

ĐỘC TÍNH TETRODOTOXIN (TTX) CỦA CÁ BÓNG VÂN MÂY YONGEICHTHYS NEBULOSUS (FORSKAL 1775) THU TẠI KHÁNH HÒA

ĐÀO VIỆT HÀ VÀ ĐỖ TUYẾT NGA

Tóm tắt: Gần đây, một số vụ ngộ độc cho người và vật nuôi do ăn cá bóng Vân Mây (*BVM*, *Yongeichthys nebulosus*) đã xảy ra rải rác ở một số tỉnh ven biển miền Trung Việt Nam. Vì vậy, các đợt khảo sát, thu mẫu loài cá bóng độc này đã được tiến hành ở một số đầm phá, đìa và cửa sông thuộc tỉnh Khánh Hòa. Hơn 50 cá thể loài cá bóng vân mây tại các địa điểm thu mẫu khác nhau đã được phân tích, kiểm nghiệm độc tính tetrodotoxin (TTX) bằng phương pháp thử nghiệm sinh học trên chuột (*Kawabata*, 1978). Kết quả cho thấy rằng tất cả các bộ phận của cá bóng Vân Mây thu tại Đồng Bò, Ninh Hòa và Đại Lãnh đều chứa độc tố TTX, trong khi đó, chưa phát hiện độc tính đối với mẫu *BVM* thu tại Vạn Ninh và Cam Ranh. Đối với các mẫu *BVM* độc, mặc dù có sự biến động nhất định về độc tính ở các bộ phận khác nhau (đa thường là cơ quan chứa độc tính cao hơn cả), nhưng đã phát hiện thấy sự có mặt của độc tố TTX trong các bộ phận như cơ và trứng; vì vậy tuyệt đối không nên sử dụng loài này làm thực phẩm kể cả khi đã được loại bỏ ruột gan và làm sạch vảy như dân địa phương vẫn thường chế biến.

Mặt khác, cần tiếp tục nghiên cứu đối với loài cá *BVM* này nhằm làm sáng tỏ đặc tính biến động độc tính theo giai đoạn sinh trưởng và phát triển cá thể cũng như theo phân vùng địa lý hẹp biến động cá thể, góp phần cảnh báo cộng đồng về ngộ độc dẫn đến tử vong do tiêu thụ loài cá *BVM* tại Việt Nam.

I. MỞ ĐẦU

Loài cá bóng độc gây tử vong cho người và gia súc đã được biết đến từ lâu ở một số nước châu Á như Philippines, Đài Loan (Yang, 1967), Nhật Bản... Ở Nhật Bản, cá bóng độc thường được những người dân đảo Irimote dùng để bẫy chuột (Hashimoto, 1979). Có hơn 10 tên động vật (synonym) của cá bóng độc, nhưng *Gobius criniger* Cuvier et Valenciennes là tên khá quen thuộc ở Nhật Bản, và *Yongeichthys nebulosus* (Forsskal, 1775) là tên thường dùng nhất của chúng. Loài cá bóng độc này thường sống trong khu vực rừng ngập mặn, cửa sông và sông – Chúng thường cư trú ở gần cửa sông, ẩn mình trong những lỗ cua khi triều cao và xuất hiện trên bãi khi triều thấp (Hashimoto, 1979). Cá bóng độc còn phân bố ở nhiều nước trên Thế giới khác như Đông Châu Phi, Indonesia, Australia, New Guinea, Ấn Độ, Trung Quốc.

Theo các nhà khoa học Nhật Bản, bản chất độc tố của cá bống là tetrodotoxin (TTX). Tuy nhiên, độc tố TTX ở cá bống có những đặc tính khá khác biệt, chủ yếu về sự phân bố độc tố trong cơ thể và sự thay đổi độc tính theo vùng phân bố, theo cá thể (có thể chịu ảnh hưởng lớn vào một số yếu tố môi trường) trong khi tính biến động mùa của chúng lại không rõ nét. Theo nghiên cứu của Noguchi và cs. (1971), ở loài cá bống *Gobius criniger*, da là cơ quan tích lũy độc tố cao nhất, tiếp theo là tinh sào/trứng, nội quan và cuối cùng là cơ và xương cá. Vì vậy cá bống được xếp vào họ cá có chứa độc tố ở da (Hashimoto, 1971) – khác biệt với cá nóc và một số sinh vật chứa độc tố TTX khác. Mặt khác, Noguchi và cs. (1971), Lin và cs. (2000) cũng đã chỉ ra rằng, độc tố TTX trong cá bống vẫn mây có tính biến động địa lý hẹp rất rõ nét – những cá thể sống tại phía Nam của đảo Amani – Oshima (Nhật Bản) luôn độc bất kể mùa nào trong năm, trong khi những cá thể sống tại phía Tây của đảo lại hoàn toàn không độc.

Ở Việt Nam, báo Tiền Phong 7/05/2003 đã đưa tin về loài cá bống độc này tại đầm Cầu Hai, thôn Thủy Diệu, Phú An, Thừa Thiên – Huế. Dân địa phương gọi loài cá bống độc này là cá bống chết hay cá thệ chết – Đáng chú ý là chúng có hình dạng giống cá thệ bông (là một loài cá ngon, được ưa chuộng). Dân chúng ở đây biết chúng là loài độc nên thường loại bỏ ngay khi đánh bắt được, nhưng khi vô tình gia súc, gia cầm ăn phải đều bị chết ngay. Tên khoa học của loài cá bống này đã được xác định *Yongeichthys nebulosus* (Forskall 1775) – tên Việt Nam là cá bống Vân Mây. Tuy nhiên, sau ghi nhận đầu tiên này, đã phát hiện thấy cá bống Vân Mây không chỉ xuất hiện ở Thừa Thiên – Huế mà ngay trên địa bàn tỉnh Khánh Hòa cũng thường gặp. Thông tin từ các tiếp xúc phỏng vấn cho thấy là ở một số vùng người dân cho rằng đây là loài cá độc (giống như những nhận biết ở Thừa Thiên – Huế), nhưng tại một số vùng khác, dân chúng lại tin rằng chúng không hề độc, hoàn toàn có thể ăn được - Chúng vẫn được bày bán tại các chợ cá và được nhiều người ưa chuộng như những loài cá bống nước ngọt khác. Vấn đề được đặt ra ở đây là cá bống Vân Mây ở Việt nam có độc hay không? Và những nhận xét khác nhau của dân chúng tại các vùng khác nhau về loài cá này (độc/không độc) có phải do đặc tính biến động địa lý phân vùng hẹp như nghiên cứu tại Nhật Bản hay chỉ là sự ngẫu nhiên hoặc chủ quan? Ngoài ra, độc tố tetrodotoxin của cá bống Vân Mây có tính biến động cá thể rõ rệt giống như cá nóc hay không? Bài báo này sẽ cung cấp một số thông tin khoa học ban đầu nhằm trả lời các câu hỏi trên.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Địa điểm và thời gian thu mẫu:



Hình 1: Cá bống Vân Mây *Yongeichthys nebulosus* (Forskal, 1775)

Loài cá bống Vân Mây *Yongeichthys nebulosus* (hình 1) đã được thu thập chủ yếu tại các địa, đầm tại 5 địa điểm khác nhau là Đồng Bò (16/08/2003), Vạn Ninh (16/10/2003), Ninh Hòa ((16/08/2003), Cam Ranh (28/08 và 03/10/2003) và Đại Lãnh (19/10/2003). Mỗi địa điểm thu ít nhất 12 cá thể, mẫu được bảo quản trong đá lạnh, đem về phòng thí nghiệm và phân tích trong ngày.

2. Phương pháp nghiên cứu:

Sau khi rửa sạch bên ngoài bằng nước cất, cân trọng lượng và đo kích thước (bảng 1), mẫu được giải phẫu, tách riêng các bộ phận: Da, vảy, cơ, gan, nội quan, trứng/tinh sào, đầu.

Bảng 1: Chiều dài, chiều cao và trọng lượng trung bình của các mẫu cá bống Vân Mây *Y. nebulosus* được phân tích (n =12 - 17)

Địa điểm	Thời gian	Vị trí thu mẫu	Chiều dài trung bình (mm)	Chiều cao trung bình (mm)	Trọng lượng trung bình (g)
Đồng Bò	16/08/2003	Cửa sông	94,2	22,1	18,54
Ninh Hòa	16/08/2003	Đìa	90,5	21,3	18,04
Vạn Ninh	16/10/2003	Cửa sông	89,1	15,5	15,82
Cam Ranh	28/08/2003	Đầm	79,6	20,8	12,37
	03/11/2003	Đầm	81,3	15,0	12,37
Đại Lãnh	19/10/2003	Cửa sông	87,5	17,5	16,46

Từng bộ phận được chiết rút độc tố và thử nghiệm độc tính bằng phương pháp thử nghiệm sinh học trên chuột (MBA) theo phương pháp của Kawabata (1978) tại phòng thí nghiệm Hóa Sinh, Viện Hải Dương Học. Chuột thử nghiệm thuộc dòng *Swiss swiss*, giới tính đực với trọng lượng 16-22g.

Sắc ký lỏng cao áp (HPLC) cũng được sử dụng cho mục đích kiểm chứng kết quả (nếu cần thiết) theo phương pháp của Yotsu và cs. (1989) tại phòng thí nghiệm Hóa Sinh, trường ĐH Kitasato, Nhật Bản.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Sự thay đổi độc tính của cá bống Vân Mây *Yongeichthys nebulosus* theo các địa điểm thu mẫu:

Trong số 5 địa điểm nghiên cứu khác nhau, cá bống Vân Mây (BVM) thu tại 3 địa điểm Đồng Bò, Ninh Hòa và Đại Lãnh cho kết quả dương tính trong phương pháp thử nghiệm sinh học trên chuột (MBA), trong khi mẫu thu tại Cam Ranh và Vạn Ninh lại cho kết quả âm tính (bảng 2).

Bảng 2: Độc tính của cá bống Vân Mây *Y. nebulosus* thu tại các địa điểm khác nhau (xác định bằng phương pháp thử nghiệm sinh học trên chuột – MBA; Kawabata, 1978)

Địa điểm	Thời gian	Giới tính	Bộ phận cơ thể	Độc tính (MU/g)
Đồng Bò	16/08/2003	Đực	Vây	ND
			Da	24,05
			Đầu	15,08
			Cơ	7,76
			Nội quan	16,02
			Gan	7,71
			Tinh sào	16,81
		Cái	Vây	5,65
			Da	19,81
			Đầu	37,41
			Cơ	9,63
			Nội quan	35,11
			Gan	33,52
			Trứng	70,14

Ninh Hòa	16â/08/2003	Không phân biệt	Vây Da Đầu Cơ Nội quan Gan	ND ND 5,40 7,19 0,36 ND
Vạn Ninh	16/10/2003	Cái	Vây Da Đầu Cơ Nội quan Gan Trứng	ND < 1 ND ND ND ND ND
Cam Ranh	28/08/2003	Không phân biệt	Vây Da Đầu Cơ Nội quan Gan	ND ND ND ND ND ND
	03/11/2003	Không phân biệt	Vây Da Đầu Cơ Nội quan Gan	ND ND ND ND ND ND
Đại Lãnh	19/10/2003	Không phân biệt	Vây Da Đầu Cơ Nội quan Gan	5,11 7,11 21,06 7,38 4,76 4,68

Ghi chú: ND: Không phát hiện độc tính.

Phép phân tích one-way ANOVA cho thấy có sự khác biệt thống kê giữa độc tính của BVM tại 3 địa điểm Đồng Bò, Ninh Hòa và Đại Lãnh ($F_{3,22} = 6,14, P < 0,05$). BVM thu tại Đồng Bò luôn biểu hiện độc tính cao nhất ở cả 2 giới tính đực (7,71 MU/g gan – 24,05 MU/g da) và cái (5,65 MU/g vây - 70,14 MU/g trứng); tiếp theo là mẫu thu tại Đại Lãnh (4,76 MU/g nội quan – 21,06 MU/g đầu), và ít độc nhất là mẫu thu tại Ninh Hòa (giá trị cực đại 5,40 MU/g đầu)(bảng 2). Theo các nghiên cứu của các nhà khoa học Nhật Bản,

rất có thể độc tính của cá BVM chịu ảnh hưởng rõ rệt của từng điều kiện môi trường sống cụ thể. Trong 3 vùng thu mẫu cho kết quả dương tính đối với độc tố TTX; tại Đại Lãnh và Đồng Bò, mẫu được thu ở vùng cửa sông; tại Ninh Hòa, mẫu được thu từ khu vực địa nuôi tôm (bảng 1). Như vậy, nếu chỉ so sánh 3 địa điểm này, có thể nhận xét rằng mẫu BVM thu tại vùng cửa sông thường biểu hiện độc tính cao hơn vùng địa. Tuy nhiên, lý do này lại không giải thích được cho trường hợp mẫu âm tính đối với địa điểm Vạn Ninh (sẽ được thảo luận chi tiết trong phần sau).

Mặt khác, BVM thu tại Ninh Hòa và Đại Lãnh đều không thể phân biệt được giới tính trong quá trình giải phẫu do tuyến sinh dục còn rất nhỏ, chưa phát triển. Phép phân tích one-way ANOVA cũng cho thấy có sự khác biệt về thống kê giữa kích thước, trọng lượng đối với BVM thu tại các địa điểm khác nhau (bảng 3). Đây rất có thể là nguyên nhân dẫn đến độc tính thấp hơn của chúng so với vùng Đồng Bò vì các cá thể BVM ở 2 địa điểm này còn khá nhỏ, chưa thành thực nên độc tố tích lũy sẽ thấp hơn. Điều này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây về độc tố TTX trong cá nóc – Một trong những đặc tính của chúng là biểu hiện tính biến động theo giai đoạn sinh trưởng khác nhau của cơ thể. Theo Kodama (2000), TTX là sản phẩm thứ cấp được sinh ra trong quá trình cộng sinh giữa vi khuẩn và vật chủ (cá nóc, BVM...), vì vậy tùy thuộc vào từng giai đoạn phát triển của cơ thể, số lượng vi khuẩn cộng sinh sẽ ít nhiều khác nhau. Ví dụ vào thời điểm cá mang trứng, luôn phát hiện thấy mật độ rất cao của các loài vi khuẩn cộng sinh này, đồng thời cùng với biểu hiện độc tính TTX cao. Ngược lại, ở các cá thể còn non, thường mật độ các vi khuẩn không cao và do đó, độc tính không cao so với cá thể trưởng thành.

Tuy nhiên, chưa tìm thấy qui luật nhất định về địa lý (ví dụ như Bắc – Nam, Đông – Tây) của sự biến động độc tính của BVM trong nghiên cứu này giống như nghiên cứu trước đây của các nhà khoa học Nhật Bản tại vùng đảo Amani – Oshima. Có thể do trong nghiên cứu của chúng tôi, số lượng mẫu thu thập chưa đủ tính thống kê và chưa loại trừ được các yếu tố sinh học (kích thước, trọng lượng) có ảnh hưởng đến độc tính khác nhau của tập hợp mẫu nghiên cứu.

Bảng 3: Kết quả phân tích ANOVA giữa các thông số kích thước và trọng lượng của BVM tại các địa điểm thu mẫu khác nhau

Chỉ tiêu	F	P-value	F crit
Chiều dài (mm)	9,04	3,1209E-05	2,62
Chiều cao (mm)	40,96	2,7292E-13	2,62
Trọng lượng (g)	6,56	0,000298	2,62

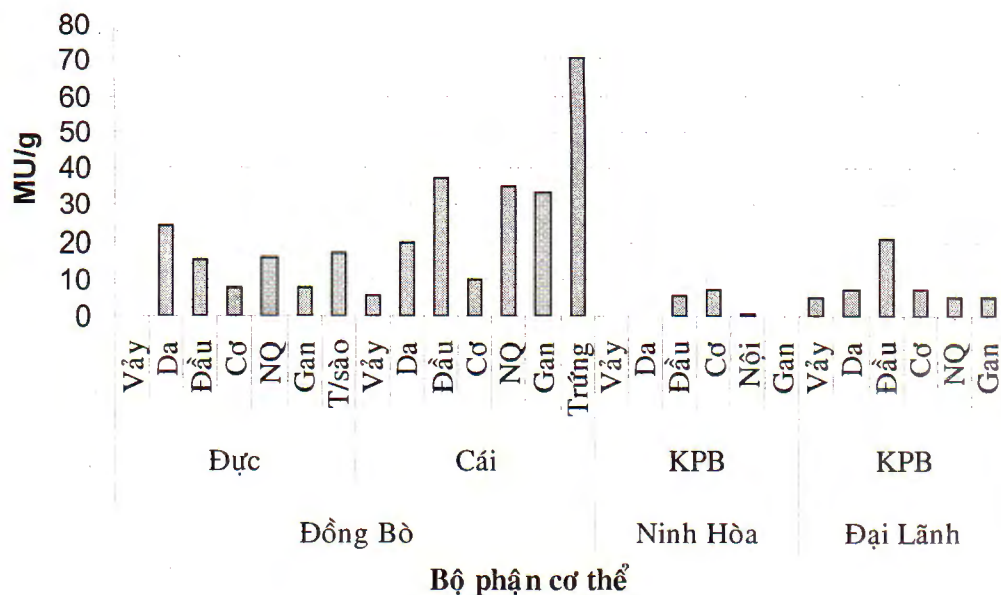
Những dẫn liệu trên cho thấy có thể có hai nguyên nhân chính dẫn đến sự khác biệt độc tính TTX của loài BVM tại các địa điểm nghiên cứu này là (1) giai đoạn sinh trưởng và (2) điều kiện môi trường sống. Ngoài ra, theo thông tin từ dân địa phương, đã ghi nhận có trường hợp ngộ độc do ăn loài BVM này xảy ra tại Ninh Hòa vào thời điểm thu mẫu cho thấy rằng mặc dù với độc tính không cao, nhưng BVM tại Ninh Hòa vẫn có khả năng gây nguy hiểm cho sức khỏe con người.

Tóm lại, loài BVM ở cả 3 vùng Đồng Bò, Ninh Hòa và Đại Lãnh đều không an toàn cho tiêu dùng. Đối với BVM tại 2 vùng Vạn Ninh và Cam Ranh, tuy kết quả ban đầu không phát hiện thấy độc tố TTX trong tất cả các bộ phận. Nhưng do chỉ mới tiến hành phân tích một lần, không thể nói là cá BVM ở hai địa điểm trên là an toàn đối với con người. Cần thiết phải có nghiên cứu tiếp theo với số lần thu mẫu lặp lại nhiều trong thời điểm khác nhau trong năm.

2. Biến động độc tính TTX trong các bộ phận khác nhau của cá Bống Vân Mây *Yongeichthys nebulosus*:

Đối với các mẫu BVM cái thu tại địa điểm Cam Ranh, trứng là bộ phận chứa độc tính cao nhất (70,14 MU/g), tiếp theo là đầu (37,41 MU/g), nội quan (35,11 MU/g), gan (33,52 MU/g); da, cơ và vây được xem là những bộ phận ít độc hơn. Ngược lại, ở cá thể giới tính đực, da lại là bộ phận tích lũy độc tố cao nhất (24,05 MU/g), tiếp theo là tinh sào, nội quan và đầu với độc tính gần tương đương nhau. Gan của BVM đực biểu hiện độc tính yếu hơn các bộ phận kể trên (7,71 MU/g) và không phát hiện được độc tố TTX trong vây của cá thể đực (đồ thị 1).

Đối với mẫu thu tại địa điểm Ninh Hòa và Đại Lãnh, kết quả độc tính cao nhất lại bắt gặp ở phần đầu (bảng 2). Da, vây và gan của mẫu BVM thu tại Ninh Hòa cho kết quả âm tính đối với độc tố TTX trong MBA cũng như HPLC kiểm chứng. Có phần hơi khác biệt, đối với mẫu BVM thu tại Đại Lãnh, tất cả các bộ phận của BVM đều có độc tính, trong đó, da cho độc tính 7,11 MU/g, cao hơn trong nội quan, gan và vây. Đặc biệt nhận thấy rằng bộ phận cơ của tất cả các mẫu tại 03 địa điểm nghiên cứu này đều chứa độc tố (độc tính khoảng từ 7,19 – 9,63 MU/g). Đây cũng là điểm tương đối khác biệt về cơ quan tích lũy độc tố TTX giữa cá nóc và BVM. Ở cá nóc, thông thường độc tố TTX tập trung cao trong gan và trứng (nhất là vào mùa sinh sản) trong khi cơ và da thường là những bộ phận ít độc nhất hoặc không độc; nhưng ở đối tượng BVM, da luôn là bộ phận chứa độc tính khá cao, và đặc biệt là phát hiện thấy độc tố TTX trong phần cơ cá BVM.



Đồ thị 1: Độc tính TTX trong các bộ phận cơ thể của cá bống Vân Mây *Y. nebulosus* thu tại Đồng Bò, Ninh Hòa và Đại Lãnh (KPБ: Không phân biệt giới tính, NQ: Nội quan, T/sào: Tinh sào)

Tóm lại, mặc dù sự phân bố của độc tố TTX có những biến động nhất định trong các bộ phận khác nhau của BVM, nhưng có thể nói rằng không nên sử dụng loài này làm thực phẩm vì đã phát hiện có độc tố trong phần ăn được (cơ, gan và trứng). Ngộ độc nguy hiểm cho sức khỏe và tính mạng con người vẫn có thể xảy ra kể cả trong trường hợp BVM đã được loại bỏ ruột gan, làm sạch vảy như dân địa phương thường chế biến.

IV. KẾT LUẬN

Trong 5 địa điểm thu mẫu, BVM tại 3 địa điểm Đồng Bò, Ninh Hòa và Đại Lãnh có chứa độc tố TTX, hoàn toàn không an toàn cho tiêu dùng. Thứ tự độc tính giảm dần theo các vị trí thu mẫu Đồng Bò > Đại Lãnh > Ninh Hòa. Ngược lại, bước đầu chưa phát hiện thấy độc tố TTX trong BVM thu tại Vạn Ninh và Cam Ranh, tuy nhiên, cần phải tiếp tục nghiên cứu để đi tới kết quả chính xác tính chất độc/không độc của BVM ở 2 địa điểm này.

Có thể có 2 nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt giữa độc tính TTX giữa các mẫu thu từ các vùng khác nhau: 1) Giai đoạn sinh trưởng và 2) Điều kiện môi trường sống, tuy nhiên nên có những nghiên cứu đồng bộ cả về sinh học, sinh thái cũng như hoá độc tố hơn nữa để có kết luận cuối cùng.

Đối với mẫu cá BVM độc, tất cả các bộ phận đều chứa độc tố TTX (kể cả những phần ăn được như cơ, gan và trứng) mặc dù có sự biến động nhất định về độc tính ở các bộ phận khác nhau, vì vậy tuyệt đối không nên sử dụng loài này làm thực phẩm kể cả khi đã được loại bỏ ruột gan và làm sạch vảy như dân địa phương vẫn thường chế biến. Cuối cùng, với những kết quả nghiên cứu này, mặc dù loài BVM có thể độc hoặc không độc tùy thuộc vào địa điểm đánh bắt, nhưng khi cá đã được bày bán tại các chợ thì không thể kiểm soát và khẳng định được nguồn gốc – Do đó tốt nhất là loại bỏ ngay khi đánh bắt hoặc thu mua về loài BVM hoặc những con cá có hình dạng bên ngoài giống như BVM để tránh thiệt hại về sức khỏe và tính mạng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hashimoto, Y. 1979.** *Marine toxins and other marine bioactive metabolites.*
2. **Kawabata, T. 1978.** *Puffer toxin.* In: *Japan Food Hygiene Association (Ed.), The Manual for the methods of Food Sanitation Tests.* Vol 2. (pp. 232-232).
3. **Kodama, M. 2000.** *Ecology, Classification and Origin.* In: Luis M.Botana (Ed.), *Seafood and freshwater toxins: Pharmacology, Physiology and detection.* (pp. 125-149). New York: Marcel Dekker, Inc.
4. **Noguchi, T., H.Kao & Y.Hashimoto. 1971.** *Toxicity of the Goby Gobioides criniger.* *Bull. Jap. Soc. Sc, Fish., 37 (7).*
5. **Lin, S.J., D.F. Hwang, K.T.Shao and S.S.Jeng, 2000.** *Toxicity of Taiwanese gobies.* *Fish. Sci., 66, 547 – 552.*
6. **Yang, H. 1967.** *Record of poisoning from goby in Taiwan.* *Ann. Rept. Sci. Taiwan Museum, 10, 36-36.*
7. **Yotsu, M., A. Endo & T.Yasumoto. 1989.** *Short communication: An improved tetrodotoxin analyser.* *Agric.Biol.Chem., 53 (3), 893-895.*

TETRODOTOXIN (TTX) IN GOBY YONGEICHTHYS NEBULOSUS (FORSKAL 1775) COLLECTED FROM KHANH HOA PROVINCE

summary: Recently, some food poisoning incidents for human and pets due to ingestion of the toxic goby *Yongeichthys nebulosus* occurred in Central part of Vietnam. Therefore, more than 60 specimens of *Y.nebulosus* were collected from five locations (lagoons, estuaries and shrimp ponds belonged to Khanh Hoa province) and examined for TTX toxicity by mouse bioassay following method of Kawabata (1978). The results indicated that specimens from Dong Bo, Van Ninh and Dai Lanh were toxic whereas no significance of toxicity was detected in specimens from Ninh Hoa and Cam Ranh areas - It was suggested that toxicity of goby may be affected by environmental condition. On the other hand, there was difference of toxicity among goby organs. Skin was considered as the most toxic, edible parts (muscle, eggs) were also showed toxicity, therefore, this species was dangerous for human.

Further study should be done to understand intensively some characteristics such as developing stages as well as individual and geographic variations, which may influence on toxicity in this goby. It is helpful for protecting human health.

Ngày nhận bài: 17 - 11 - 2004

Địa chỉ: Viện Hải dương học

Người nhận xét: GS,TSKH. Nguyễn Tài Lương
CN. Phạm Văn Thơm