

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG LOÀI BÈO TẮM (*Lemna minor* L., 1753) LÀM SINH VẬT GIÁM SÁT Ô NHIỄM NƯỚC THẢI DỆT NHUỘM

STUDYING THE USE OF DUCKWEED (*Lemna minor* L., 1753) AS A MONITORING ORGANISM TO TEXTILE EFFLUENT POLLUTION

Nguyễn Văn Khánh, Nguyễn Bảo Ngọc, Nguyễn Thị Phương

Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng; vankhanhsk23@gmail.com

Tóm tắt - Bài báo trình bày kết quả thử nghiệm độc tính mãn tính của nước thải dệt nhuộm đã qua xử lý của công ty Dệt may 29/3 Đà Nẵng đối với Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) theo quy trình OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). Kết quả nghiên cứu xác định được điều kiện môi trường và thời gian khử trùng tối ưu nhất khi nuôi cấy Bèo tấm là NaOCl 0,05% trong thời gian 20 giây. Xác định được EC50 của Bèo tấm là 52,23% theo biến số lượng lá và 46,21% theo biến diện tích mặt lá, tương ứng với giá trị EC50 đối với Cr (VI) là 2,2 mg/L theo biến số lượng lá và 0,9 mg/L theo biến diện tích mặt lá và đều cao hơn so với QCVN 13-MT:2015/BTNMT. Điều này cho thấy nước thải đã qua xử lý vẫn còn tiềm ẩn những rủi ro rất lớn về độc học sinh thái. Nghiên cứu này mở ra khả năng sử dụng loài Bèo tấm để giám sát độc học sinh thái đối với chất lượng nước thải tại Việt Nam.

Từ khóa - bèo tấm; độc tính mãn tính; độc học sinh thái; nước thải dệt nhuộm; sự khử trùng

1. Đặt vấn đề

Việc sử dụng sinh vật chỉ thị môi trường (bioindicator) để giám sát, cảnh báo sớm ô nhiễm hiện nay đang được nghiên cứu và áp dụng để bổ sung cho các phương pháp hóa lý. Giám sát sinh học có khả năng cảnh báo ô nhiễm thông qua những biểu hiện bất thường trong quá trình phát triển của các loài sinh vật cảnh báo ở các ngưỡng nồng độ mà các phương pháp hóa lý khó có thể xác định được [9], [15]. Các nhóm sinh vật chính đã được sử dụng làm sinh vật chỉ thị bao gồm vi khuẩn, nấm, động vật nguyên sinh, tảo, thực vật bậc cao, động vật không xương sống cỡ lớn và cá [2].

Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) là một trong số các thực vật thủy sinh được sử dụng nhiều trong giám sát môi trường nước. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu sử dụng Bèo tấm để đánh giá các tác động của nhiều chất khác nhau lên loài này, chẳng hạn như một số kim loại nặng: Zn, Cu, Cd, Ni, hay các hóa chất như Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$); 3,5dichlorophenol ($C_6H_4Cl_2O$), thuốc trừ sâu... [5], [10]. Đồng thời cũng có nhiều nghiên cứu ứng dụng Bèo tấm trong giám sát chất lượng nguồn nước mặt như nghiên cứu của Croatia sử dụng Bèo tấm (*Lemna minor*) trong giám sát nước mặt tại sông Sava [14]. Các nước châu Á như Thái Lan cũng đã nghiên cứu thử nghiệm trên loài Bèo tấm (*Lemna perpusilla* Torr.) giám sát ô nhiễm đối với thuốc trừ sâu [12]. Tổ chức OECD đã ban hành quy chuẩn về thử nghiệm độc học sinh thái bằng Bèo tấm và được sử dụng rộng rãi tại các nước Cộng đồng châu Âu [13].

Ở Việt Nam, Bèo tấm đã được sử dụng trong xử lý ô nhiễm môi trường nước, chủ yếu hấp thụ các chất ô nhiễm vào bên trong rễ và được ứng dụng trong xử lý nguồn nước bị ô nhiễm Nitơ, Photpho [16]. Tuy nhiên, việc nghiên cứu,

Abstract - This report illustrates the results of chronic toxicity experiment of 29/3 Da Nang Textile company's textile effluent on duckweed (*Lemna minor* L., 1753) according to OECD guideline (Organization for Economic Co-operation and Development). The study determines environmental condition in cultivating duckweed is NaOCl 0,05% and time of sterilization process is 20 sec. The study has already defined EC50 = 52.23% according to frond number variable and 46.21% according to the total frond area corresponding to EC50 values for Cr (VI) according to frond number and total frond area is 2.2 mg/L and 0.9 mg/L, respectively, which are higher than the QCVN 13-MT: 2015 / BTNMT. This research shows that in the treated textile wastewater, there still remain huge potential risks for ecological toxicology. This research will shed the light on the ability of using duckweed species to monitor eco-toxicity for the quality of wastewater in Vietnam.

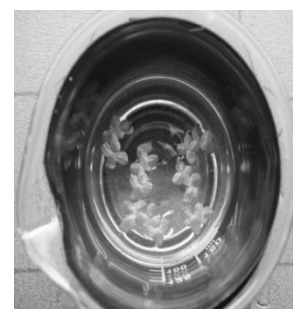
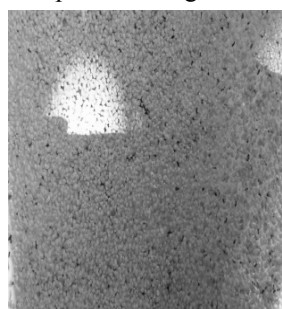
Key words - duckweed, chronic toxicity, ecological toxicity, textile effluent, sterilization

sử dụng Bèo tấm làm sinh vật giám sát, cảnh báo sớm ô nhiễm nguồn nước vẫn còn rất mới mẻ ở nước ta. Từ những vấn đề trên, chúng tôi thực hiện “Nghiên cứu sử dụng loài Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) làm sinh vật giám sát nước thải dệt nhuộm”. Kết quả nghiên cứu giúp mở ra việc sử dụng Bèo tấm làm sinh vật cảnh báo giám sát một số loại nước thải công nghiệp tại Việt Nam.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) thuộc họ Araceae được thu mẫu từ các ao, hồ tự nhiên trên địa bàn thành phố Đà Nẵng.



Hình 1. Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753)

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp phân lập, khử trùng và nuôi cấy

Phương pháp phân lập, khử trùng và nuôi cấy Bèo tấm được thực hiện theo phương pháp của David W. Bowker và cs. [4].

Những cây Bèo tấm với phiến lá xanh, khỏe mạnh được lựa chọn đem vào trong phòng thí nghiệm, khử trùng sơ bộ

bằng cách rửa sạch với nước cất nhiều lần nhằm loại bỏ những mảnh vụn vô cơ, hữu cơ và các động vật không xương sống. Xử lý được thực hiện trong tủ cấy với các chất khử trùng nồng độ khác nhau gồm NaOCl 0,5%, NaOCl 0,05% và Ca(OCl)₂ 0,5% ở các khoảng thời gian 20, 40, 60 giây. Sau đó mẫu được rửa sạch bằng nước cất vô trùng 3 lần để loại bỏ dung dịch Clo dư trước khi chuyển vào bình đựng môi trường nuôi cấy SIS, pH = 6,5±0,2 (OECD, 2006) [13]. Việc thay thế môi trường nuôi cấy mới được thực hiện thường xuyên sau 7 ngày nuôi cấy [6].

Mẫu Bèo tấm sau 7 ngày nuôi cấy ổn định tại nhiệt độ 25±2°C, ánh sáng huỳnh quang trắng 4500-6500 lux [14], theo dõi và đánh giá ảnh hưởng của chất khử trùng lên khả năng sinh trưởng và phát triển của Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) thông qua các chỉ tiêu: tỉ lệ mẫu nhiễm, tỉ lệ mẫu chết và tốc độ tăng trưởng trung bình theo số lượng lá.

2.2.2. Phương pháp thí nghiệm

Thiết kế thí nghiệm theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn CRD (Completely Randomised Design). Tiến hành quy trình thí nghiệm và đánh giá khả năng chỉ thị thông qua các chỉ số sinh trưởng và phát triển của Bèo tấm theo Hướng dẫn của OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 2006. Tiến hành thí nghiệm tính nuôi Bèo tấm trong môi trường nước thải dệt nhuộm trong thời gian 7 ngày (168 h) ở các nồng độ pha loãng: 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% và 100% nước thải kèm theo mẫu đối chứng (nuôi trong môi trường SIS ở cùng điều kiện nhiệt độ, ánh sáng...).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

So sánh các giá trị trung bình bằng phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm tra Tukey's với α = 0,05 và phân tích tương quan hồi quy trên phần mềm SPSS. Tính phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng trên phần mềm MS Excel.

Tốc độ tăng trưởng trung bình (Average specific growth rate) [13]

$$\mu_i - j = \frac{\ln(N_j) - \ln(N_i)}{t(\text{ngày})}$$

Bảng 1. Số lượng lá trong thời gian nuôi cấy 7 ngày

Thời gian khử trùng (giây)	Ca(OCl) ₂ 0,5%		NaOCl 0,5%		NaOCl 0,05%	
	Bắt đầu	Kết thúc	Bắt đầu	Kết thúc	Bắt đầu	Kết thúc
20 (n=10)	16±2,62	32,8±8,18a	15,2±2,66	18,8±2,3a	15,4±2,07	48,9±9,93a
40 (n=10)	15,9±2,81	31,5±5,58a	15,3±2,5	14,8±3,16b	15,6±2,22	47,5±7,55a
60 (n=10)	16,2±2,86	19,6±3,69b	16,7±2,58	15,2±2,86b	15,8±2,35	23,3±5,98b

Ghi chú: Các giá trị trung bình có cùng ký tự a, b, c không khác nhau có ý nghĩa (α=0,05)

Kết quả ở Bảng 1 khảo sát số lượng lá của Bèo tấm trong thời gian nuôi cấy 7 ngày khi sử dụng 3 chất khử trùng khác nhau: NaOCl 0,5%, NaOCl 0,05% và Ca(OCl)₂ 0,5%, với các khoảng thời gian khác nhau cho thấy có sự tăng trưởng về số lượng lá từ lúc kết thúc so với khi bắt đầu nuôi cấy. Số lượng lá trung bình khi bắt đầu thử nghiệm không có sự khác nhau có ý nghĩa ở mức α=0,05. Kết thúc thử

μ_i – j: tốc độ tăng trưởng trung bình từ thời gian i tới j

N_j: số lượng lá, diện tích lá (đo bằng phần mềm medeaLAB Count & Classify Version 6.7) ở chậu thử nghiệm (hoặc chậu đối chứng) lúc kết thúc thí nghiệm;

N_i: số lượng lá (diện tích mặt lá) ở chậu thử nghiệm hoặc chậu đối chứng) lúc bắt đầu thí nghiệm;

t: thời gian 7 ngày (168h).

Phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng (Percent inhibition of growth rate) [13]

$$\%Ir = \frac{\mu C - \mu T}{\mu C} * 100$$

%Ir: phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng đối với số lượng lá và diện tích mặt lá;

μC: tốc độ tăng trưởng TB đối với số lượng lá và diện tích mặt lá của chậu đối chứng;

μT: tốc độ tăng trưởng TB đối với số lượng lá và diện tích mặt lá của chậu thử nghiệm.

Nồng độ ức chế sinh trưởng 50% (EC50 – 50% Effective Concentration) [13]

Dựa vào phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng để lập phương trình logarit về mối quan hệ giữa nồng độ nước thải và phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng, từ phương trình đó tính ra EC50 (Effective concentration 50% - nồng độ gây ức chế sinh trưởng 50% ở sinh vật).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ chất và thời gian khử trùng

Sự thành công hay thất bại của quy trình nuôi cấy phụ thuộc vào việc khử trùng. Một hóa chất được lựa chọn cho quá trình vô trùng mẫu cấy phải đảm bảo 2 thuộc tính: có khả năng diệt vi sinh vật tốt và không hoặc có mức độ độc thấp đối với mẫu thực vật. Trong các loại hóa chất thì Ca(OCl)₂ (Calcium hypochlorite) và NaOCl (Sodium hypochlorite) thường được sử dụng vì chúng có mức độ độc tính thấp đối với mẫu, không có biểu hiện ức chế sinh trưởng [1], [4], [6].

thí nghiệm, đối với các chất khử trùng và thời gian nuôi cấy khác nhau thì sự tăng trưởng số lượng lá là khác nhau: Đối với Ca(OCl)₂ 0,5% khi khử trùng trong thời gian 60 giây có sự khác nhau có ý nghĩa (α=0,05) so với các thời gian khử trùng khác, xử lý bằng NaOCl 0,05% trong thời gian 20-40 giây có sự khác nhau có ý nghĩa (α=0,05) so với các nhóm còn lại. Trong cùng thời gian khử trùng mẫu, số

lượng là kết thúc thử nghiệm xử lý bằng NaOCl 0,05% có sự khác nhau có ý nghĩa ($\alpha=0,05$) so với các hóa chất còn lại. Dựa vào Bảng 1 cho thấy, nhóm có tốc độ tăng trưởng trung bình cao nhất là NaOCl 0,05% với thời gian khử trùng 20 giây đạt $0,164 \pm 0,022$, 40 giây đạt $0,159 \pm 0,018$, nhóm thấp nhất là chất khử trùng NaOCl 0,5% khi thực hiện với thời gian khử trùng 40s và 60s cho kết quả âm lần lượt $-0,006 \pm 0,01$, $-0,014 \pm 0,019$, lúc này chất khử trùng mạnh đã làm ức chế khả năng sinh trưởng bình thường của mẫu nuôi cấy, tỉ lệ chết trắng lá Bèo tấm cao nhất cũng được ghi nhận tại nồng độ này và thấp nhất tại NaOCl 0,05% với thời gian khử trùng 20 giây.

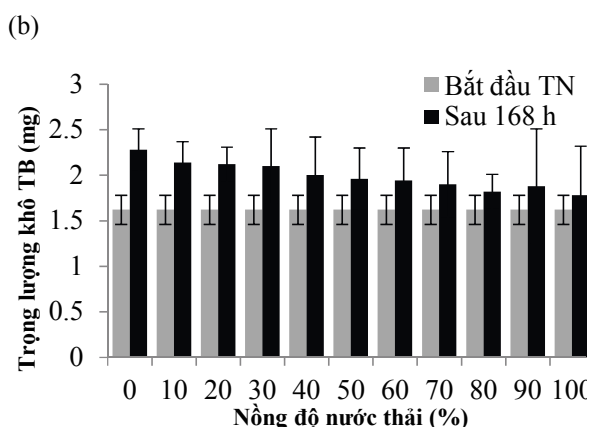
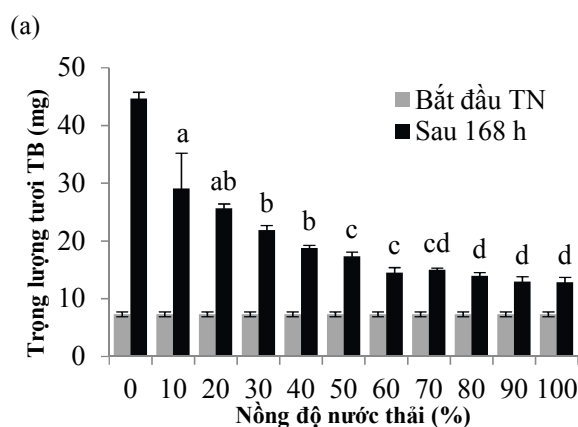
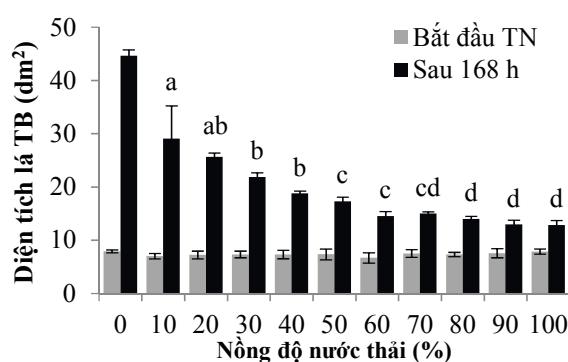
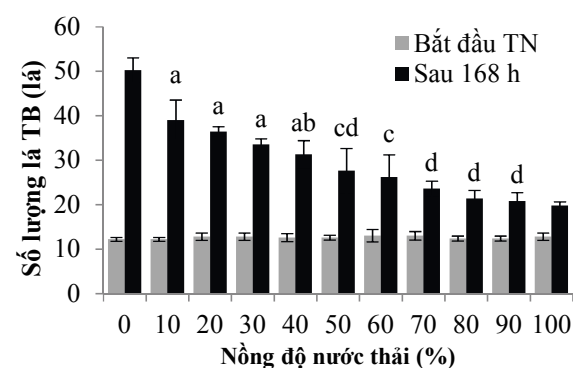
Do đó, khử trùng Bèo tấm với NaOCl nồng độ 0,05% trong thời gian 20 giây đạt hiệu quả nuôi cấy cao nhất. Theo quy trình phân lập, khử trùng và nuôi cấy của David W. Bowker và cs. NaOCl việc khử trùng đạt hiệu quả cao nhất trong khoảng nồng độ 0,05-5% [4]. Kết quả khử trùng của thử nghiệm tương ứng với kết quả nghiên cứu của Chokchai Kittiwongwattana1 và cs. (2013) thực hiện với

chất khử trùng cùng nồng độ NaOCl 0,05% trong thời gian 30 giây [3]. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Jaka Razinger và cs. về phản ứng chống oxy hóa của Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) khi phơi nhiễm với Cu [6] trước khi tiến hành thử nghiệm đã khử trùng Bèo tấm ở nồng độ NaOCl 0,01% trong 30 giây. Như vậy, có thể thấy Bèo tấm của Việt Nam có sức chống chịu cao hơn so với Bèo tấm sống trong môi trường của các nước châu Âu. Điều này có thể được giải thích vì các loài sinh vật sống ở vùng nhiệt đới có xu hướng chống chịu tốt hơn so với các loài ôn đới.

3.2. Kết quả thí nghiệm độc học nước thải dệt nhuộm

3.2.1. Kết quả khảo sát các biến số lượng lá và diện tích lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô

Các biến số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô được đo ở đầu và cuối thử nghiệm (sau 168 h). Sau đó thống kê, tính giá trị trung bình, phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm tra Tukey's cho kết quả như sau:



*Ghi chú: Các giá trị trung bình có cùng ký tự a, b, c, d không khác nhau có ý nghĩa ($\alpha = 0,05$)

Hình 2. Kết quả các biến số lượng lá (a), diện tích mặt lá (b), trọng lượng tươi (c) và trọng lượng khô (d) ở đầu và cuối thử nghiệm với nước thải dệt nhuộm

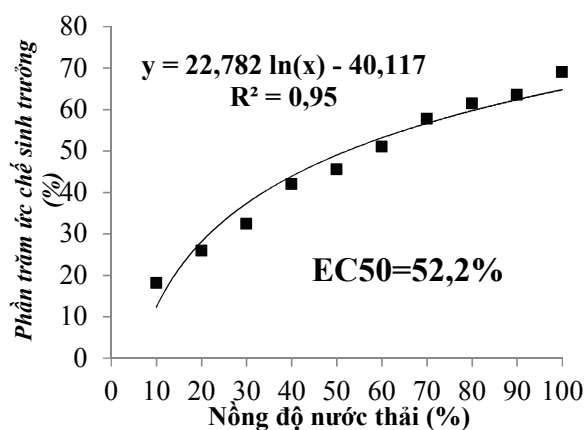
Sau thời gian 7 ngày (168 h) thử nghiệm với nước thải dệt nhuộm đầu ra, kết quả số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng khô và trọng lượng tươi đều tăng theo thời gian. Ở các biến số lượng lá, diện tích lá và trọng lượng tươi mẫu đối chứng (0%) có sự khác nhau có ý nghĩa với các nồng độ còn lại. Riêng ở biến trọng lượng khô thì không có sự khác nhau có ý nghĩa ($\alpha = 0,05$) giữa các nhóm

nồng độ. Nhìn chung, đến khoảng nồng độ 50% nồng độ nước thải bắt đầu có sự suy giảm số lượng lá, diện tích lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô, tương ứng dãy nồng độ bắt đầu từ 50 - 100% nước thải, Bèo tấm xuất hiện các dấu hiệu bất thường như là một số lá xuất hiện dấu hiệu hoại tử, các cụm chồi mất độ nổi... Khoảng nồng độ từ 80 - 100% nồng độ nước thải là có sự suy giảm mạnh nhất.

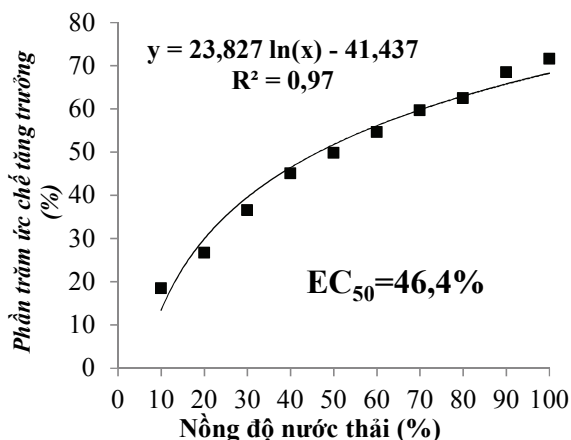
3.2.2. Đánh giá khả năng giám sát ô nhiễm nước thải dệt nhuộm sau khi xử lý

Dựa vào kết quả thống kê trên các biến số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô để tính

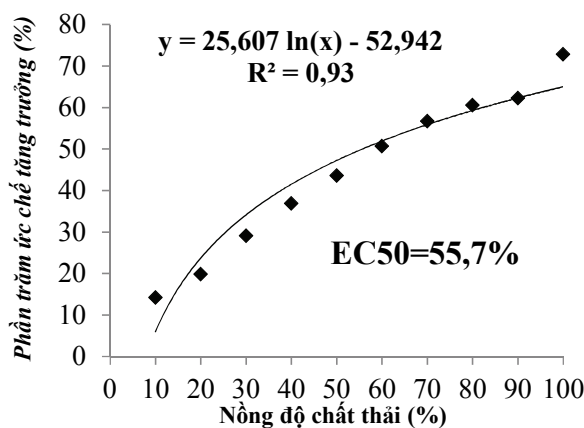
toán tốc độ tăng trưởng theo các nồng độ của nước thải, từ đó tính toán được phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng và suy ra phương trình tương quan giữa nồng độ nước thải và phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng bằng phần mềm Microsoft Excel.



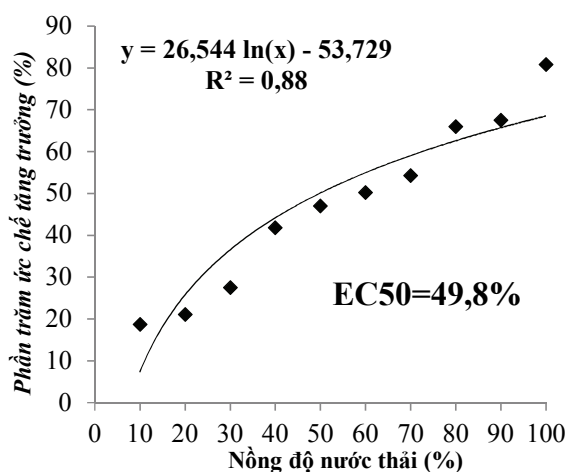
(a)



(b)



(c)



(d)

Hình 3. Biểu đồ phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng theo số lượng lá (a), diện tích mặt lá (b), trọng lượng tươi (c), trọng lượng khô (d)

Kết quả ở Hình 3 cho thấy tỉ lệ phần trăm ức chế tăng trưởng theo số lượng lá và diện tích mặt lá tăng theo chiều tăng của nồng độ nước thải, đồng thời ở mỗi nồng độ thì có sự gia tăng phần trăm ức chế tăng trưởng theo thời gian.

Kết quả EC_{50} (nồng độ phần trăm gây ức chế sinh trưởng 50% sinh vật) tính toán dựa trên phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng của Bèo tấm trong nước thải dệt nhuộm đầu ra dựa trên các biến số lượng lá là 52,2%, diện tích lá là 46,4%, trọng lượng tươi là 55,7% và trọng lượng khô là 49,8%.

Đối chiếu nghiên cứu của Wuncheng Wang trên 1 số loại nước thải sử dụng Bèo tấm để thử nghiệm. Kết quả EC_{50} của mẫu nước thải được lấy từ một nhà máy xử lý sơ bộ nước thải công nghiệp, nước thải được đánh giá vẫn chứa lượng độc tố đáng kể EC_{50} nằm trong khoảng 22 - 49% [17], tương ứng với khoảng nồng độ EC_{50} của nước thải sau xử lý của Công ty Dệt may 29/3.

So sánh với kết quả thử nghiệm của Nabila Khellaf và cộng sự, EC_{50} tính toán dựa trên biến số lượng lá trên các kim loại Cd (0,64 mg/L); Cu (0,45 mg/L); Ni (1,9 mg/L), Zn (5,5 mg/L) [10]. Một nghiên cứu khác của Wang (1986), kết quả EC_{50} trên các kim loại Mn (31 mg/L), Ni (0,45 mg/L), Pb (320 mg/L), Zn (10 mg/L) và của Ince (1999) kết quả EC_{50} Zn (9,6 mg/L) [10]. Tương ứng với nồng độ nước thải trong khoảng 55,7%, theo báo cáo về chất lượng nước thải dệt nhuộm đầu ra thì hàm lượng các kim loại Cd (< 0,001 mg/L), Cu (< 0,01 mg/L), Ni (< 0,1 mg/L), Zn (0,031 mg/L), Pb (< 0,003 mg/L), Mn (< 0,05 mg/L)... là thấp hơn so với thử nghiệm của Nabila Khellaf, Wang và Ince.

Như vậy, có thể thấy khi kiểm tra nước thải bằng các phương pháp hóa lý thì có thể cho kết quả đạt yêu cầu, không gây ra ô nhiễm môi trường theo quy định, tuy nhiên vẫn có khả năng gây ra những rủi ro về mặt sinh học. Ở

đây, nước thải dột nhuộm sau khi xử lý có mức độ nguy hại cao, rủi ro về mặt sinh thái là tương đối cao.

4. Kết luận

Đánh giá hiệu quả khử trùng mẫu Bèo tấm trên ba chất khử trùng với các khoảng thời gian khác nhau cho thấy: chất khử trùng cho hiệu quả tốt nhất là NaOCl 0,05% trong thời gian 20 giây.

Thử nghiệm độc học trên nước thải dột nhuộm cho thấy mức độ độc hại ở mức trung bình. Bèo tấm vẫn sinh trưởng và phát triển, nhưng phần trăm ức chế sinh trưởng tăng dần theo thời gian cho nên rủi ro về mặt sinh thái vẫn ở mức cao.

Bèo tấm có độ nhạy cảm cao với chất ô nhiễm biểu hiện bằng những thay đổi bất thường trong sự phát triển của chúng mà ta có thể quan sát và tính toán được. Có sự tương quan tốt giữa mức độ ô nhiễm và khả năng phát triển của Bèo tấm. Do đó, chúng ta có thể nghiên cứu để sử dụng chúng làm sinh vật cảnh báo, phát hiện sớm ô nhiễm đối với các loại nước thải công nghiệp, nước rỉ rác... hoặc cũng có thể sử dụng trong giám sát chất lượng nước mặt.

Thí nghiệm trên Bèo tấm cho thấy có sự gia tăng ức chế sinh trưởng theo thời gian, nên có thể đưa ra kết luận rằng các chất ô nhiễm có thể không gây ra những tác động và biểu hiện tức thời (nhễm độc cấp tính). Tuy nhiên, sau một khoảng thời gian nhất định có thể tiềm ẩn nguy cơ gây ra những ảnh hưởng nghiêm trọng lên đời sống của sinh vật. Như vậy, các thử nghiệm mãn tính trong thời gian kéo dài rất cần thiết trong các thử nghiệm độc học môi trường, giúp phát hiện và đánh giá ô nhiễm một cách hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Agostini G., Echeverrigaray S., 2001. Micropropagation of *Cunila incisa* Benth., a potential source of 1,8-cineole. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, pp. 8-12.
- [2] Ayodhya D. Kshirsagar, Use of Algae as a Bioindicator to Determine Water Quality of River Mula from Pune City, Maharashtra (India), *Universal Journal of Environmental Research and Technology*, Volume 3, Issue 1: 79-85.
- [3] Chokchai Kittiwongwattana and Supachai Vuttipongchaikij, 2013. Effects of nutrient media on vegetative growth of *Lemna minor* and *Landoltia punctata* during in vitro and ex vitro cultivation. Science of technology, Department of Applied Biology, Thailand, 7(01), pp. 60-69.
- [4] David W. Bowker, Anthony N. Duffield and Patrick Denny, 1980. Methods for the isolation, sterilization and cultivation of Lemnaceae. *Freshwater Biology* 10, pp. 385-388.
- [5] Environment Canada, 2013. Biological test method: Test for measuring the Inhibition of Growth using the the freshwater Macrophyte, *Lemna minor*. Canada, pp 1-62.
- [6] Jaka Razinger, Marina Dermastia, Luka Drinovec, Damjana Drobne, Alexis Zrimec1 and Jasna Dolenc Koce, 2007. Antioxidative Responses of Duckweed (*Lemna minor* L., 1753) to Short-Term Copper Exposure. *Environmental Science Pollution Restoration*, University of Ljubljana, Slovenia, 14(3), pp. 195-199.
- [7] Matthias Eberius, 2011. Observation Parameters of the Duckweed Growth Inhibition Test Frond number - Total Frond Area - Dry weight. LemnaTec GmbH, Schumanstrasse 18, 52146 Wurselen, Germany, pp. 243-148.
- [8] Maria Gausman, 2006. A comparison of Duckweed and standard Algal phytotoxicity tests as indicators of aquatic toxicology. Published on Miami University, pp. 15-18.
- [9] McGeoch, M.A. (1998): The selection, testing & application of terrestrial insects as bioindicators. *Biol. Rev.*, 73:181-201.
- [10] Nabila Khellaf , Mostefa Zerdaoui , Olivier Faure , Jean Claude Leclerc, 2011. Tolerance to Heavy metals in the duckweed, *Lemna minor*. Université Jean Monnet, Saint-étienne, France, pp. 23-34.
- [11] Nabila Khellaf, M. Zerdaoui, 2009. Growth response of the duckweed *Lemna minor* to heavy mental pollution. *Journal of Environmental Health Science & Engineering* 2009, 6(3), pp. 161-166.
- [12] On-Anong Phewnil, Nipon Tungkananurak, Supamard Panichsakpatan, Bongotrat Pitiyont, Phytotoxicity of Atrazine Herbicide to Fresh Water Macrophyte Duckweed (*Lemna perpusilla* Torr.) in Thailand, pp, 45-49.
- [13] Organization for Economic Cooperation and Development, 2006. OECD guidelines for the testing of chemicals: Lemna sp. Growth Inhibition Test, pp. 7-11.
- [14] Sandra Radić Brkanac1 , Draženka Stipaničev2 , Siniša Širac2 , Katarina Glavaš1 , Branka Pevalek-Kozlina, 2010. Biomonitoring Of Surface Waters Using Duckweed (*Lemna minor* L., 1753). Faculty of Science, University of Zagreb, 2 Croatian Waters, Zagreb, Croatia, pp. 23-28.
- [15] Shahabuddin, (2003): The Use of Insect as Forest health Bioindicator. [http://www.iptek.net.id/ind/?ch=jsti&id=128.Bioindicator2_files_\(dk.03th February, 2007\)](http://www.iptek.net.id/ind/?ch=jsti&id=128.Bioindicator2_files_(dk.03th%20February,2007)).
- [16] Trần Thị Lam Khoa, Trần Thị Bé Gấm, Nguyễn Tấn Duy (2013), *Nghiên cứu khả năng xử lý nước thải ao nuôi cá tra thâm canh bằng các loại thực vật thượng đẳng thủy sinh sống trôi nổi*, Đề tài nghiên cứu khoa học tham gia giải thưởng “Tài năng khoa học trẻ Việt Nam 2013”.
- [17] Wuncheng Wang, 1989. Toxicity Assessment of the Aquatic environment using phytoassay methods. Water Quality Section Illinois State Water Survey Box 697 Peoria, IL 61652, pp. 76.

(BBT nhận bài: 19/9/2016, hoàn tất thủ tục phản biện: 01/01/2017)