \text{Đạm tổng số} = \frac{At}{As} \times 60 \text{ (mg/ml)}$$

$$2. \text{Albumin} = \frac{At}{As} \times 40 \text{ (mg/ml)}$$

$$3. \text{Globulins} = \text{Đạm tổng số} - \text{Albumin (mg/ml)}$$

Với: A_t : OD của huyết tương xác định; A_s : OD của dung dịch chuẩn.

4. Sức kháng khuẩn

Phần trăm sống sót tương đối (RPS) của cá được tính theo công thức sau:

$$\text{RPS} = \left(1 - \frac{T}{N}\right) \times 100 \text{ (trong Logambal và cộng sự, 2000)}$$

Trong đó: T: phần trăm tỷ lệ tử vong của lô xử lý

N: phần trăm tỷ lệ tử vong của lô đối chứng âm được tiêm nước muối sinh lý

5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học dùng phần mềm Microsoft Excel và phép thử Student's t -test với độ tin cậy là 95% ($P < 0.05$)

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần và hàm lượng đạm tổng số trong huyết tương của cá thí nghiệm

Huyết tương (plasma) và huyết thanh (Serum) đều là thể dịch được tách ra từ máu sau khi loại bỏ phần tế bào máu. Tuy nhiên huyết tương có chứa yếu tố đông máu (Clotting factor) còn huyết thanh thì không có yếu tố này. Hrubec và Smith (1999) cho rằng dùng huyết tương để phân tích các chỉ tiêu sinh hoá của máu sẽ cho kết quả chính xác hơn vì có thể tách huyết tương ngay sau khi rút máu, trong khi đó huyết thanh thường bị ảnh hưởng bởi quá trình phán huỷ hồng cầu (hemolysis). Do vậy trong nghiên cứu này, huyết tương đã được sử dụng để phân tích các chỉ tiêu sinh hoá của máu cá.

Theo Wiegertjes và cộng sự (1996), hàm lượng đạm tổng số và globulin trong huyết thanh tăng cao là biểu hiện của sự tăng cường hoạt động của hệ miễn dịch tự nhiên của cá. Một nghiên cứu trước đây cho thấy đạm tổng số trong huyết thanh của cá Rohu giống tăng từ 32.5 đến 34.2mg/ml sau khi được xử lý với probiotic (Sahoo và cộng sự, 1999). Trong thí nghiệm này, sau 3 tuần được ăn thức ăn chứa dịch chiết Bạc Hà *M. piperita* (L.), nhìn chung đạm tổng số và globulin trong huyết tương của các lô xử lý T₁, T₂ và T₃ tăng lên đáng kể so với lô đối chứng (bảng 1). Tuy nhiên, một số kết quả ngoại lệ cũng được ghi nhận trong quá trình phân tích, điều này có thể do sự sai số của phương pháp và ảnh hưởng của quá trình thu mẫu máu. Kết quả này cho thấy rằng dịch chiết *M. piperita* (L.) qua thức ăn đã tăng cường hoạt động của hệ miễn dịch tự nhiên của cá thể hiện ở sự tăng hàm lượng đạm tổng số và globulin trong huyết tương cá. Tuy nhiên, không có sự khác nhau đáng kể về tỷ số A/G ở tất cả các lô cá thí nghiệm (bảng 1). Kết quả cho thấy dịch chiết *M. piperita* (L.) trong thức ăn không ảnh hưởng tới tỷ số A/G trong huyết tương.

Theo Melingen và cộng sự (1995), đạm tổng số trong huyết tương của cá Hồi Đại dương (*Salmo salar* L.) không bị ảnh hưởng bởi tiêm chủng. Bergljót và cộng sự (2001) cũng cho rằng đạm tổng số trong huyết tương cá Tuyết (*Gadus morhua* L.) dao động từ 25 đến 45 mg/ml nhưng không bị ảnh hưởng bởi tiêm chủng, nhiệt độ và các yếu tố về mùa vụ. Tuy nhiên theo Shariff và cộng sự (2001), đạm tổng số trong huyết tương của cá chép

Nhật *P. gonionotus* tăng đáng kể từ 25 đến 45mg/ml sau khi được xử lý với vi khuẩn *A. hydrophila*. Magnadottir và Gudmundsdottir (1992) cũng công bố rằng đạm tổng số trong huyết thanh ở cá Hồi Đại dương tăng đáng kể khi bị nhiễm khuẩn tự nhiên *A. salmonicida* subsp. *Acromogenes*. Trong thí nghiệm này, hàm lượng đạm tổng số và globulin trong huyết tương của cá ở cả lô đối chứng và xử lý đều biến động theo chiều hướng tăng đáng kể ($P < 0.05$) đồng thời với sự giảm tỷ lệ A/G so với trước khi tiêm chủng và cảm nhiễm (bảng 1). Theo Oruc và Uener (1999), sự tăng hàm lượng đạm tổng số và globulin trong máu cá là sự thích nghi của cơ thể nhằm bổ sung hàm lượng đạm bị mất trong điều kiện bị sốc hoặc viêm nhiễm. Đồng thời đây có thể được xem là cơ chế tự bảo vệ chống lại tác nhân gây bệnh xâm nhập vào cơ thể.

Bảng 1: Hàm lượng đạm tổng số, albumin (A), globulin (G) (mg/ml) và tỷ số A/G trong huyết tương của cá Rohu giống (*Labeo rohita* Ham.)

Lô thí nghiệm	Sau 3 tuần xử lý	Sau 1 tuần tiêm chủng	Sau 2 tuần tiêm chủng	Sau 1 tuần cảm nhiễm
	Đạm tổng số			
ĐC âm	11.118 ^a ± 0.285 ₁	16.051 ^a ± 0.331 ₂	18.746 ^{ab} ± 0.498 ₂	18.278 ^a ± 2.103 ₂
ĐC dương	11.120 ^a ± 0.199 ₁	16.184 ^a ± 0.113 ₂	18.915 ^{ab} ± 0.237 ₂	18.321 ^a ± 1.941 ₂
T ₁	13.168 ^{bc} ± 1.076 ₁	19.682 ^b ± 0.331 ₂	17.822 ^a ± 0.198 ₂	27.152 ^b ± 2.705 ₃
T ₂	15.714 ^c ± 0.469 ₁	15.105 ^{ac} ± 0.985 ₁	13.993 ^b ± 0.695 ₁	19.205 ^{ac} ± 0.574 ₂
T ₃	12.236 ^{ab} ± 0.753 ₁	17.389 ^c ± 0.689 ₂	20.858 ^{ab} ± 2.080 ₂	26.954 ^{bc} ± 4.327 ₃
Hàm lượng Albumin				
ĐC âm	5.770 ^a ± 0.111 ₁	6.266 ^a ± 0.099 ₁	6.791 ± 1.762 ₁	4.522 ^a ± 0.278 ₁
ĐC dương	5.760 ^a ± 0.192 ₁	6.179 ^a ± 0.108 ₁	6.689 ± 1.679 ₁	4.459 ^a ± 0.199 ₁
T ₁	7.176 ^b ± 0.627 ₁	7.198 ^b ± 0.293 ₁	5.468 ± 0.779 ₁	6.221 ^{ab} ± 0.651 ₁
T ₂	5.939 ^{ab} ± 0.294 ₁	5.854 ^a ± 0.799 ₁	5.314 ± 0.579 ₁	6.263 ^{ab} ± 1.602 ₁
T ₃	5.794 ^{ab} ± 0.111 ₁	6.916 ^{ab} ± 0.327 ₁	6.024 ± 0.327 ₁	7.091 ^b ± 0.578 ₁
Hàm lượng Globulin				
Đối chứng	5.348 ^a ± 0.248 ₁	9.785 ^a ± 0.426 ₂	11.955 ^{ab} ± 1.671 ₂	13.756 ^a ± 2.369 ₂
ĐC dương	5.492 ^a ± 0.194 ₁	9.891 ^a ± 0.298 ₂	12.005 ^{ab} ± 1.227 ₂	13.988 ^a ± 1.987 ₂
T ₁	5.992 ^{ab} ± 1.678 ₁	12.484 ^b ± 0.428 ₂	12.354 ^{ac} ± 0.689 ₂	20.932 ^b ± 2.492 ₃
T ₂	9.775 ^b ± 0.484 ₁	9.251 ^{ac} ± 0.228 ₁	8.679 ^{bd} ± 1.275 ₁	12.942 ^a ± 1.884 ₂
T ₃	6.442 ^b ± 0.864 ₁	10.473 ^{bc} ± 0.555 ₂	14.834 ^{cd} ± 1.763 ₂	19.863 ^b ± 4.574 ₃
Tỷ lệ A/G				
ĐC âm	1.080 ± 0.051 ₁	0.641 ± 0.039 ₂	0.588 ± 0.217 ₂	0.339 ± 0.086 ₂
ĐC dương	1.049 ± 0.063 ₁	0.625 ± 0.024 ₂	0.557 ± 0.129 ₂	0.319 ± 0.104 ₂
T ₁	1.300 ± 0.549 ₁	0.577 ± 0.040 ₂	0.446 ± 0.088 ₂	0.300 ± 0.045 ₂
T ₂	0.609 ± 0.050 ₁	0.632 ± 0.074 ₁	0.628 ± 0.165 ₁	0.504 ± 0.213 ₁
T ₃	0.912 ± 0.136 ₁	0.580 ± 0.107 ₂	0.408 ± 0.029 ₂	0.372 ± 0.106 ₂

- Các ký tự khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa ($P < 0.05$) giữa các lô thí nghiệm (Student's t - test)

- Các số khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa ($P < 0.05$) giữa các lần thu mẫu (Student's t - test)

Mặt khác, theo Sahoo và Mukherjee (2001a,b), sự giảm hàm lượng đạm tổng số và globulin cùng với sự tăng tỷ lệ A/G được coi là hiện tượng ức chế hệ miễn dịch của cá Rohu giống khi được xử lý aflatoxin. Trong thí nghiệm này, kết quả cho thấy hoạt động của hệ miễn dịch ở các lô cá thí nghiệm đã không bị ức chế sau khi tiêm chủng và cảm nhiễm.

2. Sức kháng khuẩn *E.tarda* của cá thí nghiệm

Kết quả cho thấy tỷ lệ tử vong của cá thí nghiệm xảy ra trong vòng 4 ngày sau khi bị cảm nhiễm (bảng 2). Phân trăm sống sót tương đối (RPS) ở lô đối chứng là thấp nhất so với các lô xử lý. Kết quả chứng tỏ rằng dịch chiết *M. piperita* (L) có tác dụng tăng cường sức kháng khuẩn *E. tarda* ở các lô cá xử lý. Thực tế cho thấy phương pháp trộn chất kích thích vào thức ăn được xem là phương pháp thông dụng trong nuôi tôm cá (Siwicki, 1989; Sahoo và Mukherjee, 1999; 2001, Philip và cộng sự, 2001). Tuy nhiên, cơ chế của quá trình trao đổi chất kích thích hệ miễn dịch xảy ra trong ruột vẫn chưa được giải thích đầy đủ. Có giả thuyết cho rằng quá trình tiếp nhận chất kích thích hệ miễn dịch có thể được thực hiện bởi hệ thống miễn dịch màng nhày (mucosal immune system: MIS) trong thành ruột. Hệ thống này lại được cấu tạo bởi hệ thống thực bào đơn nhân (mononuclear phagocyte system) và tế bào Lympho ở ruột (gut-associated lymphoid tissue: GALT) (Castro, 1993), vì vậy nó kích thích hệ miễn dịch (Duncan và Klesius, 1996).

Bảng 2. Phân trăm sống sót tương đối (RPS) của cá Rohu giống (*Labeo rohita* Ham.) sau khi bị nhiễm khuẩn *Edwardsiella tarda*

Lô	Số cá ban đầu	Tỷ lệ tử vong hàng ngày							% RPS
		1	2	3	4	5	6	7	
ĐC âm	10 x 2	4	8	0	0	0	0	0	-
ĐC dương	10 x 2	6	2	0	0	0	0	0	33.33
T ₁	10 x 2	2	2	0	2	0	0	0	50.00
T ₂	10 x 2	0	2	2	0	0	0	0	66.67
T ₃	10 x 2	0	0	2	0	0	0	0	66.67

IV. KẾT LUẬN

Kết quả cho thấy rằng hàm lượng đạm tổng số và globulin trong huyết tương ở các lô cá được ăn thức ăn chứa dịch chiết Bạc Hà *M. piperita* (L.) tăng đáng kể ($P < 0.05$) so với lô đối chứng. Tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể ($P > 0.05$) về tỷ lệ A/G giữa lô đối chứng và các lô xử lý. Hàm lượng đạm tổng số và globulin trong huyết tương ở cả lô đối chứng và lô xử lý tăng đáng kể ($P < 0.05$) sau khi cá được tiêm chủng và nhiễm khuẩn *E. tarda*. Sức kháng khuẩn *E. tarda* tăng đáng kể ở các lô cá được ăn thức ăn có chứa dịch chiết *M. piperita* (L.).

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hỗ trợ về kinh phí và cơ sở vật chất từ chương trình trao đổi văn hóa giữa Việt Nam và Ấn Độ (ICCR), Viện Giáo dục nghề cá (CIFE), Mumbai và Viện Hải dương học, Nha Trang.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bergljót, M., Halla J., Sigurdur H., Bjørn, B., Stein T. S. & Lars 2001. Immune parameters of immunized cod (*Gadus morhua* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 11: 75-89.
2. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein. *Annual Biochemistry* 72: 248.
3. Castro, G. A., 1993. Immunological regulation of epithelial function. p. 7 -23. In W. A. Walker, P. R., Harmatz, and B. K. Wershil, editors. *Immunophysiology of the gut*. Academic Press, New York.
4. Doumas, B. T., Watson, W. A. & Biggs, H. G. 1971. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta* 31: 87 - 96.
5. Duncan, L. & Klesius, H., 1996. Effects of feeding Spirulina on specific and nonspecific immune responses of channel catfish. *J. Aquatic Animal Health*, 8 (4): 308-313.
6. Grasman K. A, Armstrong M, Hammersley D. L, Scanlon P. F & Fox G.A., (2000). Geographic variation in blood plasma protein concentrations of young herring gulls (*Larus argentatus*) and Caspian terns (*Sterna caspia*) from the Great Lakes and Lake Winnipeg. *Comparative Biochemistry Physiological Toxicological Pharmacology* 125 (3):365-75.

7. **Hrubec, T. C. & Smith, S. A. 1999.** Differences between plasma and serum samples for the evaluation of blood chemistry values in rainbow trout, channel catfish, hybrid tilapias, and hybrid striped bass. *Journal of Aquatic Animal Health* 11 (2): 116-122.
8. **Kumar, N. K., 2001.** Effect of certain plant extracts on immune system of *Cyprinus carpio*. M.F.Sc. Dissertation. Submitted to Cent. Ins. Fish. Edu., CIFE (Deemed University) Mumbai, India. p. 38.
9. **Logambal, S. M., Venkatalakshmi, S. & Dinakaran Michael, R. 2000.** Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Hydrobiologia*, 430 (1- 3):113 -120.
10. **Magnadottir, B. and Gudmundsdottir, B. K., 1992.** A comparison of total and specific immunoglobulin levels in healthy Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and in salmon naturally infected with *Aeromonas salmonicida* subs *acromogenes*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* , 32: 179 - 189.
11. **Melingen, G. O. Stefansson, Berg, A. & Werggeland H. I. 1995.** Change in serum protein and IgM concentration during smolting and early post- smolt period in vaccinated and unvaccinated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 5: 211 - 221.
1. **12.Michael, R. D., 2001.** Scope for using medicinal plant extracts as immunostimulants in finfish aquaculture. Natl. workshop on Aquaculture Medicine, p. 81.
12. **Mulero, V., M. A. Esteban, J. Munoz & Mesequer, J. 1998.** Dietary intake of levamisole enhances the immune response and disease resistance of the marine teleost gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 8: 49 - 62.
13. **Oruc, E. Oe. & Uener, N. 1999.** Effects of 2,4-Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle and liver of *Cyprinus carpio*. *Environmetal Pollution* 105 (2): 267-272.
14. **Philip, R., Sreekumar. K., Anas, A. & Bright Singh I. S., 2001.** Immunostimulants - Source, diversity, commercial preparations and mode of application. Natl. workshop on Aquaculture Medicine, p.74.
15. **Reed, L. J., & Mu#nch, M. 1938.** A simple method of estimating fifty percent end points. *American Journal of Hygiene* 27: 493 -497.

16. **Sahoo, P. K. & Mukherjee, S. C., 2001a.** Dietary intake of levamisole improves non-specific immunity and disease resistance of healthy and aflatoxin - induced immunocompromised Rohu, *Labeo rohita*. *J. Applied Aquacult.*, 11: 4
17. **Sahoo, P. K. & Mukherjee, S. C., 2001b.** Immunosuppressive effects of aflatoxin B₁ in Indian major carp (*Labeo rohita*). *Comp. Immunol. Microbiol. Infectious Dis.*, 24: 143 -149.
18. **Sahoo, P. K., Mohanty, J. & Mukherjee, S. C. 1999.** The effect of three immunomodulators on haematological parameters and immunity level in rohu (*Labeo rohita*) fingerlings. *Journal of Aquatic Tropics* 14(2) 127 - 135.
19. **Shariff, M., ayawardena, A., Yusoff, F. M. & Subasinghe, R. 2001.** Immunological parameters of Javanese carp *Puntius gonionotus* (Bleeker) exposed to copper and challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* 11 (4): 281-291.
20. **Siwicki, A. K., Anderson, D. P. & Rumsey, G. L. 1994.** Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunological Immunopathology* 41: 125 - 139.
21. **Siwicki, A. K., 1989.** Immunostimulating influence of levamisole on non-specific immunity in carp (*Cyprinus carpio*). *Dev. Comp. Immunol.*, 13: 87-91.
22. **Wedemeyer & McLeay 1981.** Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressor. pp. 248 - 275. *In* A. D. Pickering, editor. *Stress and fish*. Academic Press. New York.
23. **Wiegertjes, G. F., R. J. M. Stet, H. K. Parmentier & Muiswinkel, W. B. 1996.** Immunogenetics of Disease Resistance in Fish: A Comparative Approach. *Developmental Comparative Immunology* 20: 365-381.

**THE EFFECT OF MENTHA PIPERITA (L.) EXTRACT MIXED DIET
ON PLASMA TOTAL PROTEIN FRACTIONS AND DISEASE RESISTANCE
AGAINST EDWARDSIELLA TARDA IN ROHU
(LABEO ROHITA HAM.) FINGERLINGS**

NGUYEN THI THANH THUY

Summary: Rohu fingerlings (*Labeo rohita* Ham.) were randomly divided into four groups. The control group was fed on normal diet and three treated groups namely T_1 , T_2 and T_3 groups were fed on plant *Mentha piperita* (L.) extract mixed diet with varying doses viz. 10, 20 and 30 ml/100g feed, separately. After three weeks of feeding, blood was collected from all the groups for testing of plasma total protein, albumin (A), globulin (G) levels and A/G ratio. Then, all the fish groups were immunized intraperitoneally (i.p.) with 1% formalin-killed *E. tarda* suspension (10^6 cells/fish). The laboratory analysis was done weekly after immunization. Then all the groups were challenged (i.p) with live *E. tarda* suspension for testing of disease resistance against the bacteria. The results indicated that plasma total protein and globulin levels significantly ($P < 0.05$) increased in the plant extract treated groups compared to that in the control group. After immunization and one week of challenge, the plasma total protein and globulin levels significantly ($P < 0.05$) increased in both the control and treated groups. However, there was no significant ($P > 0.05$) difference in A/G ratio among groups during the experiments. The plant extract mixed diet enhanced disease resistance against *E. tarda* infection in the plant extract treated fish.

Ngày nhận bài: 25 - 02 - 2007

Địa chỉ: Viện Hải dương học

Người nhận xét: TS. Trường Sĩ Kỳ