

SỬ DỤNG BÈO TẮM (*LEMNA MINOR* L., 1753) ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG NƯỚC THẢI TẠI BÃI RÁC KHÁNH SƠN, TP. ĐÀ NẴNG

USE OF DUCKWEED (*LEMNA MINOR* L., 1753) FOR QUALITY ASSESSTMENT OF WASTE WATER AT KHANH SON LANDFILLS, DA NANG CITY

Nguyễn Văn Khánh, Nguyễn Thị Phương

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

Tóm tắt - Bài báo cung cấp kết quả nghiên cứu sử dụng Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) làm sinh vật giám sát chất lượng nước thải của bãi rác Khánh Sơn, thành phố Đà Nẵng. Kết quả thử nghiệm độc học của Bèo tấm đối với nước thải đầu vào của bãi rác Khánh Sơn cho thấy, giá trị EC_{50} trong 7 ngày (168 h) đối với số lượng lá là 1,9%; diện tích mặt lá 1,5%; trọng lượng khô 1,8%, trọng lượng tươi 1,5%. Đối với nước thải đầu ra kết quả giá trị EC_{50} trong 7 ngày (168 h) đối với số lượng lá là 4,1%; diện tích mặt lá 4,3%; trọng lượng khô 4,2%, trọng lượng tươi 3,9%. Qua đó cho thấy, chất lượng nước thải bãi rác Khánh Sơn có rủi ro về mặt sinh thái ở mức độ rất cao nếu không xử lý hiệu quả. Phân tích tương quan hồi quy cho thấy, tất cả các chỉ số đánh giá đều phản ánh tốt về sự thay đổi chất lượng nước thải. Kết quả này cho thấy, có thể áp dụng quy trình sử dụng Bèo tấm trong giám sát nước thải tại Việt Nam.

Từ khóa - Bèo tấm (*Lemna minor* L.; 1753); chỉ thị sinh học; nước thải; độc học môi trường.

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, có nhiều phương pháp được sử dụng để cảnh báo, đánh giá ô nhiễm nguồn nước, thường được dùng nhất là phương pháp hóa lý. Tuy nhiên, một số chất có khả năng phá hủy hệ sinh thái, sức sống của sinh vật ở những nồng độ rất thấp, thấp hơn giới hạn phát hiện của các phương pháp hóa lý, đồng thời nếu áp dụng các phương pháp hóa lý thì phải thực hiện liên tục với tần suất lớn, gây tốn kém về mặt kinh tế [1], [2].

Một phương pháp có thể khắc phục được những nhược điểm của phương pháp hóa lý đó là sử dụng sinh vật chỉ thị môi trường để giám sát, cảnh báo sớm ô nhiễm. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, các thực vật thủy sinh có sự nhạy cảm với các chất ô nhiễm cao hơn các loài động vật. Chính vì vậy, chúng đặc biệt thích hợp sử dụng trong việc giám sát môi trường nước thông qua các thử nghiệm độc tính [3]. Trong số đó, Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) đã được các nghiên cứu khẳng định rằng, chúng là thực vật sản xuất sơ cấp quan trọng thuộc chuỗi thức ăn thủy sinh, việc sử dụng chúng có ý nghĩa trong đánh giá các mối nguy hiểm của các chất ô nhiễm đối với các hệ sinh thái nước ngọt [4]. Mặt khác, Bèo tấm có tính nhạy cảm cao, có kích thước nhỏ, cấu trúc đơn giản, thời gian thế hệ ngắn rất thích hợp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm [3]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã được tiến hành nhằm sử dụng loài Bèo tấm trong giám sát chất lượng nước [5], Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế (OECD - Organization for Economic Cooperation and Development) 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 [6]. Tuy nhiên, ở Việt Nam vẫn chưa có nhiều nghiên cứu sử dụng Bèo tấm làm sinh vật giám sát, cảnh báo sớm ô nhiễm nguồn nước.

Abstract - This paper presents the research results of using duckweed (*Lemna minor* L., 1753) as detector organism in wastewater quality monitoring of Khanh Son landfill, Da Nang city. Results of toxic test of Duckweed for untreated wastewater of Khanh Son landfill show that EC_{50} value for 7 days (168 hours) for the frond number variable is 1.9%; total frond area is 1.5%, dry weight is 1.8%, fresh weight is 1.5%. For treated wastewater, results show that EC_{50} value for 7 days (168 hours) for the frond number variable is 4.1%; total frond area is 4.3%, dry weight is 4.2%, fresh weight is 3.9%. Thereby, the quality of waste water in Khanh Son landfill has an ecological risks at high level if it is not effectively treated. Analysis correlation and regression show that all indicators such as the number of leaves, leaf area, fresh weight and dry weight are good reflections of the changing in waste water quality. This result shows that duckweed (*Lemna minor* Linnaeus, 1753) can be used to monitor ecotoxicity in Vietnam.

Key words - Duckweed (*Lemna minor* Linnaeus; 1753); monitor ecotoxicity; untreated waste water; treated wastewater

Bài báo này, cung cấp những kết quả trong việc sử dụng Bèo tấm (*Lemna minor* L., 1753) đánh giá chất lượng nước thải tại bãi rác Khánh Sơn, thành phố Đà Nẵng. Đây là những dẫn liệu khoa học bước đầu cho việc nghiên cứu, ứng dụng Bèo tấm làm sinh vật chỉ thị môi trường nước tại Việt Nam.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Mẫu nước thải đầu vào và đầu ra lấy tại bãi rác Khánh Sơn, thành phố Đà Nẵng. 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 và khử trùng được thực hiện theo phương pháp của David W. Bowker và cs. [7], quy trình nuôi cấy sẽ được thực hiện theo tiêu chuẩn của OECD, 2006 [6].

Những cây Bèo tấm với phiến lá xanh, to và khỏe mạnh được lựa chọn mang vào trong phòng thí nghiệm xử lý sơ

bộ với nước cất vô trùng nhằm loại bỏ những mảnh vụn vô cơ, hữu cơ và các động vật không xương sống. Việc khử trùng được thực hiện trong tủ cấy với chất khử trùng là NaOCL 0,05% trong khoảng thời gian 20 giây. Sau đó Bèo tấm được rửa sạch lại với nước cất để loại bỏ dung dịch Clo dư trước khi chuyển vào bình đựng môi trường nuôi cấy SIS, pH = 6,5±0,2 (môi trường thí nghiệm SIS được chuẩn bị, pha theo hướng dẫn của [6]).

Mẫu Bèo tấm được nuôi cấy ổn định tại phòng thí nghiệm ở nhiệt độ 25±2°C và cường độ ánh sáng 4500-6500 lux [8]. Việc thay thế môi trường nuôi cấy mới được thực hiện thường xuyên sau 7 ngày nuôi cấy [9].

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

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 [6]. Thí nghiệm được thực hiện theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn CRD (Completely Randomised Design). Nước thải đầu vào của bãi rác Khánh Sơn được lấy trong khoảng từ tháng 2 đến tháng 4 năm 2016 được chia thành 7 dãy nồng độ pha loãng là 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%; nước thải đầu ra chia thành 10 dãy nồng độ pha loãng tương ứng 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% và kèm theo mẫu đối chứng. Với mỗi dãy nồng độ pha loãng lập lại 5 cốc, mỗi cốc có từ 3-5 cây bèo tấm/150ml môi trường [6]. Bèo được cân khối lượng trước khi cấy vào ly (nuôi trong môi trường SIS ở cùng điều kiện nhiệt độ, ánh sáng...).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các tham số được theo dõi trong quá trình thử nghiệm để xác định nồng độ gây ức chế sinh trưởng 50% (EC50 – Effective Concentration 50%) gồm:

+ Số lượng lá: được đếm bằng mắt thường và kiểm tra lại bằng phần mềm Medecalab Count & Classify;

+ Trọng lượng tươi: Xác định bằng cân phân tích sau khi quay ly tâm với tốc độ 3000 rpm trong 10 phút.

+ Trọng lượng khô: Thu các cụm chồi ở mỗi cốc (bao gồm cả rễ), rửa sạch với nước cất rồi sấy khô ở nhiệt độ 60°C trong vòng 24h hoặc 100°C trong 6h, sau đó đem đi đo bằng cân phân tích.

+ Tổng diện tích mặt lá: Hình ảnh được xử lý, tính diện tích bằng phương pháp phân tích hình ảnh sử dụng trên phần mềm MedeaLab và xuất dữ liệu qua Microsoft Excel.

So sánh các giá trị trung bình bằng phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm tra Tukey's với $\alpha = 0,05$ 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) [6]

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln(N_j) - \ln(N_i)}{t}$$

Trong đó:

- μ_{i-j} : Tốc độ tăng trưởng trung bình đối với các tham số số lượng lá, tổng diện tích mặt lá, trọng lượng khô, trọng lượng tươi;

- N_j : Các tham số số lượng lá, tổng diện tích mặt lá, trọng lượng tươi, trọng lượng khô đo lường ở chậu thử

thí nghiệm (hoặc chậu đối chứng) lúc kết thúc thí nghiệm;

- Ni: Các tham số số lượng lá, tổng diện tích mặt lá, trọng lượng tươi, trọng lượng khô đo lường ở chậu thử thí nghiệm (hoặc chậu đối chứng) lúc bắt đầu thí nghiệm.

- t: Thời gian 7 ngày (168 h).

Phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng (Percent inhibition of growth rate) [6]

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

Trong đó:

- $\%Ir$: Phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng đối với các tham số số lượng lá, tổng diện tích mặt lá, trọng lượng khô, trọng lượng tươi;

- μC : Tốc độ tăng trưởng trung bình đối với các tham số số lượng lá, tổng diện tích mặt lá, trọng lượng tươi, trọng lượng khô ở chậu đối chứng;

- μT : Tốc độ tăng trưởng trung bình đối với các tham số số lượng lá, tổng diện tích mặt lá, trọng lượng tươi, trọng lượng khô ở chậu thử thí nghiệm.

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. Kết quả thử nghiệm nước thải bãi rác đầu vào

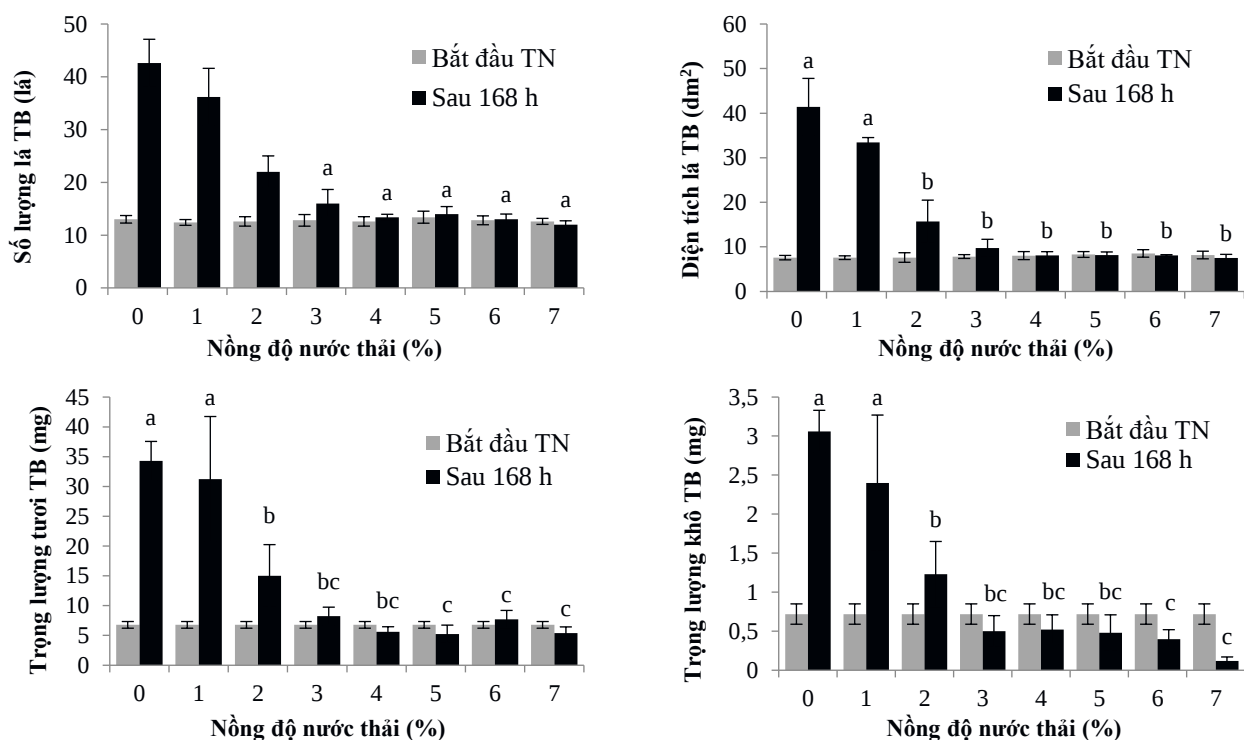
Các biến số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô được đo ở đầu và cuối thử nghiệm. Sau đó thống kê, tính giá trị trung bình, phân tích phương sai và kiểm tra Tukey's cho kết quả như Hình 2.

Sau khi kết thúc thử nghiệm 7 ngày (168h), dựa vào kết quả ở Hình 2 cho thấy, đối với biến số lượng lá, các nồng độ 0%, 1% và 2% có sự khác nhau có ý nghĩa ($\alpha=0,05$) với các nhóm nồng độ còn lại. Không có sự khác nhau có ý nghĩa ($\alpha = 0,05$) giữa các nhóm nồng độ 3 – 7%. Riêng đối với các biến diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô thì bắt đầu từ nồng độ 2% đã có sự khác nhau với các nhóm nồng độ 0% - 1%. Bắt đầu từ khoảng nồng độ 2% số lượng lá, diện tích lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô suy giảm, suy giảm mạnh nhất trong khoảng 4 – 7%. Tương ứng với khoảng nồng độ từ 4% Bèo tấm xuất hiện các dấu hiệu bất thường: các chiếc lá bị tách ra khỏi cụm chồi, nhiều lá bị mất màu và hoại tử.

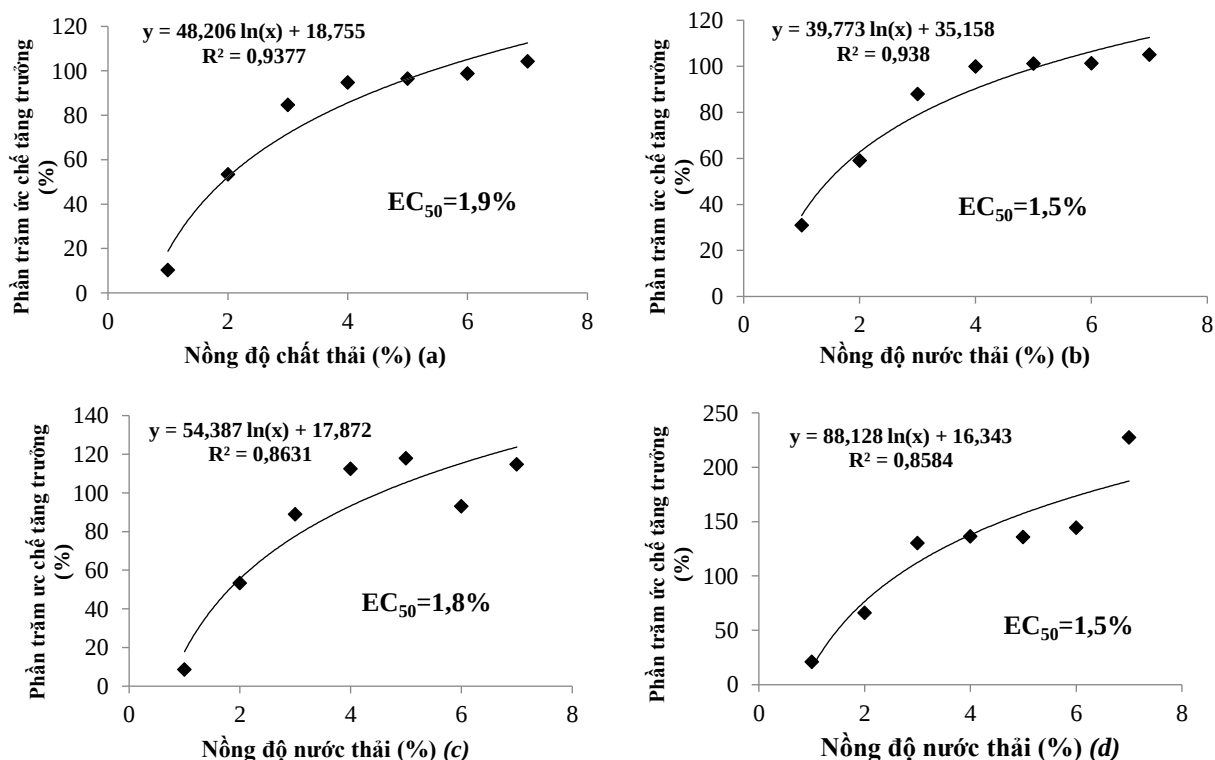
EC50 tính toán dựa vào phần trăm ức chế tăng trưởng trên các biến số lượng lá là 1,9%; diện tích lá 1,5%; trọng lượng tươi 1,8% và trọng lượng khô là 1,5% nồng độ nước thải. Kết quả này tương ứng với nghiên cứu của Wuncheng Wang [10] thực hiện trên mẫu nước thải của một công ty sản xuất chất hóa học, EC50 từ mẫu nước thải thu được từ công ty này được tính toán là khoảng 1,6%, nước thải của chúng vô cùng độc hại. Một nghiên cứu khác của Ince và cộng sự [1], trên kim loại Pb, kết quả EC50 tính toán được là 15,7 mg/L, ở mức cao. Qua đó, có thể thấy nước thải trước khi xử lý của bãi rác Khánh Sơn ở mức độ ô nhiễm và độc hại cao. Nếu xảy ra các sự cố về môi trường hoặc sự cố với hệ thống xử lý nước thải của bãi rác thì sẽ gây ra

những ảnh hưởng đến môi trường vô cùng nghiêm trọng,

rủi ro về mặt sinh thái rất cao.



Hình 2. Kết quả các biến đo lường ở đầu và cuối thử nghiệm với nước thải bãi rác đầu vào
Ghi chú: Các giá trị trung bình có cùng ký tự a, b, c trong không khác nhau có ý nghĩa ($\alpha=0,05$)



Hình 3. Phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng theo các biến: Số lượng lá (a); Diện tích mặt lá (b); Trọng lượng tươi (c); Trọng lượng khô (d) trong nước thải rỉ rác đầu vào

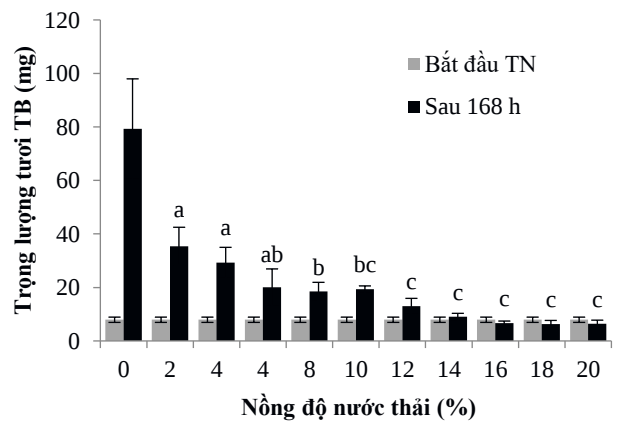
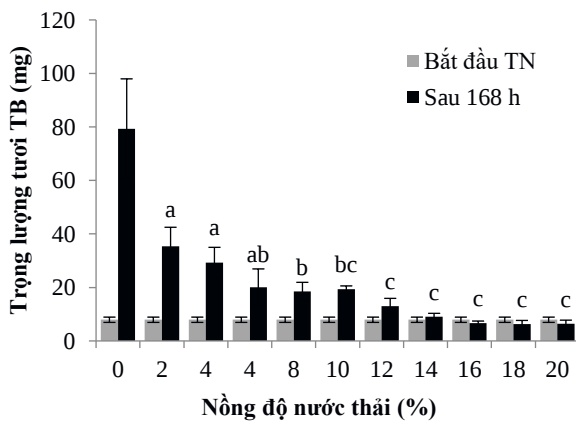
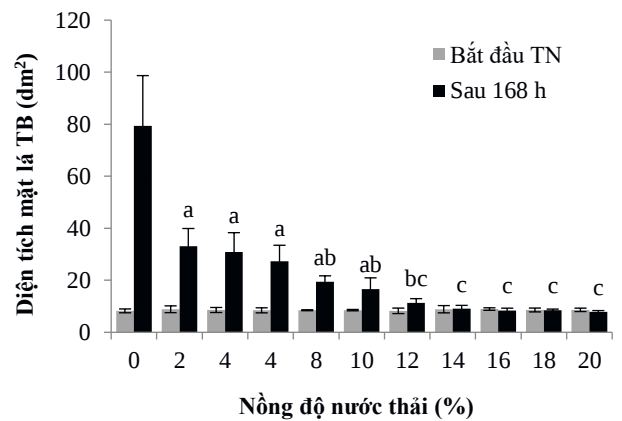
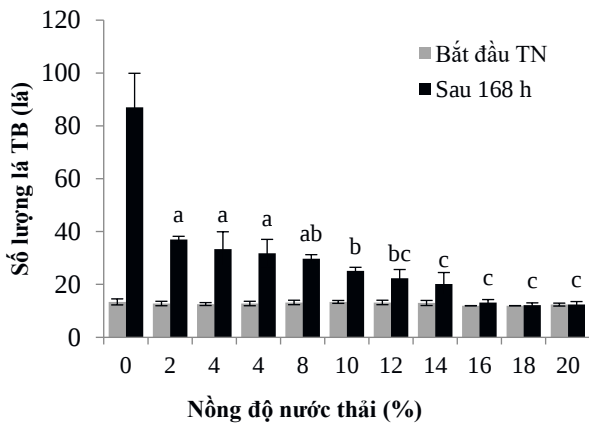
Sử dụng phần mềm SPSS để phân tích tương quan hồi quy giữa các biến nồng độ nước thải, số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô.

Kết quả như sau: Phân tích tương quan hồi quy cho kết quả tương quan nghịch giữa nồng độ của nước thải với các biến số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng khô

và trọng lượng tươi với mức tương quan tốt và độ tin cậy cao. Phân tích tương quan giữa các biến số lượng lá với diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô cũng cho kết quả tương quan thuận với mức tương quan rất tốt.

3.2. Kết quả thử nghiệm với nước thải bãi rác đầu ra

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 đó thống kê, tính giá trị trung bình, phân tích phương sai và kiểm tra Tukey's cho kết quả như Hình 4.



Hình 4. Kết quả các biến đo lường ở đầu và cuối thử nghiệm với nước thải bãi rác đầu ra

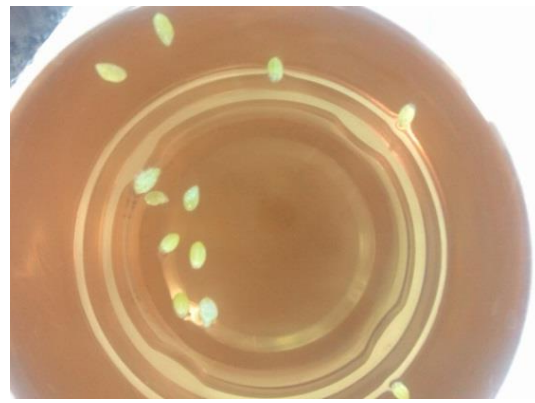
Ghi chú: Các giá trị trung bình có cùng ký tự a, b, c trong mỗi biểu đồ không khác nhau có ý nghĩa ($\alpha=0,05$)

Sau 168 giờ thử nghiệm, ở tất cả các biến số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô, mẫu đối chứng (0%) có sự khác nhau, có ý nghĩa với các nồng độ còn lại. Không có sự khác nhau, có ý nghĩa giữa các nồng độ nằm trong khoảng 2% - 10%. Bắt đầu từ khoảng

10% có sự khác nhau có ý nghĩa ($\alpha = 0,05$). Bắt đầu từ 2% đã có sự suy giảm rõ rệt, và mức độ suy giảm cao nhất là ở khoảng nồng độ 16 – 20%. Ở mức 20% nồng độ nước thải, tất cả các chiếc lá bị tách ra khỏi cụm chồi và bị mất màu, xuất hiện các dấu hiệu hoại tử.

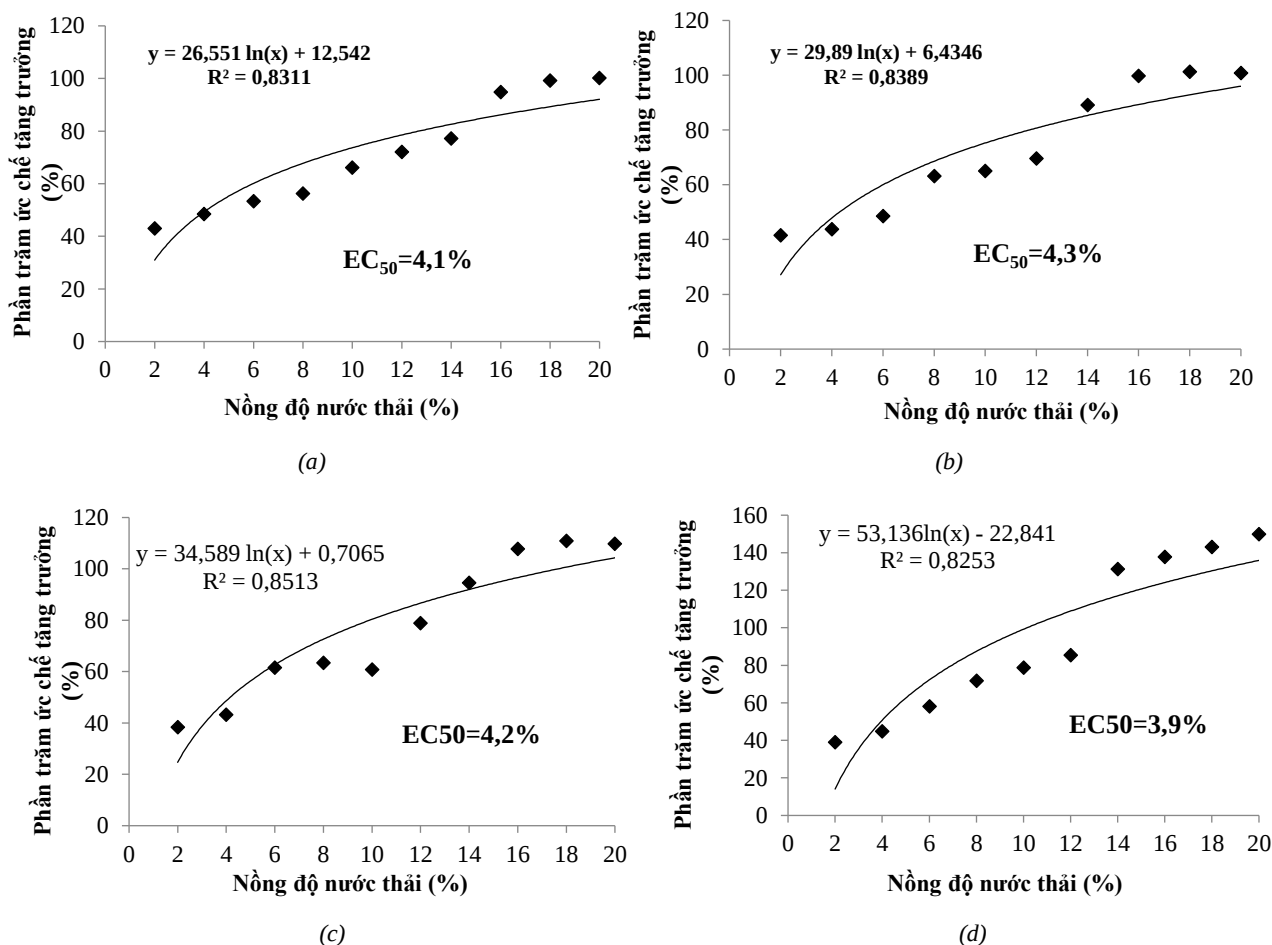


a)



b)

Hình 5. (a) Bèo tấm lúc bắt đầu (b) Sau 168h thử nghiệm ở nồng độ 20% nước thải bãi rác đầu ra



Hình 6. Phản trăm ức chế tốc độ tăng trưởng theo các biến: Số lượng lá (a); Diện tích mặt lá (b); Trọng lượng tươi (c); Trọng lượng khô (d) trong nước thải rỉ rác đầu ra

Kết quả EC₅₀ của nước thải bãi rác đầu ra đối với các biến số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô tương ứng là 4,1%; 4,3%; 4,2%; 3,9% nước thải, mức độ ô nhiễm đã giảm tuy nhiên vẫn ở mức rất cao.

So sánh với thử nghiệm tương ứng của Erlei Cassiano Keppeler, trên một loại thuốc trừ sâu parathion – một hợp chất photphat hữu cơ và là một loại thuốc trừ sâu rất mạnh, cực độc với nhiều sinh vật, kể cả con người, kết quả EC₅₀ tính toán được của Bèo tấm trong loại chất độc này là 49,48 mg/L ở mức cao [12]. Kết quả thử nghiệm của Nabila Khellaf và cộng sự, EC₅₀ tính toán dựa trên biến số lượng lá trên kim loại Cd (0,64 mg/L) [13]. Một nghiên cứu khác của Ince và cộng sự, trên kim loại Pb, kết quả EC₅₀ tính toán được là 15,7 mg/L [11]. Tuy nhiên, theo báo cáo về chất lượng nước thải bãi rác đầu ra thì hàm lượng Photpho tổng (17,5 mg/L), các kim loại Cd (<0,0002 mg/L), Pb (<0,0001 mg/L) đều thấp hơn rất nhiều hơn so với thử nghiệm của Nabila Khellaf và của Ince.

Như vậy có thể kết luận, nước thải bãi rác sau khi xử lý vẫn có mức độ nguy hại cao, rủi ro sinh thái là đặc biệt lớn.

Sử dụng phần mềm SPSS để phân tích tương quan hồi quy giữa các biến nồng độ nước thải, số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô. Kết quả như sau: Phân tích tương quan hồi quy cho kết quả tương quan

ngược giữa nồng độ của nước thải với các biến số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô tương ứng là 4,1%; 4,3%; 4,2%; 3,9% nước thải, mức độ ô nhiễm đã giảm tuy nhiên vẫn ở mức rất cao. Phân tích tương quan giữa các biến số lượng lá với diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô cũng cho kết quả tương quan thuận với mức tương quan rất tốt.

4. Kết luận

Kết quả thử nghiệm độc học của Bèo tấm đối với nước thải đầu vào của bãi rác Khánh Sơn cho thấy giá trị EC₅₀ trong 7 ngày (168 h) đối với số lượng lá là 1,9%; diện tích mặt lá 1,5%; trọng lượng khô 1,8%, trọng lượng tươi 1,5%. Đối với nước thải đầu ra kết quả giá trị EC₅₀ trong 7 ngày (168 h) đối với số lượng lá là 4,1%; diện tích mặt lá 4,3%; trọng lượng khô 4,2%, trọng lượng tươi 3,9%. Qua đó cho thấy chất lượng nước thải Bãi rác Khánh Sơn có rủi ro về mặt sinh thái ở mức độ rất cao nếu không xử lý hiệu quả.

Phân tích tương quan hồi quy cho thấy tất cả các chỉ số đánh giá số lượng lá, diện tích mặt lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô đều phản ánh tốt về sự thay đổi chất lượng nước thải. Như vậy, tất cả các biến này đều có thể được sử dụng tốt trong các giám sát về chất lượng nước. Trong số đó, chỉ số về số lượng lá và trọng lượng tươi thuận lợi cho việc đo đạc và tính toán hơn cả, vì chỉ số về diện tích mặt lá yêu cầu phải có phần mềm chuyên dụng còn chỉ số về trọng

lượng khô dễ dẫn đến sai số do khối lượng phân tích nhỏ.

Qua nghiên cứu có thể thấy loài Bèo tấm rất nhạy cảm với ô nhiễm, đồng thời chúng cũng phản ánh tốt đối với sự thay đổi chất lượng nước thải. Bởi vậy, nên đưa quy trình chỉ thị ô nhiễm của loài Bèo tấm theo hướng dẫn OECD, 2006 áp dụng vào giám sát chất lượng nước thải tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Xuân Quýnh, Clive Pinder, Steve Tilling (2004), “*Giám sát sinh học môi trường nước ngọt bằng động vật không xương sống cỡ lớn*”, Nhà xuất bản Đại học quốc gia Hà Nội.
- [2] Trương Quốc Phú (2015), “*Chỉ thị sinh học và quan trắc chất lượng nước bằng biện pháp sinh học*”, Báo cáo tại Hội thảo “Quan trắc và quản lý chất lượng nước trong phát triển nuôi trồng thủy sản”.
- [3] Frank M. Butterworth, Amara Gunatilaka, Maria Eugenia Gonshebb (2011), “Biomonitors and Biomarkers as Directive s of Environmental” *Change 2: A Handbook*, p350-352.
- [4] Radić S1, Stipanicev D, Cvjetko P, Mikelić IL, Rajčić MM, Sirac S, Pevalek-Kozlina B, Pavlica M (2010), “Ecotoxicological assessment of industrial effluent using duckweed (*Lemna minor* L.) as a test organism”, *Ecotoxicology* 19:216-222.
- [5] Trần Sỹ Nam, Nguyễn Văn Công, Phạm Quốc Nguyên, Võ Ngọc Thanh (2012), “Ảnh hưởng của alpha-cypermethrin lên enzym cholinesterase và sinh trưởng của cá Rô đồng (*Anabas Testudineus*)”, *Tạp chí Khoa học* 23a, 262-272.
- [6] Organization for Economic Cooperation and Development, 2006, OECD guidelines for the testing of chemicals: *Lemna* sp. Growth Inhibition Test, pp. 7-11.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Matthias Eberius (2001), “*Observation parameters of the duckweed growth inhibition test: Frond number – Total frond area – Dry weight*”, LemnaTec GmbH, Germany.
- [10] Wuncheng Wang (1989), “*Toxicity Assessment of the Aquatic enviroment using phytoassay methods*”, Water Quality Section Illinois State Water Survey Box 697 Peoria, IL 61652.
- [11] Ince, N. H., Dirilgen, N., Apikyan, I. G., Tezcanli, Üstün, G. B. 1999. “Assessment of toxic interactions of heavy metals in binary mixtures: a statistical approach”. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 36: p 365–372.
- [12] Erlei Cassiano Keppeler, (2009), “Toxicity of sodium chloride and methyl parathion on the macrophyte *Lemna minor* (Linnaeus, 1753) with respect to frond number and chlorophyll”, *Biotemas*, 22 (3): 27-33.
- [13] 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.

(BBT nhận bài: 17/01/2019, hoàn tất thủ tục phản biện: 15/03/2019)