

XÁC ĐỊNH MỨC ĐỘ THAY THẾ PHÂN ĐẠM CỦA VI KHUẨN *PSEUDOMONAS* SP. BT1 VÀ BT2 VỚI CÂY LÚA CAO SẢN TRỒNG TRONG CHẬU

Ngô Thanh Phong¹, Trần Thúy Huỳnh¹, Phan Kim Định¹ và Cao Ngọc Diệp²

ABSTRACT

Pseudomonas sp. BT1 or *Pseudomonas* sp. BT2 strains had replace 25-50%N when they had inoculated on high-yield rice growing in in-pots, affect significantly on the number of shoots and rice weight (harvested in each session compared to controls). The experience of mixing of two strains were more effective than individual treatment of each strain, replacing 50-75%N.

Keywords: 16S rDNA, Burkholderia, nitrogen fixation, Pseudomonas, rice roots

Title: Determining the extent of chemical fertilizers instead of the *Pseudomonas* sp. BT1 and BT2 with high yield rice plants grown in pots

TÓM TẮT

Từng chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 hoặc *Pseudomonas* sp. BT2 có khả năng thay thế từ 25-50%N khi chủng cho cây lúa cao sản trồng trong chậu, ảnh hưởng có ý nghĩa đến số chồi và trọng lượng hạt lúa thu hoạch theo từng buổi lúa so với đối chứng. Các nghiệm thức phối trộn giữa hai chủng vi khuẩn có hiệu quả hơn so với các nghiệm thức riêng lẻ từng chủng vi khuẩn, thay thế được 50-75%N.

Từ khóa: 16S rDNA, Burkholderia, cố định đạm, rễ lúa, *Pseudomonas*

1 MỞ ĐẦU

Loài *Pseudomonas stutzeri* được xác định khả năng cố định đạm từ lâu (Krotzsky and Werner, 1987). Vào năm 1983, nông dân Trung Quốc đã sử dụng loài vi khuẩn *Alcagenes faecalis* A15 cố định đạm cho cây lúa cao sản. Đến năm 1999 thì *Alcagenes faecalis* A15 được các nhà khoa học Bỉ phân loại chính xác dựa trên bộ genome của nó là *Pseudomonas stutzeri* (Vermeiren *et al.*, 1999), thế nhưng các loài thuộc giống *Pseudomonas* có khả năng cố định đạm đã được xác định từ những năm 1994 (Chan *et al.*, 1994). Cố định đạm sinh học trên lúa làm tăng đạm tổng số lên 20-25% (Döbereiner, 1992). Theo thí nghiệm của Cao Ngọc Diệp (2005), khi tưới dịch vi khuẩn *Pseudomonas* sp. lên lúa cao sản trồng trên đất phù sa ở Cần Thơ đã giúp tăng năng suất lúa lên 20-37%. Ngoài ra, một số chủng *Pseudomonas* sp. được phân lập từ đất vùng rễ lúa cũng đã được xác định có khả năng cố định đạm và giúp tăng năng suất lúa (Nguyễn Ngọc Dũng *et al.*, 2000; Ngô Thanh Phong *et al.*, 2011)

Cây lúa cần nhiều chất dinh dưỡng khác nhau, trong đó, chất đạm là nguồn dinh dưỡng hàng đầu. Tuy nhiên, khi bón phân đạm hóa học cho ruộng lúa, chỉ có khoảng 50-60% lượng đạm bón vào trong đất được cây lúa hấp thu (Võ Minh Kha, 2003). Do đó, sự lạm dụng phân đạm hóa học sẽ dẫn đến những hậu quả như thay đổi lý, hóa

¹ Khoa Khoa Học Tự Nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

² Viện Nghiên Cứu và Phát Triển Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại học Cần Thơ

tính của đất (chai đất), giảm độ phì, mất cân bằng sinh thái và gây ô nhiễm môi trường do sự thất thoát nitrat. Bón quá nhiều phân đạm hóa học sẽ dẫn đến chi phí cao, không những làm ô nhiễm môi trường mà còn gây tổn hại đến sức khỏe và ảnh hưởng tiêu cực đến hệ sinh thái. Việc nghiên cứu ứng dụng các chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm hữu hiệu bón cho cây lúa là góp phần nghiên cứu nguồn đạm sinh học, thay thế một phần phân đạm hóa học và cần thiết cho sự phát triển nông nghiệp bền vững.

Trong nội dung chính của bài báo này, chúng tôi tiến hành thí nghiệm xác định mức độ thay thế phân đạm hóa học của 2 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 và *Pseudomonas* sp. BT2 với cây lúa cao sản OM2517 trồng trong chậu.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Giống lúa

Giống lúa OM2517 có nguồn gốc từ tổ hợp lai OM1325 và OMCS94, được công nhận giống Quốc gia năm 2004 theo Quyết định số 2182 QĐ/BNN-KHCN ngày 29/7/2004. Đây là giống lúa thích nghi rộng, dễ canh tác, phù hợp với vùng Tứ giác Long Xuyên và Tây Sông Hậu. Giống lúa OM2517 có thời gian sinh trưởng ngắn (90-95 ngày), đạt năng suất 5 tấn/ha vào vụ Hè Thu và 8 tấn/ha vào vụ Đông Xuân (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2008). Lúa giống OM2517 được xử lý cho nảy mầm và chủng vi khuẩn 3 giờ trước khi gieo (đối với các nghiệm thức có chủng vi khuẩn).

2.2 Các chủng vi khuẩn cố định đạm với cây lúa

Chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 và BT2 được phân lập từ đất vùng rẫy lúa ở Bến Tre (dựa trên môi trường đặc chủng *Pseudomonas* isolation agar - Difco), đều phát triển tốt trên môi trường Burk lỏng không đạm và đều thể hiện hoạt tính của nitrogenase thông qua khả năng khử acetylen (Ngô Thanh Phong *et al.*, 2011). Hai chủng vi khuẩn này đã được trích DNA và giải trình tự dựa trên sản phẩm PCR (Ngô Thanh Phong *et al.*, 2011) khi dùng cặp mồi FGPS4-281bis và FGPS1509' đặc hiệu cho đoạn 16S rDNA (Mirza *et al.*, 2006). Chủng vi khuẩn BT1 có mức độ tương đồng 98% với *Pseudomonas* sp. R-41389 16S rRNA và *Pseudomonas nitroreducens* PS-2 16S rRNA, chủng BT2 có mức độ tương đồng 99% với *Pseudomonas* sp. saju-pthlm1 16S rRNA trong ngân hàng dữ liệu NCBI (Ngô Thanh Phong *et al.*, 2011).

2.3 Nhân mật số vi sinh vật

Hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 và *Pseudomonas* sp. BT2 được nuôi cấy, lưu trữ trên môi trường *Pseudomonas* isolation Agar (Difco) (Mirza *et al.*, 2006), nhân mật số trong môi trường Burk lỏng không đạm (Park *et al.*, 2005) và đếm nhanh mật số vi khuẩn bằng buồng đếm Hirschmann-EM (Ngô Thanh Phong *et al.*, 2011).

2.4 Đánh giá mức độ thay thế phân đạm hóa học của 2 chủng vi khuẩn

Áp dụng công thức bón phân cho cây lúa theo khuyến cáo của Trung tâm khuyến nông Cần Thơ: 90kgN-30kgP₂O₅-30kgK₂O/ha, chia là 3 đợt (7-10, 18-20, 38-42 ngày sau khi gieo sạ). Từ đó tính toán lượng phân đạm cho những nghiệm thức

khác nhau (0%N, 25%N, 50%N và 75%N), trong khi đó thì lượng phân lân và Kali đều được bón 100% như nhau đối với tất cả các nghiệm thức. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với các nghiệm thức khác nhau (Bảng 1).

Số lượng chồi/buội lúa được ghi nhận trong quá trình phát triển của cây lúa trong chậu. Khi lúa chín, tiến hành thu hoạch, phơi khô, loại bỏ hạt lúa lép và cân trọng lượng khô của hạt lúa chắc tương ứng với từng buổi lúa trong chậu. Sau đó, so sánh trọng lượng hạt lúa/buội của từng nghiệm thức với đối chứng dương để đánh giá mức độ thay thế phân đạm hóa học của các chủng vi khuẩn.

Bảng 1: Các nghiệm thức được bố trí thí nghiệm với cây lúa OM2517 trồng trong chậu

STT	Nghiệm thức (NT)	Số μ l dung dịch <i>Pseudomonas</i> sp. BT1 hoặc BT2 chủng cho 1g lúa giống (đã nảy mầm)	%N	% (P ₂ O ₅ và K ₂ O)
1	NT-0*	0	0	100
2	NT1-1	50 μ l – BT1	0	100
3	NT1-2	50 μ l – BT1	25	100
4	NT1-3	50 μ l – BT1	50	100
5	NT1-4	50 μ l – BT1	75	100
6	NT2-1	50 μ l – BT2	0	100
7	NT2-2	50 μ l – BT2	25	100
8	NT2-3	50 μ l – BT2	50	100
9	NT2-4	50 μ l – BT2	75	100
10	NT3-1	25 μ l – BT1 và 25 μ l – BT2	0	100
11	NT3-2	25 μ l – BT1 và 25 μ l – BT2	25	100
12	NT3-3	25 μ l – BT1 và 25 μ l – BT2	50	100
13	NT3-4	25 μ l – BT1 và 25 μ l – BT2	75	100
14	NT100**	0	100	100

Ghi chú: Mỗi lần lặp lại là 1 chậu chứa 4kg đất, có 3 buổi lúa được phát triển từ 3 hạt lúa giống (có hoặc không chủng vi khuẩn). Có 14 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần nên có 42 chậu được bố trí thí nghiệm.

* đối chứng âm

** đối chứng dương

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Nhân mật số vi khuẩn

Sử dụng môi trường Burk lỏng không đậm để nhân mật số riêng lẻ đối với các chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 và *Pseudomonas* sp. BT2 (lắc 200 vòng/phút). Sau 3 - 4 ngày nuôi cấy thì mật số vi khuẩn thường đạt trên 10⁸ tế bào/ml. Điều chỉnh mật số vi khuẩn về 10⁸ tế bào/ml rồi tiến hành chủng cho hạt lúa giống đã nảy mầm (50 μ l dịch vi khuẩn/g hạt lúa giống), trộn đều và để 3 giờ trước khi gieo sạ.

3.2 Ảnh hưởng của *Pseudomonas* sp. BT1 và BT2 lên số chồi/buội lúa

Kết quả bảng 2 cho thấy các nghiệm thức bón 50%N đồng thời có chủng vi khuẩn BT1 (NT1-3), BT2 (NT2-3) và BT1+BT2 (NT3-3) đều có số chồi/buội cao và khác biệt không có ý nghĩa so với đối chứng dương (NT100, bón 100%N). Điều này cho thấy các dòng vi khuẩn BT1, BT2 và hỗn hợp BT1+BT2 có hiệu quả tương đương với sự ảnh hưởng của 50%N lên số chồi hữu hiệu của buội lúa.

Bảng 2: Số chồi/buội (số chồi nhiều nhất) và số chồi hữu hiệu/buội (số chồi có mang bông lúa)

STT	Nghiệm thức (NT)	Chủng vi khuẩn và %N	Số chồi/buội	Số chồi hữu hiệu/buội
1	NT0	Không chủng vi khuẩn và 0%N	2,66 ^b	2,33 ^c
2	NT1-1	BT1 và 0%N	3,66 ^{ab}	2,67 ^{bc}
3	NT1-2	BT1 và 25%N	4,00 ^{ab}	3,66 ^{abc}
4	NT1-3	BT1 và 50%N	5,66 ^a	4,67 ^{ab}
5	NT1-4	BT1 và 75%N	4,33 ^{ab}	4,33 ^{abc}
6	NT2-1	BT2 và 0%N	4,00 ^{ab}	3,00 ^{abc}
7	NT2-2	BT2 và 25%N	3,33 ^{ab}	3,00 ^{abc}
8	NT2-3	BT2 và 50%N	4,00 ^{ab}	4,67 ^{ab}
9	NT2-4	BT2 và 75%N	4,00 ^{ab}	4,33 ^{ab}
10	NT3-1	BT1, BT2 và 0%N	3,66 ^{ab}	3,33 ^{abc}
11	NT3-2	BT1, BT2 và 25%N	4,00 ^{ab}	4,00 ^{abc}
12	NT3-3	BT1, BT2 và 50%N	4,33 ^{ab}	5,00 ^a
13	NT3-4	BT1, BT2 và 75%N	4,50 ^{ab}	3,67 ^{abc}
14	NT100	Không chủng vi khuẩn, 100%N	4,00 ^{ab}	3,67 ^{abc}

Ghi chú: Các số có cùng ký tự theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 1%

3.3 Ảnh hưởng của *Pseudomonas* sp. BT1 và BT2 lên trọng lượng khô hạt lúa/buội

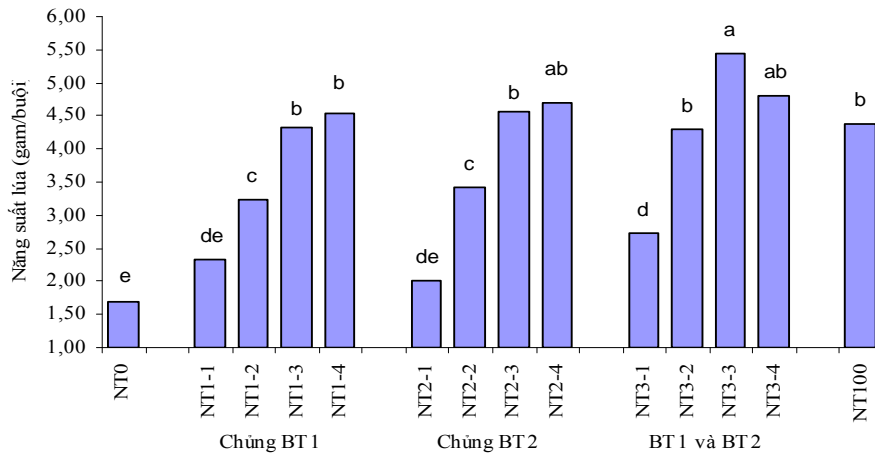
3.3.1 So sánh với đối chứng âm

Ở các nghiệm thức 0%N, nghiệm thức có chủng BT1 (NT1-1), nghiệm thức chủng BT2 (NT2-1) và nghiệm thức chủng phối hợp BT1 và BT2 (NT3-1) cho trọng lượng hạt lúa/buội cao hơn đối chứng âm (NT0: không chủng vi khuẩn và 0%N) từ 19,5 – 62,1%, trong đó hiệu quả nhất là sự tác động phối hợp giữa 2 chủng BT1 và BT2 (tăng 62,1% trọng lượng hạt/buội lúa).

3.3.2 So sánh các nghiệm thức chủng BT1 với đối chứng dương

NT1-1 (0%N, BT1) và NT1-2 (25%N, BT1) có trọng lượng hạt/buội lúa thấp hơn 47,2% và 26,4% và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng dương (NT100: không chủng vi khuẩn, bón 100%N). Như vậy, chủng BT1 không thể thay 75% phân đạm hóa học.

Ở mức độ bón 50%N (NT3-1) và 75%N (NT4-1), các nghiệm thức chủng BT1 có trọng lượng hạt/buội lúa tương đương và khác biệt không có ý nghĩa so với đối chứng dương (mức <5%). Như vậy, khi chủng BT1 cho cây lúa cao sản OM2517 trồng trong chậu có thể thay thế 25-50%N.



Hình 1: Biểu đồ trọng lượng hạt lúa (gam/buội) ở các nghiệm thức

Ghi chú:

NT0: Nghiệm thức đối chứng âm, không chủng vi khuẩn và không bổ sung N

NT100: Nghiệm thức đối chứng dương, không chủng vi khuẩn nhưng có bón 100%N

NT1-1, NT1-2, NT1-3 và NT1-4: đều chủng 50µl BT1 (1); bón lần lượt 0%N, 25%N, 50%N và 75%N

NT2-1, NT2-2, NT2-3 và NT2-4: đều chủng 50µl BT2 (2); bón lần lượt 0%N, 25%N, 50%N và 75%N

NT3-1, NT3-2, NT3-3 và NT3-4: 25µl BT1 và 25µl BT2 (3); bón lần lượt 0%N, 25%N, 50%N và 75%N

CV (%) = 8,84; LSD0.01 = 0,806

3.3.3 So sánh các nghiệm thức chủng BT2 với đối chứng dương

NT2-1 (0%N, BT2) và NT2-2 (25%N, BT2) có trọng lượng hạt/buội lúa thấp hơn 54% và 21,8% và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng dương (NT100: không chủng vi khuẩn, bón 100%N).

Ở mức độ bón 50%N, nghiệm thức NT2-3 có trọng lượng hạt/buội lúa tương đương và khác biệt không có ý nghĩa so với đối chứng dương (mức <5%). Ở mức độ bón 75%N, nghiệm thức NT2-4 có trọng lượng hạt/buội lúa cao hơn 6,8% so với đối chứng dương. Như vậy, khi chủng BT2 cho cây lúa cao sản OM2517 trồng trong chậu có thể tiết giảm được 25-50%N. Nếu ở mức tiết giảm 25%N (NT2-4: 75%N và BT2) thì có khả năng làm cho năng suất tăng 6,8% so với đối chứng dương.

3.3.4 So sánh các nghiệm thức chủng phối hợp BT1 và BT2 với đối chứng dương

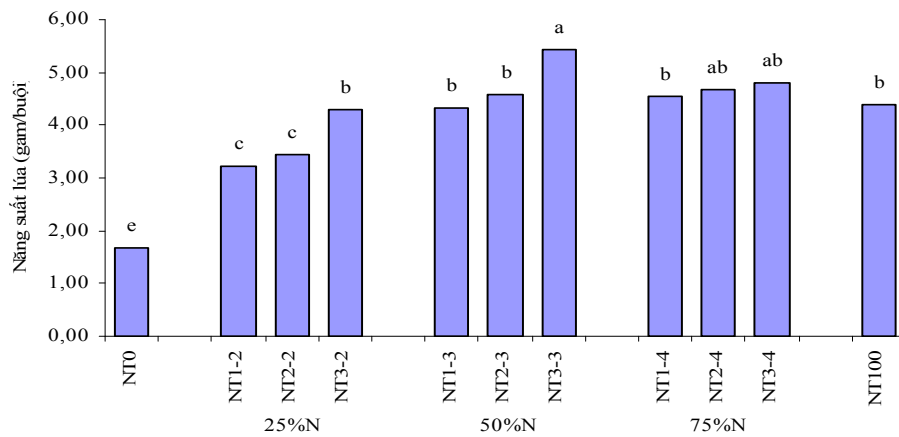
NT3-1 (0%N, BT1 và BT2) có trọng lượng hạt/buội lúa thấp hơn 37,8% và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng dương (NT100: không chủng vi khuẩn, bón 100%N). Như vậy, chủng phối hợp giữa BT1 và BT2 không thể thay thế hoàn toàn phân đạm hóa học.

NT3-2 (25%N, BT1 và BT2) có trọng lượng hạt/buội lúa là 4,30g, khác biệt không có ý nghĩa với đối chứng dương (NT100 – 4,39g). Như vậy, khi chủng phối hợp giữa BT1 và BT2 cho cây lúa thì có khả năng tiết giảm được 75% phân đạm hóa học mà năng suất vẫn tương đương với đối chứng dương.

Ở mức độ bón 50%N (NT3-3) và 75%N (NT3-4), các nghiệm thức chủng phối hợp giữa BT1 và BT2 cho cây lúa đều có trọng lượng hạt/buội tăng cao hơn so với đối chứng dương lần lượt là 23,9% và 9,3%, khác biệt có ý nghĩa. Điều này cho thấy khi phối trộn giữa BT1 và BT2 để chủng cho cây lúa thì nghiệm thức bón 50%N lại cho năng suất cao hơn bón 75%N. Do đó, có thể giải thích rằng ở mức bón 50%N thì sự phối hợp giữa 2 chủng BT1 và BT2 hoạt động hữu hiệu hơn ở mức bón đạm 75%N (khi nồng độ đạm cao có thể ức chế một phần hoạt động của vi khuẩn cố định đạm).

Như vậy, khi chủng phối hợp BT1 và BT2 cho cây lúa cao sản OM2517 trồng trong chậu có thể tiết giảm được 25-75%N. Trong đó, ở mức tiết giảm 50%N (NT3-3: 50%N, BT1 và BT2) thì hữu hiệu nhất (có khả năng làm cho năng suất tăng 23,9% so với đối chứng dương). Nghiệm thức NT3-3 cũng là nghiệm thức cho giá trị về số chồi hữu hiệu cao nhất.

3.3.5 So sánh hiệu quả giữa các nghiệm thức chủng vi khuẩn cố định đạm



Hình 2: Biểu đồ trọng lượng hạt (gam/buội) ở các nghiệm thức chủng vi khuẩn khác nhau tương ứng với từng mức bón phân đạm hóa học (25%N, 50%N và 75%N)

Ghi chú:

NT0: Nghiệm thức đối chứng âm, không chủng vi khuẩn và không bổ sung N

NT100: Nghiệm thức đối chứng dương, không chủng vi khuẩn nhưng có bón 100%N

NT1-2, NT2-2 và NT3-2: lần lượt chủng BT1 (1), BT2 (2) và chủng phối hợp BT1 và BT(3); đều bón 25% (2)

NT1-3, NT2-3 và NT3-3: lần lượt chủng BT1 (1), BT2 (2) và chủng phối hợp BT1 và BT(3); đều bón 50% (3)

NT1-4, NT2-4 và NT3-4: lần lượt chủng BT1 (1), BT2 (2) và chủng phối hợp BT1 và BT(3); đều bón 75% (4)

Các số có cùng ký tự theo sau thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 1%

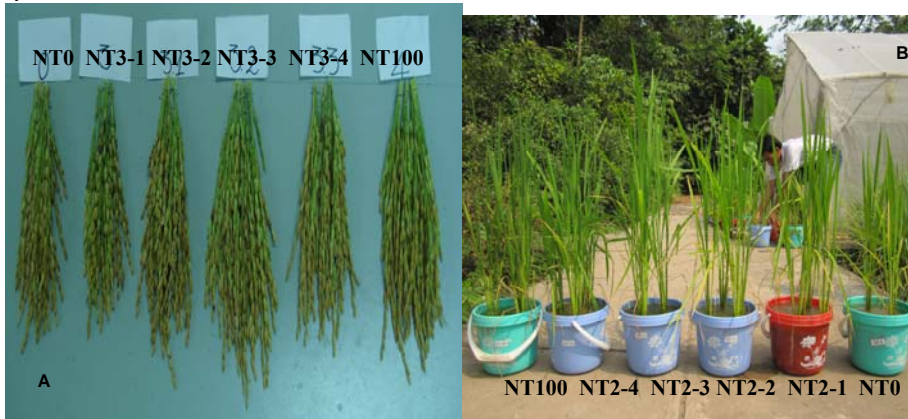
Ở mức bón 25%N, nghiệm thức chủng BT1 đạt 3,23g/buội, nghiệm thức chủng BT2 đạt 3,43g/buội, nghiệm thức chủng phối hợp giữa BT1 và BT2 đạt 4,30g/buội

và khác biệt có ý nghĩa so với 2 nghiệm thức còn lại. Do đó, khi chúng phối hợp giữa BT1 và BT2 sẽ có hiệu quả cao hơn chúng riêng lẻ BT1 hoặc BT2.

Ở mức bón 50%N, nghiệm thức chủng BT1 đạt 4,34g/buội, nghiệm thức chủng BT2 đạt 4,58g/buội, nghiệm thức chủng phối hợp giữa BT1 và BT2 đạt 5,44g/buội. Như vậy, nghiệm thức chủng phối hợp giữa BT1 và BT2 sẽ có hiệu quả cao hơn 18,8% hoặc 25,3% so với nghiệm thức chủng riêng lẻ BT1 hoặc BT2, khác biệt có ý nghĩa.

Ở mức bón 75%N, nghiệm thức chủng BT1 đạt 4,55g/buội, nghiệm thức chủng BT2 đạt 4,69g/buội, nghiệm thức chủng phối hợp giữa BT1 và BT2 đạt 4,80g/buội, đều cao hơn giá trị của đối chứng dương (NT100: không vi khuẩn, 100%N) lần lượt là 3,5%, 6,8% và 9,9%.

Tóm lại, ở từng mức bón đạm hóa học khác nhau thì nghiệm thức chủng phối hợp giữa BT1 và BT2 đều hiệu quả hơn so với các nghiệm thức chủng riêng lẻ BT1 hoặc BT2.



Hình 3: Bông lúa của một chậu (A) và các chậu lúa được 28 ngày sau khi gieo (B) tương ứng với các nghiệm thức

Ghi chú:

NT0: đối chứng âm, 0 vi khuẩn, 0%N;

NT100: đối chứng dương, 0 vi khuẩn, 100%N

NT3-1, NT3-2, NT3-3 và NT3-4: chủng phối hợp BT1 và BT2, lần lượt bón 0%N, 25%N, 50%N và 75%N

NT2-1, NT2-2, NT2-3 và NT2-4: các nghiệm thức chủng BT1, lần lượt bón 0%N, 25%N, 50%N và 75%N

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

Chủng riêng lẻ *Pseudomonas* sp. BT1 hoặc *Pseudomonas* sp. BT2 cho cây lúa cao sản OM2517 trồng trong chậu đã thay thế được đến 50%N.

Chủng phối hợp giữa *Pseudomonas* sp. BT1 và *Pseudomonas* sp. BT2 cho cây lúa cao sản OM2517 trồng trong chậu có khả năng thay thế đến 75%N (chỉ cần bón 25%N). Trong trường hợp thay thế 50%N (chỉ bón 50%N) thì năng suất lúa trong chậu có thể tăng lên 23,9% so với đối chứng dương.

4.2 Đề nghị

Tiếp tục tiến hành thí nghiệm chủng *Pseudomonas* sp. BT1 và *Pseudomonas* sp. BT2 cho cây lúa cao sản trồng ngoài đồng, với các mức độ giảm bón phân đạm từ 25%N đến 50%N. Trong trường hợp phối trộn giữa *Pseudomonas* sp. BT1 và *Pseudomonas* sp. BT2 để chủng cho cây lúa thì có thể thí nghiệm tiết giảm 50%N đến 75%N.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cao Ngọc Diệp. 2005. Ảnh hưởng của dịch vi khuẩn *Pseudomonas* spp. lên lúa cao sản trồng trên đất phù sa ở Cần Thơ. *Tạp chí khoa học Đại Học Cần Thơ* 2005: 2.
- Chan Y., W.L. Barraquio and R. Knowles. 1994. N₂-fixing pseudomonads and related soil bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 13: 95-118.
- Döbereiner J. 1992. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. *Symbiosis*. 13: 1-13.
- Krotzky A. and D. Werner. 1987. Nitrogen Fixation in *Pseudomonas stutzeri*. *Arch Microbiol* 147:48-57.
- Mirza S., M.S. Mehnaz, P. Normand, C. Prigent-Combaret, Y. Moenne-Loccoz, R. Bally, K.A. Malik. 2006. Molecular characterization and PCR detection of a nitrogen-fixing *Pseudomonas* strain promoting rice growth. *Biol Fertil Soils* 43: 163-170.
- Ngô Thanh Phong, Cao Ngọc Diệp, Trần Thị Xuân Mai. 2011. Phân lập, nhận diện và tuyển chọn vi khuẩn cố định đạm bón cho cây lúa cao sản. Bộ Giáo Dục và Đào Tạo, B2009-16-119.
- Nguyễn Ngọc Dũng, Hồ Thị Kim Anh, Vũ Thanh. 2000. Vi khuẩn cố định nitơ vi hiếu khí khu trú trong rễ lúa ở một số địa điểm thuộc đồng bằng sông Hồng. Hội Nghị Sinh học quốc gia, Hà Nội, Nxb Đại học quốc gia Hà Nội.
- Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu. 2008. Giống lúa và sản xuất hạt lúa giống tốt. Nxb Nông nghiệp Thành Phố Hồ Chí Minh.
- Park M.C., J. Kim, Y. Yang. 2005. Isolation and characterization of diazotrophic growth promotion bacteria from Rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiological Research*, 160, p. 127- 133.
- Vermeiren H., R. Bally, K.A. Malik. 1999. The rice inoculant strain *Alcaligenes faecalis* A15 is a nitrogen-fixing *Pseudomonas stutzeri*. *Syst Appl. Microbiol.* 22: 2150224.
- Võ Minh Kha. 2003. Sử dụng phân bón phối hợp cân đối (nguyên lý và giải pháp). Nxb Nghệ An, Việt Nam.