

Bèo tấm, lời giải tiềm năng cho bài toán bùng nổ dân số toàn cầu

Hoàng Thị Như Phương, Cao Xuân Hiếu*

Viện Di truyền thực vật và Nghiên cứu cây trồng, Gatersleben, CHLB Đức

Ngày nhận bài 26.2.2015, ngày gửi phản biện 2.3.2015, ngày nhận phản biện 24.3.2015, ngày chấp nhận đăng 1.4.2015

Việc dân số thế giới tăng nhanh đến trên 7 tỷ (ước tính đến 2050 là 9 tỷ) đặt loài người trước những thách thức mới về lương thực, thực phẩm, nhiên liệu... Vấn đề này thậm chí còn khó khăn hơn rất nhiều nếu tính đến những tác hại của biến đổi khí hậu toàn cầu đang và sẽ diễn ra ngày một trầm trọng hơn. Đất canh tác ngày càng thu hẹp. Việc nâng cao những hiểu biết về cây trồng, đặc biệt là cây trồng thủy sinh như bèo tấm, đã trở thành nhu cầu thiết yếu để phát triển ngành nông nghiệp hiện đại nhằm đối mặt với các thách thức này. Bài tổng quan dưới đây giới thiệu những ưu điểm nổi bật về ứng dụng và nghiên cứu cơ bản trên đối tượng bèo tấm, một “ứng viên” tiềm năng để giải bài toán bùng nổ dân số toàn cầu.

Từ khóa: bèo tấm, nhiên liệu sinh học, thức ăn chăn nuôi, xử lý nước thải.

Chỉ số phân loại 1.6

DUCKWEED AS AN AQUATIC MONOCOT CROP - A POTENTIAL FOR THE PROBLEM OF GLOBAL POPULATION BOOM

Summary

Since the rapid global population growth (estimated 9 billion people in 2050), mankind faces enormous challenges of food and fuel supplies, environment pollution, etc. Moreover, the global climate changes make the situation worse. In this situation, gaining knowledge on terrestrial as well as aquatic plants will decidedly influence the context of agricultural technology and production, which eventually leads to new modern and sustainable agriculture. In this paper, the authors have reviewed the current advances in application and basic research of duckweed as an aquatic crop in order to facilitate the involvement of Vietnamese biologists in international emerging efforts.

Keywords: animal feed, biofuel, duckweed, water treatment.

Classification number 1.6

Mở đầu

Bèo tấm là cây một lá mầm có kích thước nhỏ nhưng tốc độ sinh trưởng nhanh nhất trong các loài thực vật có hoa. Cùng với tốc độ tăng sinh khối cao, sinh khối từ bèo tấm có chứa hàm lượng protein cao là nguồn thức ăn quan trọng cho vật nuôi. Đặc biệt, bèo tấm được nuôi trồng trên ao hồ trở thành một thành phần trong mô hình vườn - ao - chuồng mà không làm ảnh hưởng đến diện tích đất trồng cây lương thực truyền thống. Ngoài ra, bèo tấm là thực vật thủy sinh ưa thích được sử dụng để làm sạch các nguồn nước thải. Chính vì những đặc điểm khác biệt so với các đối tượng thực vật khác mà bèo tấm ngày càng nhận được sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học ở nhiều quốc gia trên thế giới. Các nghiên cứu không chỉ tập trung vào việc giải mã bộ gen mà còn giải quyết rất nhiều vấn đề khác như nghiên cứu bản chất của quá trình hình thành chồi ngủ (turion), khả năng đáp ứng với điều kiện bất lợi và quan trọng hơn là vai trò của chúng trong sản xuất nhiên liệu sinh học, làm thực phẩm cho con người, thức ăn cho chăn nuôi, xử lý nước thải... Tuy tiềm năng ứng dụng của bèo tấm là rất cao nhưng ở Việt Nam, các nghiên cứu trên đối tượng này còn hạn chế. Do đó, bài viết sẽ cập nhật một số hướng nghiên cứu về bèo tấm trên thế giới cũng như tiềm năng nghiên cứu và ứng dụng ở Việt Nam.

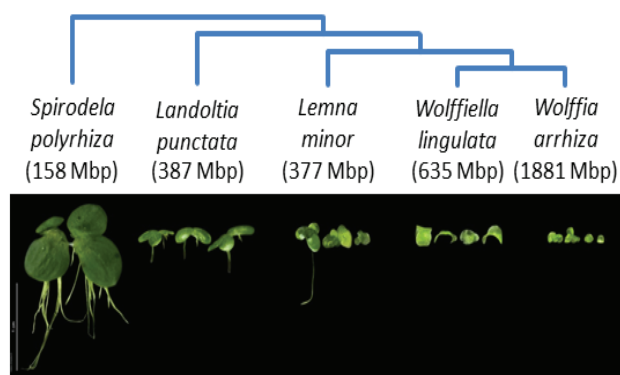
Đặc điểm sinh học của bèo tấm

Bèo tấm là nhóm thực vật một lá mầm thủy sinh

*Tác giả chính: cao@ipk-gatersleben.de

có phổ phân bố rất rộng cùng với tốc độ sinh trưởng nhanh, có tiềm năng kinh tế cao và được quan tâm trong các nghiên cứu cơ bản. Hiện nay, phân họ Bèo tấm (Lemnoideae) có 37 loài thuộc 5 chi: Spirodela, Landoltia, Lemna, Wolffia và Wolffia [1].

Kích thước bộ gen của các loài rất khác biệt, từ khoảng 150 Mbp ở *Spirodela polyrrhiza* đến 1881 Mbp ở *Wolffia arrhiza* (hình 1). Bèo tấm có cấu trúc cơ thể vô cùng đơn giản gồm lá, thân có độ phân hóa thấp và rễ (Spirodela, Landoltia, Lemna) hoặc không có rễ (Wolffia và Wolffia) [1]. Bên cạnh sự khác nhau về kích thước hệ gen, số lượng bộ nhiễm sắc thể (NST) của các loài bèo tấm cũng rất thay đổi, đa số các loài có bộ NST $2n = 40$ (số lượng NST của các loài dao động trong khoảng 20-126) [2, 3].



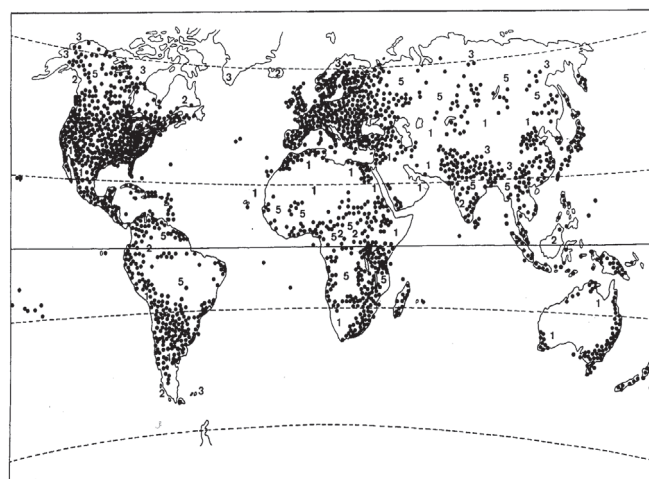
Hình 1: các loài đại diện của 5 chi bèo tấm với kích thước hệ gen tương ứng

(sửa đổi từ nguồn: Cao và cs, 2015)

Sự phân bố địa lý của bèo tấm được thể hiện qua kết quả nghiên cứu của Landolt vào năm 1986 (hình 2). Dễ dàng thấy rằng, từ cách đây 30 năm, các nhà khoa học đã phát hiện ra sự có mặt của bèo tấm ở tất cả các châu lục, trừ các địa cực. Đặc điểm đó thể hiện khả năng thích nghi của bèo tấm với các vùng khí hậu khác nhau, từ vùng lạnh nguyên của Siberia cho đến rừng mưa nhiệt đới Amazon mà không có sự sai khác đáng kể về kiểu hình [4, 5].

Bèo tấm phân bố trên khắp thế giới nhưng phổ biến và đa dạng nhất là ở các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới. Còn ở các vùng ôn đới và hàn đới thì chúng chủ yếu phát triển mạnh trong các tháng hè. Bèo tấm thường xuất hiện ở các khu vực nước đọng hoặc có dòng chảy chậm. Sự tăng trưởng nhanh thường được ghi nhận ở các ao hồ nhỏ, đầm lầy vì đây là những khu vực có nguồn dinh dưỡng dồi dào. Đặc biệt là ở khu vực có cá sấu sinh sống thì tốc độ tăng trưởng

của bèo tấm là cực đại. Một vài loài cũng tồn tại trong môi trường nước nhiễm mặn (tối đa 2,5% NaCl đối với *Lemna minor*), tuy nhiên chúng không tích lũy ion Na^+ trong quá trình sinh trưởng [6].



Hình 2: bản đồ phân bố địa lý của bèo tấm năm 1986

Chú thích: •: khu vực có bèo tấm; 1, 2, 3, 5: khu vực không có bèo tấm (1: quá khô; 2: quá ẩm; 3: quá lạnh; 5: chưa được khảo sát)

(nguồn: Landolt, 1986)

Ở điều kiện sinh trưởng tối ưu (về nhiệt độ nước, pH, ánh sáng, nguồn dinh dưỡng), bèo tấm có thể tăng gấp đôi sinh khối trong vòng 16-24 giờ. Theo tính toán lý thuyết, với tốc độ sinh trưởng như vậy thì chỉ sau 50 ngày, bèo tấm có thể mọc kín 1 ha nuôi trồng với lượng ban đầu chỉ 10 cm^2 và sau 60 ngày thì sẽ phủ kín toàn bộ diện tích 32 ha [6].

Vai trò của bèo tấm trong các nghiên cứu sinh học thực vật

“Quái vật của Darwin” (Darwinian Demon) là thuật ngữ được dùng để nói đến những sinh vật có khả năng sinh sản gần như là ngay lập tức sau khi được sinh ra, có trạng thái sinh lý khỏe mạnh nhất và được xem như là trường sinh. Sử dụng các phương pháp phân tích định lượng để nghiên cứu trên *S. polyrrhiza*, các nhà khoa học đã chứng minh rằng bèo tấm là loài thực vật hạt kín có tốc độ sinh trưởng nhanh nhất so với tỷ lệ cơ thể. Vì vậy, bèo tấm được dùng để minh họa cho khái niệm “Quái vật của Darwin” [7].

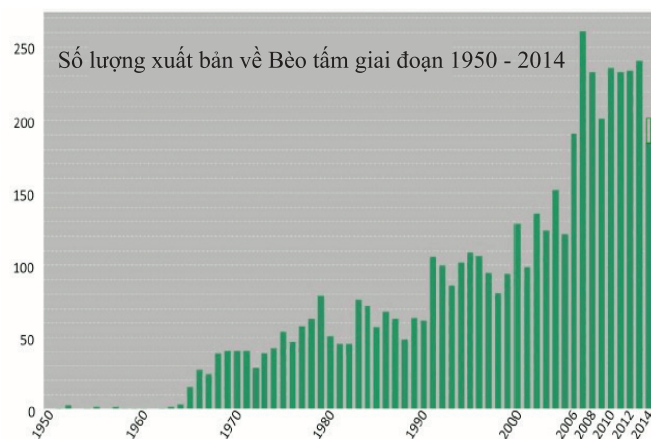
Cách đây 40 năm, William Hillman đã có một bài bình luận rất thuyết phục về việc sử dụng bèo tấm - đối tượng thực vật thuộc họ Lemnaceae làm cây mô hình

cho các nghiên cứu về sinh học thực vật. Chu kỳ sinh trưởng nhanh, kích thước cơ thể nhỏ, cấu trúc đơn giản và việc dễ dàng đánh dấu phóng xạ trên toàn bộ cơ thể là những ưu điểm vượt trội của bèo tấm so với các đối tượng thực vật khác. Vì vậy, dựa trên các luận điểm của Hillman, bèo tấm đã được sử dụng rất rộng rãi trong nghiên cứu sinh học thực vật và đã giúp các nhà khoa học khám phá ra quá trình sinh tổng hợp auxin cũng như con đường đồng hóa sulfur từ thập niên 60 đến 80 của thế kỷ XX [4].

Tuy trên thực tế, bèo tấm là đối tượng được thực hiện nhân dòng gen đầu tiên nhưng những khó khăn trong việc thiết lập các nghiên cứu về toàn bộ thông tin di truyền cũng như sự tương quan không rõ ràng giữa bèo tấm với các đối tượng nông nghiệp truyền thống khác là nguyên nhân chính làm giảm sự quan tâm của các nhà nghiên cứu cũng như các quỹ tài trợ khác đối với loài này. Vì thế, trong vòng 30 năm trở lại đây, các đối tượng cây mô hình mới như *Arabidopsis*, ngô và lúa được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu về thực vật, trong khi bèo tấm chỉ được dùng trong một vài nghiên cứu về môi trường [4].

Tuy nhiên, trong thập kỷ vừa qua, vấn đề phát triển nông nghiệp bền vững là một yêu cầu cấp thiết để hạn chế những tác động của sự biến đổi khí hậu cũng như cung cấp các nguồn thức ăn chăn nuôi mới. Và một lần nữa, bèo tấm lại được quan tâm đến như một đối tượng thực vật mô hình vì các điểm khác biệt của nó so với các đối tượng thực vật khác. Nó có thể được sử dụng để xử lý nước thải, cung cấp nguồn nguyên liệu mới cho sản xuất nhiên liệu và khí đốt sinh học với rất ít yêu cầu về đất trồng [4]. Hiện nay, các nhà khoa học tập trung nghiên cứu về những đặc tính sinh lý học quan trọng của bèo tấm để đưa nó trở lại vị trí cây mô hình, vị trí mà nó đã mất đi trong thời kỳ phát triển mạnh của *Arabidopsis* [8].

Có thể dễ dàng nhận thấy rằng, giai đoạn từ 2006 đến nay được xem như thời kỳ hoàng kim của bèo tấm khi số lượng các công trình khoa học liên quan gia tăng một cách nhanh chóng (hình 3). Các lĩnh vực nghiên cứu khác nhau về bèo tấm đang được thực hiện gồm có: nghiên cứu cơ bản, độc tố sinh thái học (xử lý nước thải và kim loại nặng), sinh lý học, sinh hóa học. Mỹ, Đức và Nhật là 3 quốc gia đứng đầu về số lượng các xuất bản trong giai đoạn 1950-2014 [9].



Hình 3: biểu đồ thể hiện số lượng các công trình khoa học liên quan đến bèo tấm được thống kê bởi ISI Web of Science

(nguồn: ISCDRA vol 3, part 1, 2015)

Các hướng nghiên cứu ứng dụng của bèo tấm

Nguồn nhiên liệu sinh học

Do tốc độ gia tăng dân số cũng như sự phát triển của các khu công nghiệp lớn nên nhu cầu về năng lượng trên toàn thế giới tăng rất nhanh. Dầu thô và khí tự nhiên (nhiên liệu hóa thạch), nguồn nhiên liệu chính hiện nay với trữ lượng có hạn, sẽ cạn kiệt trong tương lai không xa. Để đáp ứng cho nhu cầu nhiên liệu ngày càng tăng cao thì việc tìm ra nguồn nhiên liệu mới để thay thế là vô cùng cấp bách. Ethanol, butanol và biogas là những nguồn nhiên liệu mới, có khả năng tái sinh sẽ dần thay thế dầu thô và khí tự nhiên. Trong vòng 10 năm qua, sản lượng bioethanol đã tăng rất nhanh và đạt 85,2 triệu lít trong năm 2012. Nguồn nguyên liệu để sản xuất bioethanol rất đa dạng như hạt ngô (ở Mỹ), củ cải đường (ở Brazil, Ấn Độ), khoai lang, khoai mì... Tuy nhiên, đây không phải là những nguồn nguyên liệu tối ưu vì tốn diện tích đất canh tác, gây ra các ảnh hưởng đối với môi trường (hiện tượng xói mòn đất) cũng như đây đang là những loại cây lương thực chính cho người và gia súc [10].

Với những ưu điểm của mình (thực vật thủy sinh, tốc độ sinh trưởng nhanh, có thể phát triển được trong môi trường nước ô nhiễm, khả năng hấp thụ N, P cao, hàm lượng tinh bột nhiều...), bèo tấm là một lựa chọn tiềm năng làm nguồn nguyên liệu thay thế để sản xuất nhiên liệu sinh học. Dưới đây là một số nghiên cứu về khả năng ứng dụng của bèo tấm trong sản xuất nhiên liệu sinh học:

Sử dụng bèo tấm để sản xuất bioethanol và biobutanol: bèo tấm rất dễ nuôi trồng, chỉ chứa một

lượng rất nhỏ lignin, trong khi đó lại tích lũy các thành phần cao năng lượng khác trong phần tinh bột dễ lên men (chiếm 40-70% tổng sinh khối) [11].

Có nhiều nghiên cứu tập trung vào việc gia tăng hàm lượng tinh bột trong bèo tấm dùng cho sản xuất nhiên liệu sinh học. Có hai quá trình tác động tới sự tích lũy tinh bột trong sinh khối bèo tấm, đó là quá trình quang hợp để hình thành tinh bột và sự tiêu hao tinh bột trong các quá trình trao đổi chất. Với các kỹ thuật nuôi trồng bèo tấm hiện nay, hàm lượng tinh bột được tổng hợp nhờ quá trình quang hợp là rất lớn, vì thế các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào việc hạn chế các quá trình phân giải tinh bột [10]. Các nghiên cứu chính bao gồm: (1) Sự thiếu hụt P, K và N là nguyên nhân làm giảm quá trình dị hóa, từ đó gia tăng hàm lượng tinh bột tích lũy trong cây. Năm 2009, Cheng và Stomp đã nghiên cứu và thấy rằng khi cấy chuyển bèo tấm từ môi trường giàu dinh dưỡng sang môi trường chỉ có nước máy thì hàm lượng tinh bột tích lũy trong *S. polyrhiza* tăng lên từ 20-45,8% sau 5 ngày [12]; (2) Năm 2011, Cui và cộng sự đã công bố điều kiện nhiệt độ thấp và thời gian chiếu sáng kéo dài sẽ gia tăng sự tích lũy tinh bột ở *S. polyrhiza* [13]. Cụ thể, khi nhiệt độ ban ngày không thay đổi thì nhiệt độ thấp vào ban đêm sẽ kích thích sự tích lũy tinh bột. Ngược lại, hàm lượng tinh bột không khác biệt trong điều kiện thay đổi nhiệt độ ban ngày và giữ nguyên nhiệt độ ban đêm; (3) Năm 1976, McLaren và Smith đã nghiên cứu và thấy rằng: sau 6 ngày nuôi cấy *L. minor* trong môi trường có mặt 10^{-6} M ABA thì trọng lượng tươi giảm 60% nhưng sinh khối khô tăng 220% và tinh bột trong sinh khối khô tăng gần 500% [14].

Đặc biệt thú vị, Su và cộng sự đã chỉ ra rằng bèo tấm là một cơ chất có tiềm năng trong quá trình lên men vì dưới tác động của nấm men chúng không những được chuyển hóa thành ethanol mà còn tạo ra các alcohol cao năng lượng khác để sản xuất nhiên liệu sinh học [15].

Bên cạnh đó, việc thử nghiệm sản xuất sinh khối trên quy mô lớn cũng đã được thực hiện. Năm 2011, Xu và cs đã xây dựng hệ thống nuôi và thu sinh khối bèo tấm đầu tiên để sản xuất ethanol tại North Carolina, Mỹ. Năm 2012, Farrell đã nuôi bèo tấm trong một đầm (phá) rộng 23 ha và thấy rằng trong điều kiện thiếu dinh dưỡng thì hàm lượng tinh bột gia tăng từ >10% lên đến trung bình 19%. Các yếu tố chính cần quan tâm khi nuôi trồng là: mật độ bèo, thời gian thu hoạch và bổ

sung dinh dưỡng [13].

Sử dụng bèo tấm để sản xuất khí sinh học (biogas): sử dụng quá trình lên men kỵ khí các chất thải nông nghiệp và chăn nuôi để sản xuất khí sinh học đã được nghiên cứu từ nhiều năm nay. Clack đã thấy rằng bổ sung thêm bèo tấm trong giá thể lên men đã làm gia tăng đáng kể lượng khí sinh học tạo ra (hơn 44% so với đối chứng) [16]. Triscari và cộng sự cho thấy chỉ cần bổ sung 0,5-2,0% bèo tấm thì tổng lượng khí sinh học và methanol gia tăng rất lớn, nhưng nếu bổ sung hơn 2% thì sự gia tăng không còn tiếp tục. Nghiên cứu tiếp theo của Huang và cộng sự cũng tiếp tục khẳng định vai trò của bèo tấm trong quá trình lên men tạo biogas [17]. Trong nghiên cứu của mình, Cu đã tiến hành đề tài khảo sát sự hình thành biogas từ các nguồn nguyên liệu phổ biến tại Việt Nam: phân gia súc, chất thải lò mổ, phế phụ phẩm nông nghiệp... Kết quả nghiên cứu cho thấy, *S. polyrhiza* cho hàm lượng CH_4 (340 l/kg) cao hơn so với cỏ (220 l/kg) và rau muống (110,6 l/kg) [18].

Xử lý nước thải

Nước là một nguồn tài nguyên thiên nhiên có hạn, trong khi đó nhu cầu về nước phục vụ cho con người và sản xuất nông nghiệp ngày càng tăng. Bên cạnh đó, việc sử dụng quá mức phân bón và thuốc bảo vệ thực vật trong sản xuất nông nghiệp đã dẫn đến tình trạng ô nhiễm nguồn nước ngầm [6]. Thực trạng thiếu hụt nguồn nước sạch sinh hoạt đã và đang trực tiếp ảnh hưởng đến hơn 1 tỷ người trên toàn thế giới. Việc sử dụng một số loài thực vật thủy sinh có khả năng hấp thụ và chuyển hóa các chất trong nước thải được xem như là liệu pháp sinh học có nhiều hứa hẹn để giải quyết vấn đề ô nhiễm nước thải và tái sử dụng nguồn nước này [19].

Do có khả năng sinh trưởng trong môi trường nước thiếu oxy và hấp thụ các chất dinh dưỡng cần thiết như PO_4^{3-} và NO_3^- nên bèo tấm được sử dụng có hiệu quả cho việc xử lý nước thải. Vì thế, đây là loài thực vật được sử dụng trong các phương pháp phân tích sinh học để đánh giá chất lượng nước, để xử lý các loại nước thải bị nhiễm kim loại nặng [8].

Việc tích tụ các kim loại nặng là một vấn đề đáng quan tâm trong xử lý nước thải. Tất cả các loài bèo tấm đều có khả năng hấp thụ và tích lũy trong cơ thể một hàm lượng rất cao các kim loại nặng như Cd, Cr, Pb... Vì thế, chúng có tiềm năng to lớn trong việc sử dụng

để xử lý các nguồn nước thải hoặc các khu vực bị ô nhiễm bởi kim loại nặng như công nghệ thuộc da, hầm mỏ... để hạn chế tối đa sự có mặt của các kim loại này trong chuỗi thức ăn. Theo nhiều công bố thì bèo tấm có khả năng hấp thụ được Cd, N, Cr, Zn, Sr, Co, Fe, Mn, Cu, Pb, Al và thậm chí là Au [6]. Khả năng hấp thụ Fe của *L. minor* đã mở ra triển vọng cho việc sử dụng bèo tấm để giải quyết hiện tượng nước nhiễm Fe ở những khu vực mỏ than bỏ hoang [20]. Bên cạnh đó, loài này còn có khả năng hấp thụ Bo [21], As [22], Cd [23], Cu và Si [24]. *L. gibba* cũng là loài phù hợp để sử dụng trong xử lý nước thải sinh hoạt, đồng thời chúng còn có hàm lượng protein và carbohydrate cao, phù hợp cho sản xuất nhiên liệu sinh học [25].

Zhao và cộng sự (2015) đã so sánh tiềm năng ứng dụng của 4 dòng bèo tấm thuộc 4 chi khác nhau để xử lý nước thải trong các pilot thử nghiệm trong vòng hơn 1 năm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các dòng bèo tấm có những ưu điểm riêng rất khác biệt: (a) *Lemna japonica* 0223 và *Landoltia punctata* 0224 sinh trưởng quanh năm, trong khi *S. polyrhiza* 0225 và *Wolffia globosa* 0222 lại không sống sót trong điều kiện lạnh; (b) *L. japonica* 0223 có sinh khối khô, hàm lượng protein thô, amino acid tổng số và photpho là cao nhất, khả năng tích lũy N và P tổng số cũng rất cao; (c) Trong điều kiện nghèo dinh dưỡng thì *L. punctata* 0224 có hàm lượng tinh bột, sinh khối khô và khả năng tích lũy tinh bột là cao nhất; (d) *S. polyrhiza* 0225 và *W. globosa* 0222 có tỷ lệ và hàm lượng flavonoid tổng số cao. Vì thế, dựa trên kết quả của nghiên cứu này, có thể lựa chọn các dòng bèo tấm phù hợp cho mục đích sản xuất. Ví dụ: *L. japonica* 0223 là dòng có khả năng xử lý nước thải và sản xuất sinh khối tốt nhất, trong khi *L. punctata* 0224 lại là đối tượng thích hợp để sản xuất tinh bột [26].

Nguồn thực phẩm cho con người và thức ăn chăn nuôi

Dân số thế giới tăng gần gấp đôi trong giai đoạn 1950-2000 (từ 2,7 lên 6 tỷ người) nhưng nhu cầu về thịt lại tăng gấp 5 lần (từ 45 triệu tấn lên 233 triệu tấn/năm). Tổ chức lương thực và nông nghiệp thế giới (FAO) dự đoán rằng khi dân số tăng lên 9 tỷ người thì sản lượng thịt phải đạt 410 triệu tấn/năm. Trong khi đó, nguồn protein từ thịt chỉ mới đáp ứng được 40% nhu cầu về protein hàng ngày của con người. Do vậy, vấn đề đảm bảo nguồn thực phẩm đáp ứng cho nhu cầu của con người là một vấn đề vô cùng cấp bách [27].

Nguồn cung cấp protein động vật truyền thống chính cho con người là thịt, cá, trứng, sữa và protein thực vật chủ yếu là đậu nành, lúa mì, khoai tây, rau xanh... Tuy nhiên, ngày nay nhiều nguồn cung cấp protein khác cũng được chú ý đến như côn trùng (đề hay một số loài ấu trùng), tảo và vi tảo (*Spirulina*, *Arthrospira*...), rong biển (*Ulva*, *Monostroma*, *Laminaria*...), cải dầu và bèo tấm... [8, 27]. Trên khắp thế giới, đặc biệt là ở châu Á, người dân thường thu hoạch các thực vật thủy sinh tự nhiên như rau diếp biển (*Pistia*), bèo tây (*Eichhornia*), bèo dâu (*Azolla*) và bèo tấm (*Lemna*) để làm thức ăn chăn nuôi, phân chuồng và cả thực phẩm cho con người [6, 28, 29]. Bèo tấm tích lũy một lượng rất lớn protein (từ 6,8-45% trọng lượng khô, tùy theo loài) và gần như tương đương với đậu tương [30]. Các nhóm hoạt chất sinh học và tiềm năng làm dược liệu của *L. minor* cũng đã được khảo sát [31].

Vì có hàm lượng N, P, K cũng như một số chất khoáng và protein cao, bèo tấm được nuôi trồng để cung cấp nguồn dinh dưỡng quan trọng trong khẩu phần ăn của lợn, cá và gia cầm [6]. Các thử nghiệm cho thấy, bèo tấm có thể được sử dụng thay thế cho đậu nành và cá trong khẩu phần ăn của cả gà trống, gà mái và gà con [32]. Gà mái sử dụng 40% bèo tấm trong khẩu phần hàng ngày cho trứng nhiều hơn, với chất lượng tốt hơn. Việc đảm bảo chất lượng nguồn nước trong nuôi trồng bèo tấm cho mục đích làm thức ăn chăn nuôi là một yếu tố vô cùng quan trọng. Các yếu tố gây độc (Cd, Se, Ni, Pb...) cần phải kiểm soát để tránh đi vào chuỗi thức ăn và làm ảnh hưởng đến sự phát triển của vật nuôi [27].

Tình hình nghiên cứu khoa học cơ bản trên bèo tấm

Tiến hóa và thông tin di truyền

Họ Ráy (Araceae) gồm có 117 chi và 3790 loài được xem là một trong những họ thực vật cổ xưa nhất của cây hạt kín. Về mặt sinh thái học, các thành viên của họ thực vật này rất đa dạng (từ loài thủy sinh sống trôi nổi như *Pistia* và *Lemna* cho đến các loài thực vật biểu sinh nhiệt đới). Phân họ Lemnoideae (phân họ bèo tấm) đã xuất hiện từ Kỷ Phấn trắng (cách đây 106,3 triệu năm). Trong số các phân họ của họ Ráy thì phân họ Gymnostachydoideae (chỉ có 1 loài) và phân họ Orontioideae (với 7 loài) có hệ gen cổ đại nhất và tiếp theo là phân họ Lemnoideae với 5 chi và 37 loài [33]. Việc sử dụng thuật ngữ họ bèo tấm (*Lemnaceae*) thay cho phân họ bèo tấm (*Lemnoideae*) đang được

thảo luận vì một số nhà khoa học cho rằng nên tách bèo tấm thành một họ mới thay vì là một phân họ của họ Ráy. Tuy nhiên, cuộc tranh luận vẫn chưa đến hồi kết và hiện nay vẫn tồn tại 2 trường phái khác nhau là Lemnaceae và Lemnoideae [8].

Các công trình nghiên cứu của Elias Landolt (Zurich, Thụy Sĩ) trên bèo tấm trong vòng 50 năm qua đã giúp đặt một nền tảng cơ bản cho các vấn đề liên quan đến bèo tấm. Hai cuốn sách chuyên khảo về họ bèo tấm (Lemnaceae) của Landolt là một bộ sưu tập những hiểu biết bao gồm đa dạng sinh học, di truyền học, đặc điểm thích nghi, và cả các nghiên cứu về sinh lý và phát triển. Có đến hơn 3500 công trình nghiên cứu đã trích dẫn hai cuốn sách chuyên khảo này [8].

Bèo tấm được biết đến như là loài có tốc độ sinh trưởng nhanh nhất trong nhóm thực vật có hoa. Tuy nhiên điều thú vị là mỗi dòng địa lý trong một loài có thể có tốc độ sinh trưởng khác nhau [8]. Điều này nhấn mạnh sự cần thiết của việc tìm kiếm và sàng lọc các dòng địa lý thích hợp cho mỗi một ứng dụng công nghiệp của bèo tấm. Đã có nhiều nghiên cứu khoa học cơ bản trên bèo tấm được tiến hành như giải trình tự gen, định danh loài, sử dụng sinh học phân tử [34, 35]... Một số điểm mốc đáng chú ý của nghiên cứu cơ bản trên bèo tấm được tóm tắt trong bảng 1.

Bảng 1: những mốc quan trọng trong nghiên cứu cơ bản trên bèo tấm

STT	Năm	Tác giả	Nội dung	Kết quả
1	1986, 1987	Landolt và cs	Chuyên khảo về Họ Bèo tấm	Tổng hợp các nghiên cứu liên quan đến đa dạng sinh học, di truyền học và đặc điểm thích nghi của bèo tấm [2, 5]
2	2001	Yamamoto và cs	Thiết lập hệ thống chuyển gen trên bèo tấm	Cung cấp những hiểu biết cơ bản về thực hiện các thao tác di truyền đối với bèo tấm [36]
3	2008	Cabrera và cs	Mối quan hệ phân loại giữa bèo tấm và các thành viên họ Ráy	Khẳng định vị trí phân loại của bèo tấm trong họ Ráy dựa trên các trình tự ADN lục lạp [37]
4	2011	Wang và cs	Khảo sát kích thước hệ gen của bèo tấm	Xác định kích thước hệ gen của nhiều dòng địa lý ở các chi thuộc bèo tấm [3]
5	2014	Wang và cs	Giải mã bộ gen của <i>S. polyrrhiza</i>	Cung cấp các thông tin về hệ gen <i>S. polyrrhiza</i> như là loài chuẩn cho các nghiên cứu bèo tấm [38]
6	2015	Cao và cs	Mô tả các chỉ thị epigenetics trên nhiễm sắc thể của bèo tấm	Bèo tấm có hình thức tổ chức các vùng hoạt động và không hoạt động trên nhiễm sắc thể đặc biệt không phụ thuộc kích thước hệ gen [1]
7	2015	Canto-Pastor và cs	Hoàn thiện phương pháp chuyển gen vào bèo tấm	Phương pháp chuyển gen nhanh và hiệu quả thông qua <i>Agrobacterium tumefaciens</i> [39]

Đáp ứng với điều kiện sinh lý bất lợi và sự hình thành chồi ngủ (Turion)

Một trong những chiến thuật mà bèo tấm sử dụng để tồn tại trong điều kiện khắc nghiệt, ví dụ thời tiết lạnh của mùa đông, là nhờ vào sự hình thành các chồi ngủ. Đây là các cấu trúc sinh dưỡng lâu năm và có thể tồn tại trong các điều kiện sinh trưởng bất lợi vì thế nó đóng vai trò rất quan trọng trong cách thức sinh tồn của bèo tấm. Tế bào của chồi ngủ có chứa nhiều hạt tinh bột và không có khí khổng, nên các chồi ngủ chìm xuống đáy, nằm yên trong bùn và chỉ tiếp tục sinh trưởng khi gặp điều kiện thuận lợi. Appenroth và nhóm nghiên cứu thuộc Đại học Jena, Đức đã tìm ra các locus di truyền số lượng (Quantitative trait loci - QTLs) chịu trách nhiệm trong việc hình thành turion trên *S. polyrrhiza* [40]. Các nghiên cứu về ảnh hưởng của các yếu tố vật lý, hóa học khác nhau đến sự hình thành turion đã và đang được thực hiện [41, 42].

Bèo tấm còn được sử dụng để khảo sát khả năng đáp ứng của thực vật đối với các điều kiện sinh lý bất lợi. Ví dụ như (a) Ảnh hưởng của U và Ca lên phản ứng stress oxy hóa trên *L. minor*; (b) Ảnh hưởng của bức xạ UV lên *L. punctata* (thường gọi là *Spirodela oligorrhiza*); (c) Sử dụng *L. minor* và *Gammarus pulex* (L.) để khảo sát sự vận chuyển kẽm trong chuỗi thức ăn. Đặc biệt, do tính chịu hạn rất cao mà *L. minuta* có thể tồn tại được đủ lâu trong lòng của vệt trời, nhờ đó bèo tấm có thể phát tán qua các vùng địa lý [8].

Nhu cầu dinh dưỡng

Bèo tấm cũng cần năng lượng mặt trời và một số chất khoáng để thực hiện quá trình sinh tổng hợp như các đối tượng thực vật khác. Tuy nhiên, nếu trong môi trường có chứa đường hoặc tinh bột thì bèo tấm có thể sinh trưởng được mà không cần ánh sáng mặt trời (trong trường hợp sử dụng bèo tấm để xử lý nước thải của các cơ sở sản xuất đường hoặc tinh bột...). Theo công bố của Zhang và cộng sự (2014) thì tốc độ sinh trưởng của *L. minor* là 0,22-0,26 ngày và không phụ thuộc vào nồng độ N tổng số trong môi trường nuôi cấy [43]. Một số yếu tố chính ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của bèo tấm: (a) Nhiệt độ nước: trong khoảng từ 6-33°C, nhiệt độ tối thích là 30°C; (b) pH nước: giá trị pH nước phù hợp nhất là 6,5-7 nhưng có thể tồn tại được ở pH 5-9; (c) Nồng độ khoáng: bèo tấm cũng cần dinh dưỡng và chất khoáng để sinh trưởng phát triển, tuy nhiên ở môi trường có nồng độ khoáng và chất dinh dưỡng cao thì bèo tấm

lại sinh trưởng chậm hơn so với những vùng nước có hàm lượng khoáng thấp; (d) Độ sâu của nước: ở điều kiện thời tiết ẩm thì độ sâu của nước không ảnh hưởng nhiều đến sự sinh trưởng và phát triển của bèo tấm. Tuy nhiên đây lại là vấn đề lớn ở những vùng có khí hậu nóng hoặc lạnh, vì nhiệt độ nước sẽ biến động rất lớn và không giữ được ở khoảng nhiệt độ tối thích. Bên cạnh đó, độ sâu của nước còn ảnh hưởng đến cả việc thu hoạch. Trên thực tế, độ sâu của vùng nước nuôi trồng bèo tấm cần phải được tính toán kỹ lưỡng hơn so với yếu tố hàm lượng dinh dưỡng, pH nước, đồng thời việc thu hoạch có thể được điều chỉnh tùy thuộc vào tốc độ sinh trưởng, sự thay đổi khí hậu và dòng dinh dưỡng trong hệ thống [6].

Tình hình nghiên cứu bèo tấm ở Việt Nam

Là một nước nhiệt đới, Việt Nam thích hợp cho các hoạt động nghiên cứu và nuôi trồng bèo tấm. Có 3 loài bèo tấm thuộc 3 chi khác nhau đã được tìm thấy ở Việt Nam đó là: *Lemna aequinoctialis*, *S. polyrrhiza*, *Wolffia globosa* và chúng phân bố nhiều ở hai đồng bằng Bắc Bộ và Nam Bộ [44]. Trong bộ lưu trữ bèo tấm quốc tế RDSC (tại Đại học Rutgers, Hoa Kỳ; <http://www.ruduckweed.org/database.html>), hiện có 18 dòng bèo tấm đến từ Việt Nam thuộc các loài *S. polyrrhiza*, *L. punctata*, *L. aequinoctialis* và *Lemna tenera*. Một số dòng bèo tấm của Việt Nam đã được khảo sát trong các công trình của các nhóm nghiên cứu đến từ Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn Độ, CHLB Đức.

Việc nuôi trồng bèo tấm ở Việt Nam thường được thực hiện ở quy mô gia đình. Phân của vật nuôi được thu nhận trong một cái bể nhỏ, sau đó lượng nước chảy ra từ bể này được đưa vào trong 1 bể lớn hơn, tại bể này người dân nuôi 1 lớp mỏng bèo tấm ở trên mặt. Bèo được thu hoạch hàng ngày và trộn với phế phụ phẩm nông nghiệp để làm thức ăn cho vịt [6].

Việc sử dụng bèo tấm làm đối tượng nghiên cứu tại Việt Nam còn chưa thu được nhiều sự quan tâm. Đa phần các nghiên cứu tập trung vào những ứng dụng bèo tấm trong sản xuất nông nghiệp. Ví dụ, khi sử dụng bèo tấm trong khẩu phần ăn của vịt thịt và vịt sinh sản thì mức tăng trọng của vịt thịt, tỷ lệ đẻ và tỷ lệ trứng có phôi của vịt sinh sản đều tương đương với vịt được bổ sung bột đậu nành và bột cá [45].

Nghiên cứu sinh học phân tử trên bèo tấm ở Việt Nam phải kể đến các nghiên cứu thuộc đề tài “Nghiên cứu tạo giống bèo tấm mang gen kháng nguyên H5N1

phòng chống bệnh cúm ở gia cầm” của PGS.TS Lê Huy Hàm (Viện Di truyền nông nghiệp). Các yếu tố điều khiển biểu hiện gen ubiquitin từ hai loài bèo tấm *L. aequinoctialis* DB1 và *S. polyrrhiza* DB2 đã được phân lập [44]. Vũ Văn Tiến và cộng sự đã xây dựng thành công quy trình nuôi cấy callus của *L. aequinoctialis*, đồng thời khảo sát khả năng sử dụng *Agrobacterium* để thực hiện chuyển gen vào đối tượng này [46]. Một số kết quả có tiềm năng ứng dụng để sản xuất vaccine phòng cúm từ bèo tấm cũng đã được công bố [47].

Kết luận

Với những đặc điểm sinh học thú vị và tiềm năng ứng dụng rộng rãi, bèo tấm ngày càng được các nhà khoa học ở nhiều quốc gia trên thế giới quan tâm nghiên cứu. Ưu điểm lớn nhất của bèo tấm là tốc độ sản xuất sinh khối nhanh và không ảnh hưởng đến nguồn đất nông nghiệp của các cây lương thực truyền thống. Những nghiên cứu cơ bản về mặt sinh lý, di truyền và tế bào cho thấy vai trò quan trọng của việc thu thập, khảo sát và sàng lọc các dòng bèo tấm ở các vùng địa lý, khí hậu khác nhau. Việt Nam có nhiều lợi thế về mặt khí hậu, địa hình ao hồ cũng như kinh nghiệm nuôi trồng, ứng dụng bèo tấm để thúc đẩy bèo tấm trở thành cây lương thực thủy sinh quan trọng trong nền kinh tế nông nghiệp hiện đại. Các khảo sát về tiềm năng đa dạng sinh học bèo tấm ở Việt Nam cần được ưu tiên tiến hành đồng thời với việc tổ chức phân loại, lưu trữ và đăng ký quốc tế các dòng bèo địa lý này. Đây sẽ là nền tảng cơ bản cho nghiên cứu và ứng dụng của bèo tấm ở Việt Nam cũng như thế giới.

Lời cảm ơn

Các tác giả chân thành cảm ơn PGS.TS Nông Văn Hải, TS Lê Thị Thu Hiền (Viện Nghiên cứu hệ gen) và TS Trần Thị Phương Liên (Viện Công nghệ sinh học) đã tham gia góp ý bản thảo.

Tài liệu tham khảo

- [1] Cao H.X, Vu G.T.H, Wang W, Messing J, Schubert I (2015), “Chromatin organisation in duckweed interphase nuclei in relation to the nuclear DNA content”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17**, 120-124.
- [2] Landolt E (1987), *The family of Lemnaceae - a monographic study*, **Vols.2**: Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Stiftung Rubel.
- [3] Wang W, Kerstetter R.A and Michael T.P (2011), “Evolution of genome size in duckweeds (Lemnaceae)”, *J Bot*, **2011**, 9.
- [4] Lam E, Appenroth K.J, Michael T, Mori K, Fakhoorian T (2014), “Duckweed in bloom: the 2nd International Conference on

Duckweed Research and Applications heralds the return of a plant model for plant biology”, *Plant Mol Biol*, **84**, 737-742.

[5] Landolt E (1986), *The family of Lemnaceae - a monographic study*, Vols.1: Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Stiftung Rubel.

[6] FAO (1999), *DUCKWEED: A tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment*, Rome, Italy FAO Publications.

[7] Kutschera U, Niklas K.J (2015), “Darwin-Wallace Demons: survival of the fastest in populations of duckweeds and the evolutionary history of an enigmatic group of angiosperms”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17**, 24-32.

[8] Appenroth K.J Crawford D.J and Les D.H (2015), “After the genome sequencing of duckweed - how to proceed with research on the fastest growing angiosperm?”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17**, 1-4.

[9] ISCDRA (2015), *International Steering Committee on Duckweed Research and Applications*, **3**, part 1- Issue 7.

[10] Cui W, Cheng J.J (2015), “Growing duckweed for biofuel production: a review”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17 Suppl 1**, 16-23.

[11] Wang W and Messing J (2015), “Status of duckweed genomics and transcriptomics”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17 Suppl 1**, 10-15.

[12] Cheng J.J, Stomp A.M (2009), “Growing duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed”, *Clean-Soil Air Water*, **37**, 17-26.

[13] Cui W, Xu J, Cheng J.J, Stomp A.M (2011), “Starch accumulation in duckweed for bioethanol production”, *Biol Eng*, **3**, 187-197.

[14] McLaren J.S, and Smith H (1976), “The effect of abscisic acid on growth, photosynthetic rate and carbohydrate metabolism in *Lemna minor* L”, *New Phytol*, **76**, 11-20.

[15] Su H.F, Zhao Y, Jiang J, Lu Q.L, Li Q, Luo Y et al (2014), “Use of duckweed (*Landoltia punctata*) as a fermentation substrate for the production of higher alcohols as biofuels”, *Energy Fuel*, **28**, 3206-3216.

[16] Clark P.B, Hillman P.F (1996), “Enhancement of anaerobic digestion using duckweed (*Lemna minor*) enriched with iron”, *J Chart Inst Water E*, **10**, 92-95.

[17] Huang W, Zhang D, Xia W (2013), “Anaerobic fermentation of duckweed and swine manure in a plug-flow anaerobic digestion system”, *Chinese J Environ Eng*, **7**, 323-328.

[18] Cu T.T.T, Nguyen T.X, Triolo J.M, Pedersen L, Le V.D, Le P.D, Sommer S.G (2015), “Biogas production from Vietnamese animal manure, plant residues and organic waste: Influence of biomass composition on methane yield”, *Asian-Australas J Anim Sci*, **28**, 280-289.

[19] Muradov N, Taha M, Miranda A.F, Kadali K, Gujar A, Rochfort S. et al (2014), “Dual application of duckweed and azolla plants for wastewater treatment and renewable fuels and petrochemicals production”, *Biotechnol Biofuels*, **7**, 30.

[20] Teixeira S, Vieira M.N, Marques J.E and Pereira R (2014), “Bioremediation of an iron-rich mine effluent by *Lemna minor*”, *Int J Phytoremediat*, **16**, 1228-1240.

[21] Tatar Ş.Y and Öbek E (2014), “Potential of *Lemna gibba* L. and *Lemna minor* L. for accumulation of Boron from secondary

effluents”, *Ecol Eng*, **70**, 332-336.

[22] Goswami C, Majumder A, Misra A.K, Bandyopadhyay K (2014), “Arsenic uptake by *Lemna minor* in hydroponic system”, *Int J Phytoremediat*, **16**, 1221-1227.

[23] Chaudhuri D, Majumder A, Misra A.K, Bandyopadhyay K (2014), “Cadmium removal by *Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza*”, *Int J Phytoremediation*, **16**, 1119-1132.

[24] Rofkar J.R, Dwyer D.F and Bobak D.M (2014), “Uptake and toxicity of arsenic, copper, and silicon in *Azolla caroliniana* and *Lemna minor*”, *Int J Phytoremediation*, **16**, 155-166.

[25] Verma R and Suthar S (2014), “Synchronized urban wastewater treatment and biomass production using duckweed *Lemna gibba* L”, *Ecol Eng*, **64**, 337-343.

[26] Zhao Y, Fang Y, Jin Y, Huang J, Bao S, Fu T, et al (2015), “Pilot-scale comparison of four duckweed strains from different genera for potential application in nutrient recovery from wastewater and valuable biomass production”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17 Suppl 1**, 82-90.

[27] Van der Spiegel M, Noordam M.Y and Van der Fels-Klerx H.J (2013), “Safety of novel protein sources (insects, microalgae, seaweed, duckweed, and rapeseed) and legislative aspects for their application in food and feed production”, *Compr Rev Food Sci F*, **12**, 662-678.

[28] Islam M, Kabir M.S, Khan S.I, Ekramullah M, Nair G.B, Sack R.B, Sack D.A (2004), “Wastewater-grown duckweed may be safely used as fish feed”, *Can J Microbiol*, **50**, 51-56.

[29] Rojas O.J, Liu Y and Stein H.H (2014), “Concentration of metabolizable energy and digestibility of energy, phosphorus, and amino acids in lemna protein concentrate fed to growing pigs”, *J Anim Sci*, **92**, 5222-5229.

[30] Liên T.T.P, Hạnh H.H, Hàm L.H (2013), “Ubiquitin, cấu trúc, chức năng và khả năng sử dụng promoter Ubiquitin trong công nghệ gen thực vật”, *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 403-416.

[31] Vladimirova I.N and Georgiyants V.A (2014), “Biologically active compounds from *Lemna minor* S. F. Gray”, *Pharm Chem J*, **47**, 599-601.

[32] Skillicorn P, Spira W, Journey W (1993), *Duckweed aquaculture - a new aquatic farming system for developing countries*, Washington DC: A World Bank Publication.

[33] Nauheimer L, Metzler D and Renner S.S (2012), “Global history of the ancient monocot family Araceae inferred with models accounting for past continental positions and previous ranges based on fossils”, *New Phytol*, **195**, 938-950.

[34] Borisjuk N, Chu P, Gutierrez R, Zhang H, Acosta K, Friesen N et al (2015), “Assessment, validation and deployment strategy of a two-barcode protocol for facile genotyping of duckweed species”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17**, 42-49.

[35] Xue H, Xiao Y, Jin Y.L, Li X.B, Fang Y, Zhao H et al (2012), “Genetic diversity and geographic differentiation analysis of duckweed using inter-simple sequence repeat markers”, *Mol Biol Rep*, **39**, 547-554.

[36] Yamamoto Y, Rajbhandari N, Lin X, Bergmann B, Nishimura Y and Stomp A.M (2001), “Genetic transformation of duckweed *Lemna gibba* and *Lemna minor*”, *In Vitro Cell Dev Biol*, **37**, 349-353.

- [37] Cabrera L.I, Salazar G.A, Chase M.W, Mayo S.J, Bogner J, Dávila P (2008), “Phylogenetic relationships of aroids and duckweeds (Araceae) inferred from coding and noncoding plastid DNA”, *Am J Bot*, **95**, 1153-1165.
- [38] Wang W, Haberer G, Gundlach H, Glasser C, Nussbaumer T, Luo M.C et al (2014), “The *Spirodela polyrhiza* genome reveals insights into its neotenus reduction fast growth and aquatic lifestyle”, *Nat Commun*, **5**, 3311.
- [39] Cantó-Pastor A, Mollá-Morales A, Ernst E, Dahl W, Zhai J, Yan Y. et al (2015), “Efficient transformation and artificial miRNA gene silencing in *Lemna minor*”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17**, 59-65.
- [40] Kuehdorf K, Jetschke G, Ballani L, Appenroth K.J (2014), “The clonal dependence of turion formation in the duckweed *Spirodela polyrhiza*--an ecogeographical approach”, *Physiol Plant*, **150**, 46-54.
- [41] Appenroth K.J and Nickel G (2010), “Turion formation in *Spirodela polyrhiza*: The environmental signals that induce the developmental process in nature”, *Physiol Plant*, **138**, 312-320.
- [42] Appenroth K.J, Adamec L (2015), “Specific turion yields of different clones of *Spirodela polyrhiza* depend on external phosphate thresholds”, *Plant Biol (Stuttg)*, **17 Suppl 1**, 125-129.
- [43] Zhang K, Chen Y.P, Zhang T.T, Zhao Y, Shen Y, Huang L, et al (2014), “The logistic growth of duckweed (*Lemna minor*) and kinetics of ammonium uptake”, *Environ Technol*, **35**, 562-567.
- [44] Trần T.D (2009), “Nghiên cứu phân lập các yếu tố điều khiển biểu hiện gen ubiquitin từ hai loài bèo tấm *Lemna aequinoctialis* DB1 và *Spirodela polyrhiza* DB2”, *Luận văn thạc sỹ*.
- [45] Bùi X.M (2009), “Đánh giá các kết quả nghiên cứu chăn nuôi kết hợp và sử dụng rau bèo làm thức ăn thay thế để sản xuất vịt ở Đồng bằng sông Cửu Long”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **11**, 228-236.
- [46] Vũ V.T (2007), “Nghiên cứu xây dựng hệ thống tái sinh và chuyển gen ở bèo tấm *Lemna aequinoctialis*”, *Luận văn thạc sỹ*.
- [47] Lê H.H (2011), *Nghiên cứu tạo giống bèo tấm mang gen kháng nguyên H5N1 phòng chống bệnh cúm ở gia cầm*, Chương trình trọng điểm phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực nông nghiệp và phát triển nông thôn đến 2020.