

## ĐỘC TỐ SAXITOXIN Ở MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN LAM *CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII* PHÂN LẬP TỪ HỒ DẦU TIẾNG

<sup>1</sup>Nguyễn Thu Hồng, <sup>2</sup>Đào Thanh Sơn, <sup>3</sup>Võ Thị Mỹ Chi, <sup>1</sup>Đặng Quốc Minh,  
<sup>1</sup>Lê Hồ Khánh Hỷ, <sup>1</sup>Phan Bảo Vy, <sup>1</sup>Đoàn Thị Thiệt, <sup>1</sup>Phạm Xuân Kỳ, <sup>1</sup>Đào Việt Hà  
<sup>1</sup>Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam  
<sup>2</sup>Trường Đại học Bách khoa, Tp. Hồ Chí Minh  
<sup>3</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Tp. Hồ Chí Minh

### Tóm tắt

Saxitoxin (STX) là độc tố thuộc nhóm độc tố thần kinh có bản chất là các alkaloids, được biết đến với khái niệm độc tố hai mảnh vỏ gây liệt cơ. Độc tố này được sản sinh bởi các vi tảo hai roi sống trong môi trường nước mặn và vi khuẩn lam sống trong môi trường nước ngọt. Thông qua mạng lưới thức ăn do độc tố tích lũy trong sinh vật hai mảnh vỏ hoặc nguồn nước uống, chúng có thể gây ngộ độc thực phẩm cho con người. Tại Việt Nam, hồ Dầu Tiếng, nơi cung cấp nước cho cư dân Thành phố Hồ Chí Minh, Bình Dương và Đồng Nai, được ghi nhận là thường xuyên có hiện tượng nở hoa của vi khuẩn lam. Trong nghiên cứu này, 15 chủng vi khuẩn *Cylindrospermopsis raciborskii* phân lập từ hồ Dầu Tiếng đã được nuôi cấy tạo sinh khối để kiểm tra độc tố. Bằng cách sử dụng phương pháp sắc kí lỏng cao áp đầu dò huỳnh quang HPLC-FD gắn với lò phản ứng sau cột, 11/15 chủng vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii* đã được phát hiện chứa độc tố STX với hàm lượng dao động từ 13,40  $\mu\text{g.g}^{-1}$  đến 84,57  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Kết quả ban đầu này cho phép nhận định, tại thời điểm thu mẫu, nước của khu vực hồ Dầu Tiếng có thể không an toàn để sử dụng làm nguồn nước sinh hoạt.

## SAXITOXIN IN SOME STRAINS OF *CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII* ISOLATED FROM DAU TIENG RESERVOIR

<sup>1</sup>Nguyen Thu Hong, <sup>2</sup>Dao Thanh Son, <sup>3</sup>Vo Thi My Chi, <sup>1</sup>Dang Quoc Minh,  
<sup>1</sup>Le Ho Khanh Hy, <sup>1</sup>Phan Bao Vy, <sup>1</sup>Doan Thi Thiet, <sup>1</sup>Pham Xuan Ky, <sup>1</sup>Dao Viet Ha  
<sup>1</sup>Institute of Oceanography, Vietnam Academy of Science & Technology  
<sup>2</sup>University of Technology in Ho Chi Minh City  
<sup>3</sup>University of Science in Ho Chi Minh City

### Abstract

Saxitoxin (STX), belonging to neurotoxin group, are alkaloids which are known as paralytic shellfish poisoning. They are produced by marine plankton such as dinoflagellate and fresh water cyanobacteria. They cause food poisoning to human through the food chain or drinking water resources. In Vietnam, the bloom of cyanobacteria is frequently reported at the Dau Tieng reservoir which is water resource of residents living in Ho Chi Minh, Binh Duong and Dong Nai. In this study, 15 strains of cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* isolated from the Dau Tieng reservoir were

cultured for STX detecting. By using high pressure liquid chromatography fluorescence detection (HPLC-FD) with post column reaction, a certain amount of STX (13.40 – 84.57  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) was detected in 11/15 strains of *Cylindrospermopsis raciborskii*. The preliminary results suggest that water from the Dau Tieng reservoir may be contaminated with the toxin at sampling duration.

## I. MỞ ĐẦU

Saxitoxin (STX) (khối lượng phân tử: 299 daltons, công thức hóa học:  $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_4$ ) và hơn 30 dẫn xuất của nó thuộc nhóm độc tố thần kinh có bản chất là các alkaloid (Oshima, 1995; Llewellyn, 2006; Pearson và cs., 2010; Wiese và cs., 2010), có đặc tính tan trong nước và bền nhiệt (Carmichael, 1992). Khi xâm nhập vào cơ thể động vật bậc cao, STX khóa kênh vận chuyển  $\text{Na}^+$  của tế bào thần kinh, do đó ngăn cản sự truyền xung thần kinh và dẫn đến liệt cơ (Kao, 1972; Kao, 1983; Narahashi, 1972; Catterall, 1980).

STX đã được ghi nhận có nguồn gốc từ các loài vi tảo biển thuộc các chi *Alexandrium*, *Gymnodinium* và *Pyrodinium* (Fraga, 2015). Độc tố này sẽ tích lũy trong các loài động vật ăn lọc, điển hình là động vật hai mảnh vỏ và được tiêu thụ bởi các động vật cao hơn thông qua mạng lưới thức ăn. Khi con người tiêu thụ những sinh vật bị nhiễm độc tố STX ở liều nhất định, triệu chứng ngộ độc điển hình bao gồm cảm giác tê rần, bỏng rát ở lưỡi và miệng, nhức đầu, chóng mặt, buồn nôn, nôn mửa và có thể tiêu chảy. Trong trường hợp ngộ độc nặng, sự liệt cơ xuất hiện, biểu hiện rõ nhất là liệt cơ hô hấp gây triệu chứng phát âm và hô hấp khó khăn, và có thể dẫn tới tử vong. Do đó, hiện tượng ngộ độc này được đặt tên là Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) (IPCS, 1984; Kao, 1993; Todd, 1997).

STX cũng được ghi nhận có nguồn gốc từ các vi khuẩn lam sống chủ yếu trong các thủy vực nước ngọt như *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix* và *Lyngbya* (Ikawa và cs., 1992; Mahmood và Carmichael, 1986; Carmichael và cs., 1988; Humpage và cs., 1994; Onodera và cs., 1997; Lagos và cs.,

1999). Ngoài độc tố thần kinh, vi khuẩn lam còn sản sinh độc tố microcystin và cylindrospermopsin tác động lên gan (Dahlem và cs., 1989; Carmichael và cs., 1988). Trong điều kiện vi khuẩn lam nở hoa, các thủy vực nước ngọt có thể bị nhiễm độc tố và gây ngộ độc cho con người và các động vật bậc cao khác khi sử dụng nguồn nước uống từ các thủy vực này. Hiện trạng nguồn nước bị nhiễm độc tố STX đã được ghi nhận tại các nguồn nước ngọt của nhiều nước trên thế giới như Úc, Bra-xin, Mỹ, Mexico, Đức, Nhật Bản và Trung Quốc (Carmichael, 1994). Mặc dù WHO chưa có quy định chính thức về hàm lượng STX trong nước uống, một số nghiên cứu cho thấy độc tính cấp của STX lên chuột mạnh hơn so với microcystin (Mahmood và Carmichael, 1986).

Tại Việt Nam, đã có ghi nhận sự nở hoa của vi khuẩn lam trong một số hệ thống nước ngọt như sông, hồ chứa nước sinh hoạt, ví dụ như hồ chứa Dầu Tiếng vào mùa khô 2011 (Đào Thanh Sơn và cs., 2013b) là nơi cung cấp nước sinh hoạt cho dân cư vùng Thành phố Hồ Chí Minh, Bình Dương và Đồng Nai. Tương tự, hiện tượng nở hoa của vi khuẩn lam cũng được ghi nhận tại hồ Xuân Hương (Đà Lạt), sông Như Ý (Huế), hồ Tây và Hoàn Kiếm (Hà Nội) (Dương Thị Thủy và cs., 2012; Đào Thanh Sơn và cs., 2013a). Nghiên cứu về độc tố vi khuẩn lam có nguồn gốc từ Việt Nam chỉ ở những bước khởi đầu và chủ yếu là hai nhóm độc tố microcystin và cylindrospermopsin. Sự có mặt của độc tố microcystin đã được ghi nhận tại một số thủy vực như hồ chứa Dầu Tiếng, Trị An và hồ Hoàn Kiếm (Dao và cs., 2010; Dương Thị Thủy và cs., 2012; Dao và cs., 2014). Độc tố cylindrospermopsin đã được phát hiện từ loài *Cylindrospermopsis raciborskii* phân

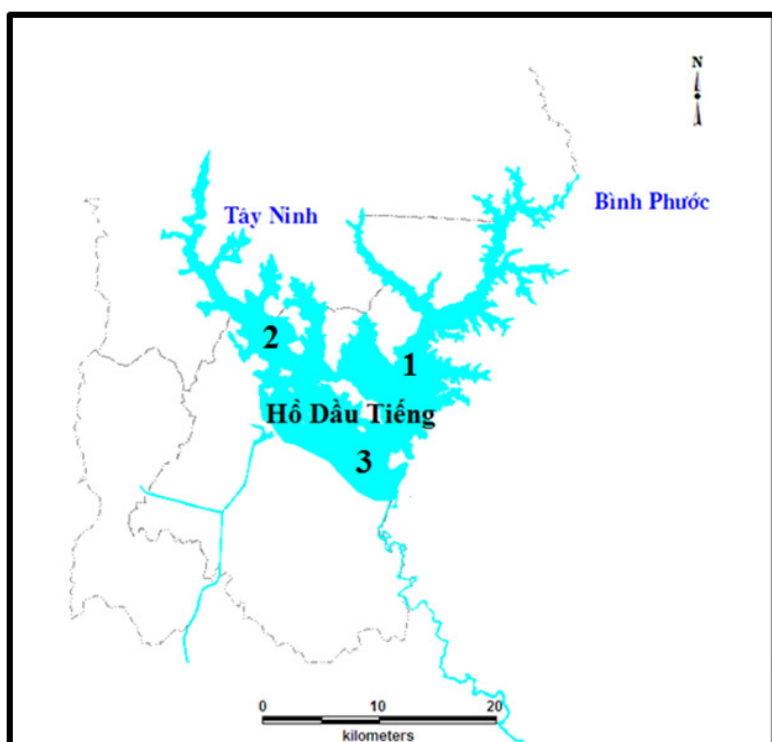
lập từ một vài thủy vực ở Huế và Tây Nguyên khi có hiện tượng nở hoa tại đây (Nguyễn Thị Thu Liên, 2007; Nguyễn Thị Thu Liên và cs., 2012). *C. raciborskii* phân bố rộng rãi trên thế giới từ châu Á, châu Âu cho tới châu Mỹ. Sự nở hoa của vi khuẩn lam nói chung và *C. raciborskii* nói riêng đang diễn ra thường xuyên và lan nhanh trên thế giới do sự biến đổi khí hậu và sự phì dưỡng. Ngoài độc tố cylindrospermopsin, chúng được ghi nhận là sản xuất saxitoxin và các dẫn xuất của nó (Ferrao-Filho và cs., 2014). Tuy nhiên, cho tới thời điểm hiện tại, chưa có một công bố nào về độc tố STX từ chủng vi khuẩn lam nói chung và *C. raciborskii* nói riêng được thu tại các thủy vực Việt Nam. Do đó, để có thêm thông tin và hiểu biết về độc tố vi khuẩn lam có nguồn gốc từ Việt Nam, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành thu và

phân lập một số chủng vi khuẩn lam thuộc loài *Cylindrospermopsis raciborskii* từ hồ Dầu Tiếng, sau đó phân tích hàm lượng độc tố STX trong các mẫu nuôi cấy để kiểm tra sự có mặt của STX trong các mẫu này.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Vị trí thu mẫu

Mẫu vi khuẩn lam được thu thập hàng tháng từ hồ Dầu Tiếng, thuộc tỉnh Tây Ninh và Bình Phước, trong khoảng thời gian từ tháng 3 – 12/2012. Mẫu tươi được thu tại 3 điểm từ độ sâu khoảng 3 m lên đến tầng mặt, bằng lưới hình nón có kích thước mắt lưới 20  $\mu\text{m}$  (Bảng 1, hình 1). Mẫu được giữ trong chai plastic và mang về phòng thí nghiệm trong ngày để dùng cho phân lập.



**Hình 1.** Hồ Dầu Tiếng. Các số 1, 2 và 3: điểm thu mẫu dùng cho phân lập các chủng vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii*

**Fig. 1.** The Dau Tieng reservoir. Numbers 1, 2, 3: sampling sites used for isolation of strains of cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii*

**Bảng 1.** Vị trí các điểm thu mẫu trên hồ Dầu Tiếng  
**Table 1.** Sampling sites at Dau Tieng reservoir

| Điểm thu mẫu | Tọa độ      |                |
|--------------|-------------|----------------|
|              | Vĩ độ (Bắc) | Kinh độ (Đông) |
| 3            | 11.20.32.8  | 106.19.39.1    |
| 1            | 11.27.48.4  | 106.23.39.7    |
| 2            | 11.26.47.8  | 106.15.17.2    |

## 2. Phân lập, nuôi và định danh

Loài vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii* được phân lập theo phương pháp hút rửa pipet (pipetting and washing) (Belcher và Swale, 1988). Cụ thể, dùng micropipet phân lập từng sợi vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii* dưới kính hiển vi Olympus (BX51) sau đó chuyển vào lọ nuôi cấy có chứa môi trường Z8 (Kotai, 1972). Vi khuẩn lam đã được nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ 25°C, cường độ ánh sáng khoảng 3.000 Lux và thời gian chiếu sáng theo ngày đêm là 12:12 (Dao và cs., 2010). Việc định danh loài vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii* được dựa trên so sánh hình thái học của mẫu thu ngoài hiện trường và mẫu nuôi sử dụng tài liệu phân loại của Komarek và Ananogtidis (1989), Cronberg và Annadotter (2006), và tham khảo hai công bố về loài vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii* gần đây từ Việt Nam (Nguyễn Thị Thu Liên, 2007; Dao và cs., 2010).

## 3. Tách chiết độc tố và phân tích

Khi chủng vi khuẩn lam trong thí nghiệm nuôi đạt mức tế bào cực đại, toàn bộ dịch nuôi cấy của từng chủng đã được lọc qua màng lọc GF/F để thu sinh khối tế bào. Sinh khối vi khuẩn lam sau khi lọc được giữ trên màng ở -20°C đến khi sử dụng. Sau đó, màng lọc chứa sinh khối tế bào vi khuẩn lam được phá vỡ trong môi trường acid acetic 0.5N (1g : 10ml) bằng máy siêu âm (Ultrasonic, GE 130, Cole Parmer, USA), ly tâm (5.000v/p, 30 phút) nhằm thu dịch trong. Dịch chiết này ngay sau đó được bảo quản ở - 20°C đến khi sử dụng.

Độc tố được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp đầu dò huỳnh quang gắn với phản ứng sau cột (HPLC- FD) (Oshima, 1995). Cột WAKOSIL C8 (4,6 x 150 mm) được sử dụng trong phương pháp này. Pha động được chuẩn bị bao gồm 2 mM sodium 1 – heptanesulfonate pha trong dung môi 30 mM ammonium phosphate, pH 7,1 : acetonitrile với tỉ lệ 10:5. Tốc độ dòng được điều chỉnh là 0,8 ml/phút. Phản ứng sau cột gồm dung dịch oxi hóa là 7 mM periodic acid pha trong dung dịch đệm 50 mM potassium phosphate, pH 9,0 và tốc độ dòng là 0,4 ml/phút. Phản ứng huỳnh quang với đầu dò có sóng kích hoạt là 330 nm và bước sóng phát xạ là 390 nm. Thể tích chất chuẩn và mẫu được tiêm vào cột phân tích là 5 µl. Hàm lượng độc tố được tính bằng cách so sánh diện tích đỉnh huỳnh quang của mỗi mẫu phân tích với diện tích đỉnh huỳnh quang của độc tố chuẩn (National Research Council, Canada).

## III. KẾT QUẢ

### 1. Hình thái loài vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii*

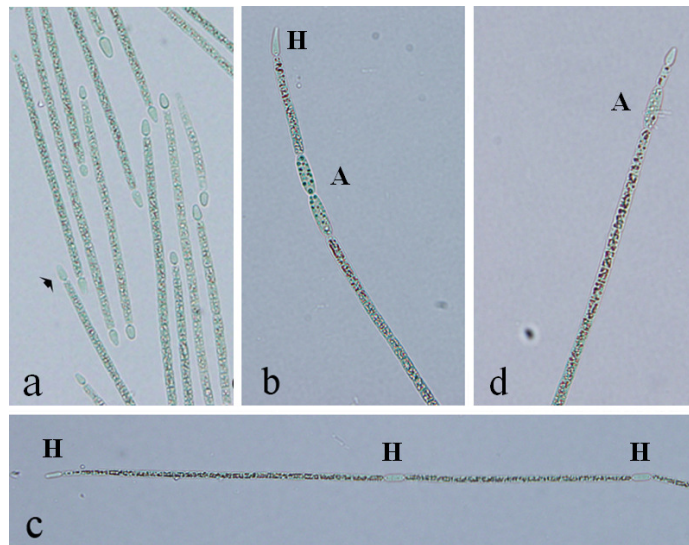
Trong quá trình nghiên cứu, 15 chủng vi khuẩn lam thuộc loài *Cylindrospermopsis raciborskii* đã phân lập và nuôi thành công. Dưới đây là mô tả hình thái của loài vi khuẩn lam *C. raciborskii* có nguồn gốc từ hồ Dầu Tiếng.

Loài vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii* có dạng sợi riêng rẽ, thẳng hoặc hơi cong. Tế bào hình trụ, rộng 3 - 4 µm, dài 4,5 - 7,5 µm. Dị bào kéo dài, thường nằm ở đầu sợi, hình nón, rộng 3 - 4 µm, dài 6 - 10 µm. Trong điều kiện nuôi, đôi khi các chủng vi khuẩn lam này có thể hình

thành cùng lúc một số dị bào trên cùng một sợi và đây là ghi nhận mới về hình thái của loài mà trong điều kiện tự nhiên chưa bao giờ gặp. Bào tử thường nằm cách dị bào 1 hoặc 2 tế bào sinh dưỡng, đôi khi có đến 2 bào tử được hình thành. Bào tử hình oval, rộng 5 - 7  $\mu\text{m}$ , dài 15 - 17  $\mu\text{m}$  (Hình 2).

## 2. Hàm lượng độc tố STX trong các chủng *Cylindrospermopsis raciborskii* phân lập

Phân tích HPLC dịch chiết của 15 chủng thuộc loài *Cylindrospermopsis raciborskii* cho thấy, sắc kí đồ của 11 chủng có đỉnh sắc kí đồ trùng với đỉnh của STX chuẩn (Hình 3). Từ đó khối lượng của STX có trong 11 mẫu được tính có khoảng dao động từ 13,40  $\mu\text{g.g}^{-1}$  đến 84,57  $\mu\text{g.g}^{-1}$  (Bảng 2).

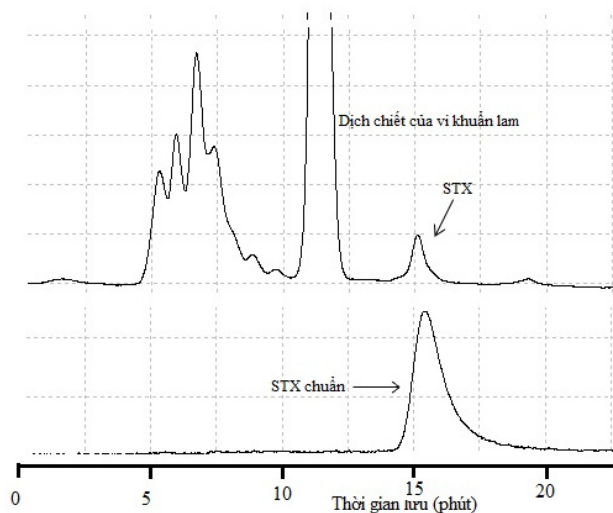


**Hình 2.** Loài vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii* phân lập từ hồ Dầu Tiếng

Chú thích: A: bào tử và H: dị bào

**Fig. 2.** cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* isolated from the Dau Tieng reservoir

Note: A: akinete and H: heterocyte



**Hình 3.** Sắc kí đồ HPLC của dịch chiết của *C. raciborskii* S18 và STX chuẩn

**Fig. 3.** High pressure liquid chromatography HPLC of the extract of *C. raciborskii* S18 and standard STX

**Bảng 2.** Hàm lượng độc tố STX được kiểm tra trong các chủng *C.raciborskii*  
**Table 2.** Content of STX in strains of *C. raciborskii*

| STT | Loài                                  | Chủng | Khối lượng mẫu (g) | Hàm lượng độc tố ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |
|-----|---------------------------------------|-------|--------------------|--|
| 1   | <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> | S1    | 0,0515             |  |
| 2   | <i>C. raciborski</i>                  | S2    | 0,0515             | 21,55  |
| 3   | <i>C. raciborski</i>                  | S8    | 0,0515             | 0,00   |
| 4   | <i>C. raciborski</i>                  | S11   | 0,021              | 43,22  |
| 5   | <i>C. raciborski</i>                  | S12   | 0,07               | 0,00   |
| 6   | <i>C. raciborski</i>                  | S13   | 0,07               | 21,77  |
| 7   | <i>C. raciborski</i>                  | S14   | 0,01               | 69,17  |
| 8   | <i>C. raciborski</i>                  | S15   | 0,021              | 18,30  |
| 9   | <i>C. raciborski</i>                  | S16   | 0,141              | 82,00  |
| 10  | <i>C. raciborski</i>                  | S17   | 0,021              | 13,40  |
| 11  | <i>C. raciborski</i>                  | S18   | 0,121              | 0,00   |
| 12  | <i>C. raciborski</i>                  | S19   | 0,081              | 84,57  |
| 13  | <i>C. raciborski</i>                  | S20   | 0,0515             | 42,04  |
| 14  | <i>C. raciborski</i>                  | S21   | 0,041              | 17,65  |
| 15  | <i>C. raciborski</i>                  | S22   | 0,0515             | 0,00   |
|     |                                       |       |                    | 79,46  |

#### IV. THẢO LUẬN

Tại Việt Nam, loài *Cylindrospermopsis raciborskii* được tìm thấy tại một số thủy vực nước ngọt ở Hà Nội, Huế, Nha Trang, Trị An (Dương Đức Tiến, 2001; Dao và cs., 2010) và sau đó một số chủng của loài này được phát hiện là sản sinh cylindrospermopsin (Nguyễn Thị Thu Liên và cs., 2012). Trong nghiên cứu hiện tại, độc tố STX được tìm thấy trong một số chủng của *C. raciborskii*. Cụ thể, 11 trong 15 chủng đã sản sinh độc tố với hàm lượng dao động từ 13,40  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  đến 84,57  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Từ kết quả này cho thấy rằng các chủng khác nhau thì khả năng tạo độc tố khác nhau và có chủng tạo độc tố, cũng có chủng không tạo độc tố dù trong một loài. Vấn đề về sự khác nhau trong việc tạo độc tố của các sinh vật sản sinh độc tố nói chung và vi khuẩn lam nói riêng hiện tại vẫn là điều chưa thể lý giải được trong khoa học. Do đó, một số giả thiết về gen chuyển thẳng HGT (Horizontal gene transfer) (Russell và cs., 2013) và vi khuẩn cộng sinh trong những chủng sinh độc tố (Kodama và cs., 1988) được sử dụng để giải thích cho sự

khác biệt này. Russell và cs. (2013) cho rằng, gen liên quan đến độc tố của vi khuẩn đã được chuyển thẳng vào bộ gen của một số cá thể nào đó của vi khuẩn lam một cách ngẫu nhiên khiến nó có khả năng sản sinh độc tố, mà không phải do truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác. Tuy nhiên, Kodama và cs. (1988) thì cho rằng, một số loài vi khuẩn sống cộng sinh với vi tảo (vi khuẩn lam) sẽ tạo tiền chất của độc tố, tiền độc tố này sẽ tạo thành độc tố khi cơ thể sinh vật chủ tạo ra một enzyme để biến đổi tiền chất này thành độc tố, cho nên vật chủ nào không có enzyme này thì sẽ không có sản sinh độc tố.

Hiện tại, 10 loài thuộc chi *Cylindrospermopsis* đã được nghiên cứu vì chúng được xem là loài gây chú ý nhiều trong hai thập kỉ qua do hiện tượng nở hoa thường xuyên trong môi trường nước ngọt và có khả năng sản sinh độc tố (Pearson và cs., 2010; Padisák, 1997). Điều này đã dẫn đến nhiều lo ngại vì chúng có thể ảnh hưởng đến sinh vật sống trong cùng môi trường và sức khỏe con người thông qua nguồn nước. So sánh hàm lượng độc tố của các chủng vi khuẩn lam *Cylindrospermopsis raciborskii*

sản sinh tại hồ Dầu Tiếng trong nghiên cứu với các công bố trước đây tại các địa điểm khác nhau trên thế giới về độc tố STXs trong cyanobacteria như Úc, Mỹ bằng phương pháp HPLC (Bảng 3), có thể kết luận rằng chất lượng nước tại hồ Dầu Tiếng có thể đang ở vào tình trạng không còn an toàn cho người sử dụng khi các chủng vi khuẩn lam này nở hoa.

Kết quả nghiên cứu mới chỉ dừng lại ở việc sử dụng HPLC-FD để sàng lọc các chủng có khả năng sản sinh STX. Do đó, để

tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về bản chất, cấu trúc STX trong các mẫu độc tố của chủng *C. raciborskii* thì dùng phương pháp hóa học khác như LC/MS/MS (Liquid chromatography mass spectrometry) để tránh hiện tượng dương tính giả. Đồng thời mẫu nước trong thời điểm nở hoa của vi khuẩn lam cũng nên được kiểm tra có hay không có sự có mặt của STX, để từ đó cảnh báo chính xác về mức độ an toàn của nguồn nước tại đây và có phương thức xử lý.

**Bảng 3.** Bảng so sánh hàm lượng độc tố STXs được ghi nhận do các vi khuẩn lam sản sinh tại một số địa điểm trên thế giới

**Table 3.** Comparison of content of STXs produced by cyanobacteria at some places in the world

| Quốc gia                   | Năm nghiên cứu | Loài/Số mẫu độc tố (tổng mẫu phân tích) | Khoảng độc tố phát hiện ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) | Phương pháp phân tích | Tài liệu                |
|----------------------------|----------------|---|--|-----------------------|-------------------------|
| Hồ Dầu Tiếng (Việt Nam)    | 2014           | <i>C.raciborskii</i> 11(15)             | 13,40-84,57                                      | HPLC-FD               | Nghiên cứu này          |
| Murray-Darling Basin (Úc)  | 1990-1992      | <i>Anabaena circinalis</i> 11(11)       | 85-2.040   | HPLC và FAB-MS        | Humpage và cs., 1994    |
| Úc                         | 1992-1994      | <i>A.circinalis</i> 24(31)              | 50-3.400   | HPLC                  | Negri và cs., 1997      |
| Southeastern United States | 1994           | <i>Lyngbya wollei</i> 7(8)              | 5-60   | HPLC/AOAC             | Carmichael và cs., 1997 |

FAB-MS (Fast atom bombardment – mass spectrometry): *Bắn phá nguyên tử nhanh-khối phổ*; AOAC (Mouse bioassay done according to the Association of Official Analytical Chemist): *Thử nghiệm sinh học trên chuột tuân theo hiệp hội các nhà hóa phân tích chính thống.*

## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phát hiện sự có mặt của độc tố STX ở loài *C. raciborskii* phân lập từ hồ Dầu Tiếng bằng phương pháp HPLC-FD với hàm lượng dao động từ  $13,40 \mu\text{g.g}^{-1}$  đến  $84,57 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

**Lời cảm ơn.** Chúng tôi xin cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện cho chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu này trong khuôn khổ đề tài nhiệm vụ trẻ 2014.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Belcher H., E. Swale, 1988. Culturing algae - A guide for schools and colleges. The Ferry House, UK, 20-21.
- Carmichael W. W., 1992. Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. *Journal of Applied Microbiology*, 72: 445-459.
- Carmichael W. W., 1994. The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, 270 (1): 64-70.
- Carmichael W. W., V. Beasley, D. L. Bunner, J. N. Eloff, I. R Falconer, P. R.



- Gorham, 1988. Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). *Toxicon*, 26: 971-973.
- Carmichael W. W., W. R. Evans, Q. Q. Yin, P. Bell, E. Moczydlowski, 1997. Evidence for paralytic shellfish poisons in the freshwater cyanobacterium *Lyngbya Wollei* (Farlow ex Gomont) comb. nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 3.104-3.110.
- Catterall W. A., 1980. Neurotoxins that act on voltage-sensitive sodium channels in excitable membranes. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 20: 15-43.
- Cronberg G. and H. Annadotter, 2006. Manual on aquatic cyanobacteria – A photo guide and a synopsis of their toxicology. Kerteminde Tryk A/S. 1-106.
- Dahlem A. M., A. S. Hassan, S. P. Swanson, W. W. Carmichael, V. R. Beasle, 1989. A model system for studying the bioavailability of intestinally administered microcystin-LR, a hepatotoxic peptide from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 64: 177-181.
- Dao T. S., C. Gertrud, N. Jorge, H. L. C. Do, W. Claudia, 2010. Toxic cyanobacteria from Tri An reservoir, Vietnam. *Nova Hedwigia*, 90: 433-448.
- Dao T. S., T. H. Le, T. L. Pham, H. L. C. Do, P. D. Nguyen, 2014. Influences of cyanobacterial toxins microcystins on the seedling of plants. *Environmental Protection*, 5: 35-41.
- Dương Đức Tiến, 2001. Phylum Cyanobacteriophyta – ngành vi khuẩn lam. Danh mục các loài thực vật Việt Nam. NXB Nông nghiệp, 1-50.
- Dương Thị Thủy, Hồ Tú Cường, Đặng Đình Kim, Lê Thị Phương Quỳnh, 2012. Biến động hàm lượng độc tố Microcystin trong môi trường nước hồ Hoàn Kiếm. *Tạp chí sinh học*, (34) 1: 94-98.
- Đào Thanh Sơn, Bùi Bá Trung, Võ Thị Mỹ Chi, Bùi Thị Như Phượng, Bùi Lê Thanh Khiết, Nguyễn Thanh Sơn, 2013a. Suy giảm chất lượng nước hồ Xuân Hương, Đà Lạt. *Tạp chí mạng thông tin khoa học và công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh (STINFO) số 11*.
- Đào Thanh Sơn, Trần Trúc Ly, Phạm Thành Lưu, 2013b. Nguy cơ ngộ độc bởi độc tố vi khuẩn lam ở hồ Dầu Tiếng. *Tạp chí mạng thông tin khoa học và công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh (STINFO) số 1&8*.
- Ferrao-Filho A. S., L. E. C. Galvao, V. F. Magalhaes, 2014. Differential susceptibility of cladoceran species to a saxitoxin producer strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria). *Ecotoxicol. Environ. Contam.*, 9(1): 33-41.
- Fraga S. (Ed.), 2015. *Alexandrium and Pyrodinium*. In IOC - UNESCO Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae. Available online at <http://www.marinespecies.org/HAB>. Accessed on 2015-04-02.
- Humpage A. R., J. A. H. Rositano, R. B. Bretag, P. D. Baker, B. C. Nicholson, D. A. Steffensen, 1994. Paralytic shellfish poisons from Australian cyanobacterial blooms. *Australian Journal of Marine & Freshwater Research*, 45: 761-771.
- Ikawa M., K. Wegener, T. L. Foxall, J. J. Jr. Sasner, 1992. Comparison of the toxins of the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae* with the Gonyaulax toxins. *Toxicon*, 20: 747-752.
- IPCS., 1984. International programme on chemical safety. Aquatic (Marine and Freshwater) Biotoxins. *Environmental Health Criteria 37*. World Health Organization.
- Kao C. Y., 1972. Pharmacology of tetrodotoxin and saxitoxin. *Fed. Proc.*, 31: 1.117-1.123.
- Kao C. Y., 1983. New perspectives on the interaction of tetrodotoxin and saxitoxin with excitable membranes. *Toxicon. Suppl.*, 3: 211-219.



- Kao C. Y., 1993. Paralytic shellfish poisoning. *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water*. London: Academic Press, 75-86.
- Kodama M., T. Ogata, S. Sato, 1988. Saxitoxin-producing bacterium isolated from *Protogonyaulax tamarensis*. In: Okaichi T., Anderson D. M., Nemoto T., editors. *Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology*. New York: Elsevier, 363-366.
- Komárek J., K. Anagnostidis, 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4. Nostocales. *Arch. Hydrobiol. Suppl. 82/Algol. Stud.*, 56: 247-345.
- Kotai J., 1972. Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. NIVAB-11/69.
- Lagos N., H. Onodera, P. A. Zagatto, D. Andrinolo, S. M. Azevedo, Y. Oshima, 1999. The first evidence of paralytic shellfish toxins in the fresh water cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. *Toxicon*, 37: 1359-1373.
- Llewellyn L. E., 2006. Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. *Natural Product Reports*, 23: 200-202.
- Mahmood N. A. and W. W. Carmichael, 1986. Paralytic shellfish poisons produced by the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* NH-5. *Toxicon*, 24: 175-186.
- Narahashi T., 1972. Mechanism of action of tetrodotoxin and saxitoxin on excitable membranes. *Federation Proceeding*, 31: 1.124 -1.132.
- Negri A. P., G. J. Jones, S. I. Blackburn, Y. Oshima, H. Onodera, 1997. Effect of culture and bloom development and of sample storage on paralytic shellfish poisons in the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. *Journal of Phycology*, 33: 26-35.
- Nguyễn Thị Thu Liên, Nguyễn Thị Cảnh, Lê Thị Trân Nhi, 2012. Hình thái và khả năng sinh độc tố cylindrospermopsin của các chủng vi khuẩn lam phân lập từ một số ao hồ Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 8(1): 103-108.
- Nguyễn Thị Thu Liên, 2007. Planktic cyanobacteria from freshwater localities in ThuaThien-Hue Province, Vietnam. PhD thesis, Copenhagen.
- Onodera H., M. Satake, Y. Oshima, T. Yasumoto, W. W. Carmichael, 1997. New saxitoxin analogues from the freshwater filamentous cyanobacterium *Lyngbya wollei*. *Natural Toxins*, 5: 146-151.
- Oshima Y., 1995. Post-column derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *Journal of AOAC International*, 78: 528-532.
- Padisák J., 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptative cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arch. Hydrobiol.*, 107: 563-593.
- Pearson L., T. Mihali, M. Moffitt, R. Kellmann, B. Neilan, 2010. On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. *Marine Drugs*, 8: 1.650-1.680.
- Russell J. S. O., A. Stüken, S. A. Murray, K. S. Jakobsen, 2013. Evolution and distribution of saxitoxin biosynthesis in dinoflagellates. *Mar Drugs*, 11(8): 2.814 - 2.828.
- Todd E. C. D., 1997. Seafood-associated diseases and control in Canada. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 16 (2): 661-672.
- Wiese M., P. M. D'Agostino, T. K. Mihali, M. C. Moffitt, B. A. Neilan, 2010. Neurotoxic Alkaloids: Saxitoxin and Its Analogues. *Marines Drugs*, 8: 2.185-2.211.