



## XÁC ĐỊNH MỨC ĐỘ CỐ ĐỊNH ĐẠM SINH HỌC CỦA *BURKHOLDERIA SP. KG1* VÀ *PSEUDOMONAS SP. BT1* TRÊN CÂY LÚA CAO SẢN OM2517 TRỒNG NGOÀI ĐỒNG

Ngô Thanh Phong<sup>1</sup> và Cao Ngọc Điệp<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 11/12/2012

Ngày chấp nhận: 20/06/2013

### Title:

Determining the extent of biological nitrogen fixing of the *Burkholderia sp. KG1* and *Pseudomonas sp. BT1* with high-yielding rice OM2517 in the field

### Từ khóa:

*Burkholderia*, *Pseudomonas*, lúa, đất vùng rễ, Nông trường Sông Hậu

### Keywords:

*Burkholderia*, *Pseudomonas*, rice, rhizosphere soil, Song Hau farm

### ABSTRACT

A field experiment was conducted to evaluate biological nitrogen fixation ability of two isolates (*Pseudomonas sp. BT1* and *Burkholderia sp. KG1*) on high-yielding rice OM2517 cultivated on alluvial soil of Song Hau farm, Can Tho city in Summer-Autumn cropping-season 2011. The results showed that *Burkholderia sp. KG1* isolate had biological nitrogen fixation ability equivalent to 50% inorganic fertilizer while *Pseudomonas sp. BT1* only provided 25% nitrogen requirement for rice growth.

### TÓM TẮT

Thí nghiệm ngoài đồng được thực hiện để đánh giá khả năng cố định đạm của 2 chủng vi khuẩn *Pseudomonas sp. BT1* và *Burkholderia sp. KG1* trên cây lúa cao sản OM2517 trồng trên đất phù sa tại nông trường Sông Hậu – Cần Thơ vào vụ Hè Thu 2011. Kết quả cho thấy chủng *Burkholderia sp. KG1* cung cấp đến 50% đạm sinh học trong khi chủng *Pseudomonas sp. BT1* chỉ cung cấp được 25% nhu cầu đạm sinh học cho sự phát triển của cây lúa cao sản.

## 1 MỞ ĐẦU

Đồng bằng sông Cửu Long có diện tích gần 4 triệu ha, trong đó có 1,7 triệu ha đất nông nghiệp được dùng để trồng lúa với diện tích canh tác lúa hàng năm lên đến 3,9 triệu ha (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2008). Để đảm bảo năng suất, nông dân đã sử dụng rất nhiều phân bón. Theo Võ Minh Kha (2003), chỉ có khoảng 50-60% lượng đạm bón vào trong đất được cây lúa hấp thu, số còn lại sẽ được lưu tồn trong đất hoặc bị trực di hay bị rửa trôi dẫn đến sự nhiễm nitrat cho đất và nước dẫn, đồng thời dư lượng nitrat cũng tồn lưu trong nông sản. Bón

quá nhiều phân đạm hóa học cho cây trồng sẽ dẫn đến chi phí sản xuất cao, hiệu quả kinh tế thấp, đồng thời không đảm bảo cho một hệ sinh thái phát triển bền vững.

Loài *Pseudomonas stutzeri* được xác định khả năng cố định đạm từ lâu (Krotzsky and Werner, 1987; Vermeiren *et al.*, 1999). Các loài thuộc giống *Pseudomonas* có khả năng cố định đạm đã được khẳng 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).

Ở Việt Nam đã có những nghiên cứu rất sớm về vi khuẩn cố định N như vi khuẩn nốt rễ cho cây đậu (Trần Phước Đường *et al.*, 1984) và luân canh đậu – lúa (Trần Phước Đường *et al.*, 1999) nhưng đến năm 1995 thì mới phát hiện vi khuẩn *Burkholderia vietnamiensis* sống trong rễ lúa trồng ở Việt Nam (Gillis *et al.*, 1995). Sau đó, các nhà khoa học đã xác định được *Burkholderia vietnamiensis* là loài vi khuẩn có khả năng cố định đạm giúp tăng năng suất lúa (Trần Văn Vân *et al.*, 2000)

Theo thí nghiệm của Cao Ngọc Diệp (2005), khi tưới dịch vi khuẩn *Pseudomonas* spp. lên lúa cao sản trồng trên đất phù sa ở Cần Thơ đã giúp tăng năng suất lúa lên 20-37%. Ngoài ra, các nhà khoa học cũng đã xác định *Burkholderia vietnamiensis* là loài vi khuẩn được phân lập từ đất vùng rễ lúa có khả năng cố định đạm và giúp tăng năng suất lúa (Gillis *et al.*, 1995; Trần Văn Vân *et al.*, 2000; Nguyễn Ngọc Dũng *et al.*, 2000; Ngô Thanh Phong *et al.*, 2010).

Việc nghiên cứu ứng dụng các chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm hữu hiệu bón cho cây lúa ở đồng bằng sông Cửu Long hiện nay mang tính cấp thiết nhằm giữ vững năng suất, bảo vệ môi trường và đảm bảo cho sự phát triển nông nghiệp bền vững trong khu vực. Trong nội dung bài báo này, chúng tôi tiến hành thí nghiệm đánh giá mức độ thay thế đạm hóa học của hai chủng vi khuẩn cố định đạm với cây lúa cao sản trồng tại Nông trường Sông Hậu thuộc Cần Thơ.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 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 5-6 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 *Burkholderia* sp. KG1 được phân lập từ Kiên Giang, đã được giải trình tự DNA dựa trên sản phẩm PCR khi dùng cặp mồi PolF và PolR đặc hiệu cho gen *nifH* (Poly *et al.*, 2001), có mức độ tương đồng 98% với *Burkholderia vietnamiensis* AU0913 và AU0749 trong ngân hàng dữ liệu NCBI (Ngô Thanh Phong *et al.*, 2010) và có thể thay thế 75%N dựa trên số liệu trọng lượng khô và số chồi của bụi lúa OM2517 giai đoạn 39 ngày sau khi gieo sạ trong chậu (Ngô Thanh Phong *et al.*, 2011).

Chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 được phân lập từ Bến Tre, đã được giải trình tự DNA dựa trên sản phẩm PCR khi dùng cặp mồi FGPS4-281bis và FGPS1509' đặc hiệu cho đoạn 16S rDNA (Mirza *et al.*, 2006), có mức độ tương đồng 98% với *Pseudomonas* sp. R-41389 16S rRNA và *Pseudomonas nitroreducens* PS-2 16S rRNA trong ngân hàng dữ liệu NCBI và có thể thay thế 50%N dựa trên năng suất lúa trồng trong chậu (Ngô Thanh Phong *et al.*, 2011).

### 2.3 Nhân mật số vi sinh vật

Hai chủng vi khuẩn *Burkholderia* sp. KG1 và *Pseudomonas* sp. BT1 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 hồng cầu. Sử dụng môi trường Burk lỏng không đạm để nhân mật số các chủng vi khuẩn *Burkholderia* sp. KG1 và *Pseudomonas* sp. BT1 (lắc 200 vòng/phút). Sau 3 - 4 ngày nuôi cấy thì mật số vi khuẩn thường đạt trên  $10^8$  tế bào/ml. Điều chỉnh mật số vi khuẩn về  $10^8$  tế bào/ml rồi tiến hành chủng cho hạt lúa giống đã nảy mầm (50 ml dịch vi khuẩn/1kg hạt lúa giống, tương đương 10 lít dịch vi khuẩn/200 kg hạt lúa giống/ha), trộn đều và để 3 giờ trước khi gieo sạ.

## 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 - 30kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 30kgK<sub>2</sub>O/ha (196 kg urea 46%N, 240 kg supper lân 12,5% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 50 kg KCl 60% K<sub>2</sub>O). Việc bón phân được chia là 3 đợt (7-10, 18-20, 35-38 ngày sau khi gieo sạ). Từ đó tính toán lượng phân đạm cho những nghiệm thức khác nhau (đợt 1 bón 30%, đợt 2 bón 50% và đợt 3 bón 20%), trong khi đó thì lượng phân lân (đợt 1 và đợt 2 đều bón 50%) và Kali (đợt 2 bón 40%, đợt 3 bón 60%) 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).

Khi lúa chín, tiến hành thu hoạch và cân trọng lượng khô của hạt lúa chắc tương ứng với từng lô thí nghiệm (thu hoạch lúa ngẫu nhiên 4 m<sup>2</sup> trong từng lô, phơi khô, cân trọng lượng và quy đổi ra năng suất lúa - tấn/ha). Sau đó, so sánh năng suất trung bình của từng nghiệm thức với đối chứng dương để đánh giá mức độ thay thế phân đạm hóa học của các chủng vi khuẩn. Ngoài ra còn tiến hành đo chiều cao cây, số hạt chắc/bông, trọng lượng 1000 hạt và xác định hàm lượng protein trong hạt gạo.

**Bảng 1: Các nghiệm thức được bố trí thí nghiệm với cây lúa OM2517 trồng ngoài đồng**

STT	Nghiệm thức (NT)	Chủng vi khuẩn <i>Burkholderia</i> sp. KG1 và <i>Pseudomonas</i> sp. BT1 cho lúa giống đã nảy mầm	%N	%(P và K)
1	NT0 (âm)	0	0	100
2	NT1-B	<i>Burkholderia</i> sp. KG1	0	100
3	NT2-B	<i>Burkholderia</i> sp. KG1	50	100
4	NT3-B	<i>Burkholderia</i> sp. KG1	75	100
5	NT1-P	<i>Pseudomonas</i> sp. BT1	0	100
6	NT2-P	<i>Pseudomonas</i> sp. BT1	50	100
7	NT3-P	<i>Pseudomonas</i> sp. BT1	75	100
8	NT100 (dương)	0	100	100

**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-B, NT2-B và NT3-B: Các nghiệm thức chủng *Burkholderia* sp. KG1, bón lần lượt 0%N, 50%N và 75%N

NT1-P, NT2-P và NT3-P: Các nghiệm thức chủng *Pseudomonas* sp. BT1, bón lần lượt 0%N, 50%N và 75%N

Có 8 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần nên có 24 lô đất được bố trí thí nghiệm, mỗi lô 24 m<sup>2</sup>.

Thống kê bằng phần mềm MINITAB.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Chiều cao cây, số hạt chắc/bông, trọng lượng 1000 hạt và hàm lượng protein trong gạo

Kết quả chiều cao tối đa của cây lúa cho thấy tất cả các nghiệm thức có chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 hoặc *Burkholderia* sp. KG1 (trừ NT1-P) đều khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng âm và khác biệt không ý nghĩa ở mức 1% so với đối chứng dương, phù hợp với đặc tính chiều cao của giống lúa OM2517 là 100 - 105 cm (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí

Bừu, 2008). Trọng lượng 1000 hạt thì không khác biệt ở tất cả các nghiệm thức và cũng phù hợp với trọng lượng 1000 hạt của giống lúa này là 25 - 26 g. Số hạt chắc/bông ở các nghiệm thức có chủng vi khuẩn đều khác biệt so với đối chứng âm chứng tỏ sự hữu hiệu của hai dòng vi khuẩn làm tăng sự hình thành hạt chắc/bông. Đặc biệt, các nghiệm thức có chủng hai dòng vi khuẩn này cũng cho thấy độ hữu hiệu về sự tích lũy protein trong hạt gạo, đảm bảo chất lượng protein trong gạo của giống OM2517 (7 - 7,5%) và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng âm.

**Bảng 2: Hiệu quả của 2 dòng vi khuẩn và phân đạm hóa học trên chiều cao cây, số hạt chắc/bông, trọng lượng 1000 hạt và hàm lượng protein trong gạo**

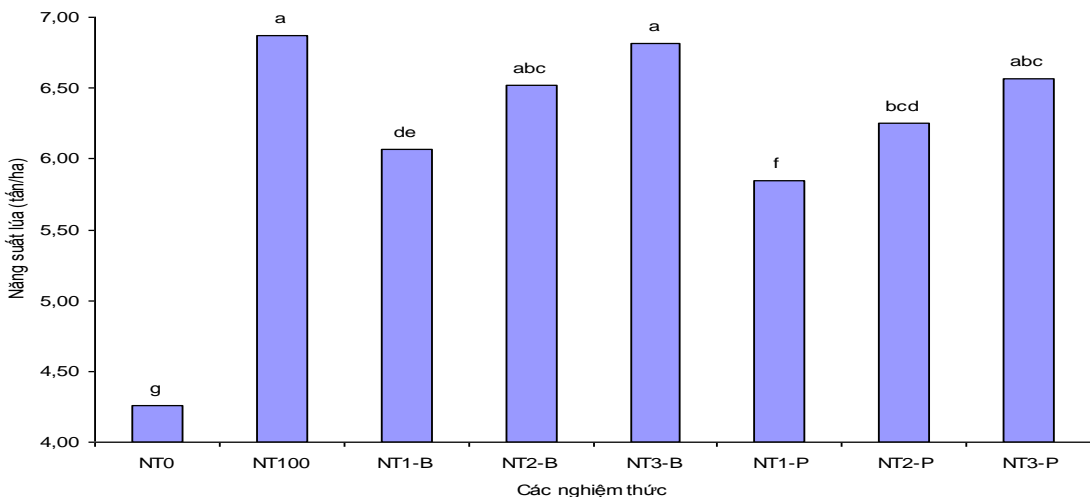
Nghiệm thức	Chiều cao cây lúa (cm)	Số hạt chắc/bông	Trọng lượng 1000 hạt (g)	Hàm lượng protein trong gạo (%)
NT1-B	100,9abc	79,3ab	26,0ab	6,82c
NT2-B	103,5a	79,4ab	25,8ab	7,44a
NT3-B	103,7a	81,3ab	26,4a	7,64a
NT1-P	94,5de	73,7cd	26,4a	6,68c
NT2-P	100,0abc	73,3d	26,3ab	7,41a
NT3-P	102,0ab	79,3ab	26,1ab	7,72a
NT0	90,2e	64,7e	25,7ab	6,19d
NT100	100,2abc	82,6a	25,9ab	7,04b
CV (%)	2,86	3,70	2,81	3,47

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

**3.2 Năng suất lúa dưới ảnh hưởng của chủng vi khuẩn *Burkholderia* sp. KG1**

Nghiệm thức NT1-B (chủng *Burkholderia* sp. KG1 và không bổ sung đạm) có năng suất cao hơn 1,81 tấn/ha (42,5%) so với đối chứng âm (NT0: không chủng vi khuẩn và không bón đạm hóa học). Như vậy, việc chủng *Burkholderia* sp. KG1 đã làm tăng năng suất lên 42,5% so với đối chứng âm, trong khi thí

nghiệm tưới dịch vi khuẩn *Pseudomonas* sp. cho cây lúa cao sản trồng trên đất phù sa Sông Hậu chỉ làm cho năng suất lúa tăng từ 20 - 37% (Cao Ngọc Diệp, 2005). Nếu áp dụng nghiệm thức này trong canh tác lúa sẽ hạn chế tối đa lượng phân đạm hóa học nhưng năng suất sẽ thấp hơn đối chứng dương là 0,81 tấn/ha (11,8%).



**Hình 1: Năng suất lúa ở các nghiệm thức (tấn/ha)**

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-B, NT2-B và NT3-B: Các nghiệm thức chủng *Burkholderia* sp. KG1, bón lần lượt 0%N, 50%N và 75%N

NT1-P, NT2-P và NT3-P: Các nghiệm thức chủng *Pseudomonas* sp. BT1, bón lần lượt 0%N, 50%N và 75%N

CV(%) = 3,87; Các cột năng suất có cùng mẫu tự thì không khác biệt nhau ở mức ý nghĩa 5%

Nghiệm thức NT2-B (chủng *Burkholderia* sp. KG1 và bổ sung 50%N) đạt năng suất 6,52 tấn/ha, thấp hơn so với năng suất của đối

chứng dương (6,88 tấn/ha) là 5,2%. Nếu so với NT2-B, năng suất lúa của đối chứng dương cao hơn 0,36 tấn/ha nhưng đồng thời cũng phải

bón nhiều hơn đến 45 kg N/ha, tương đương 97,8 kg urea/ha.

Nghiệm thức NT3-B (chủng *Burkholderia* sp. KG1 và bổ sung 75%N) đạt năng suất 6,82 tấn/ha, khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5% so với năng suất của đối chứng dương (6,88 tấn/ha). Do đó, áp dụng nghiệm thức NT3-B đã hạn chế được 22,5 kg N/ha, tương đương 48,9 kg urea/ha.

Căn cứ vào các kết quả trên thì có thể kết luận rằng *Burkholderia* sp. KG1 có thể thay thế 25 - 50%N khi chủng cho cây lúa cao sản trồng ngoài đồng nhưng vẫn đảm bảo năng suất tương đương với nghiệm thức đối chứng dương (100%N) và không khác biệt so với năng suất chung của giống lúa OM2517 ở đồng bằng sông Cửu Long (5 - 6 tấn/ha và cũng có khả năng đạt đến 8 tấn/ha) (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2008).

### 3.3 Năng suất lúa dưới ảnh hưởng của chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1

Nghiệm thức NT1-P (chủng *Pseudomonas* sp. BT1 và không bổ sung đạm) có năng suất cao hơn 1,59 tấn/ha (37,3%) so với đối chứng âm (NT0: không chủng vi khuẩn và không bón đạm hóa học). Nếu so với năng suất lúa của NT1-B (6,07 tấn/ha) thì năng suất lúa của NT1-P (5,85 tấn/ha) thấp hơn 0,22 tấn/ha (3,6%). Điều này cho thấy trong trường hợp không bón phân đạm hóa học thì việc chủng *Pseudomonas* sp. BT1 cho năng suất khác biệt không có ý nghĩa (5%) khi chủng *Burkholderia* sp. KG1 cho cây lúa OM2517.

Nghiệm thức NT2-P (*Pseudomonas* sp. BT1 và bổ sung 50%N) đạt năng suất 6,25 tấn/ha, thấp hơn so với năng suất của đối chứng dương (6,88 tấn/ha) là 0,63 tấn/ha (9,2%) và khác biệt có ý nghĩa với độ tin cậy 95%. Nếu so sánh với NT2-B, ở mức bón 50%N thì nghiệm thức chủng *Pseudomonas* sp. BT1 (NT2-P) kém hiệu quả hơn nghiệm thức chủng *Burkholderia* sp. KG1 (NT2-B) là 0,27 tấn/ha (4,3%) .

Nghiệm thức NT3-P (*Pseudomonas* sp. BT1 và bổ sung 75%N) đạt năng suất 6,56 tấn/ha, khác biệt không có ý nghĩa so với năng

suất của đối chứng dương (6,88 tấn/ha). Tuy nhiên, ở mức bón 75%N thì nghiệm thức chủng *Pseudomonas* sp. BT1 (NT3-P) kém hiệu quả hơn nghiệm thức chủng *Burkholderia* sp. KG1 (NT3-B) là 0,26 tấn/ha (3,8%). Như vậy, chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 có thể thay thế 25%N khi bón cho cây lúa cao sản OM2517 và cho năng suất lúa cũng không khác biệt so với năng suất chung của OM2517 ở đồng bằng sông Cửu Long (5-6 tấn/ha và cũng có khả năng đạt đến 8 tấn/ha) (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2008).

## 4 KẾT LUẬN

Chủng *Pseudomonas* sp. BT1 có thể thay thế 25 - 50%N cho năng suất lúa từ 6,25 - 6,56 tấn/ha và chủng vi khuẩn *Burkholderia* sp. KG1 cũng có thể thay thế 25 - 50%N cho năng suất từ 6,52 - 6,82 tấn/ha vào vụ Hè Thu 2011 tại Nông trường Sông Hậu. Như vậy, khi chủng riêng lẻ từng chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BT1 hoặc *Burkholderia* sp. KG1 cho cây lúa cao sản OM2517 đã tiết giảm được từ 48,9 - 97,8 kg urea/ha trong quá trình canh tác lúa nhưng vẫn đảm bảo năng suất lúa, trọng lượng 1000 hạt và hàm lượng protein trong hạt gạo.

## LỜI CẢM Ạ

Các tác giả chân thành cảm ơn Trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ kinh phí thực hiện đề tài cấp cơ sở: “Đánh giá mức độ thay thế phân đạm của một số dòng vi khuẩn cố định đạm với cây lúa” – T2011-69.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. 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 Trường Đại học Cần Thơ* 2005: 2.
2. Chan Y., W.L. Barraquio and R. Knowles. 1994. N<sub>2</sub>-fixing pseudomonads and related soil bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 13: 95-118.
3. Döbereiner J. 1992. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. *Symbiosis*. 13: 1-13.
4. Gillis M., V. Tran Van, R. Bardin, M. Goor, P. Hebban, A. William, P. Segers, K. Kersters, T. Heulin, M.P. Fernandez. 1995. Polyphasic



- taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N<sub>2</sub>-fixing isolates from rice in Vietnam. *Int J Syst Bacteriol* 45: 274-289.
5. Krotzky A. and D. Werner. 1987. Nitrogen Fixation in *Pseudomonas stutzeri*. *Arch Microbiol* (1987) 147: 48-57.
  6. 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.
  7. Nguyễn Ngọc Dũng, Hồ Thị Kim Anh và 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, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.
  8. Ngô Thanh Phong, Nguyễn Thị Minh Thư và Cao Ngọc Điệp. 2010. Phân lập và nhận diện vi khuẩn cố định đạm trong đất vùng rễ lúa trồng trên đất phù sa tỉnh Kiên Giang. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 8(3A): 1015-1020.
  9. Ngô Thanh Phong, Cao Ngọc Điệp và 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.
  10. Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu. 2008. Giống lúa và sản xuất hạt lúa giống tốt. NXB Nông nghiệp Thành Phố Hồ Chí Minh.
  11. Park M.C., J. Kim and Y. Yang. 2005. Isolation and characteration of diazotrophic growth promotion bacteria from Rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiological Research*, 160, p. 127- 133.
  12. Tran Phuoc Duong, Cao Ngoc Diep, Nguyen Tri Khiem, Nguyen Huu Hiep, Nguyen Van Toi, Nguyen Van Lich, Le Thi Kieu Nhan. 1984. *Rhizobium* inoculant for soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in Mekong Delta. I. Response of soybean to *Rhizobium* inoculant. *Plant and Soil* 79: 235-240.
  13. Tran Phuoc Duong, Cao Ngoc Diep, Vo Huy Dang, Nguyen Huu Hiep, Tong Huu Thuan . 1999. Evaluation of Nitrogen fixation by soybean-Rhizobium symbiosis on rotation cropping system soybean-rice using <sup>15</sup>N technique. *Proceedings of Applied Nuclear technique conference* at Dalat from 14-15 March, 1999.
  14. Tran Van V., O. Berge, S. Ngo Ke, J. Balandreau and T. Heulin. 2000. Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility sulphate acid of Vietnam. *Plant Soil* 218:273-284.
  15. Vermeiren H., R. Bally and K.A. Malik. 1999. The rice inoculant strain *Alcaligenes faecalis* A15 is a nitrogen-fixing *Pseudomonas stutzeri*. *Syst Appl. Microbiol.* 22: 2150224.
  16. Võ Minh Kha. 2003. Sử dụng phân bón phối hợp cân đối (nguyên lý và giải pháp). *Nhà xuất bản Nghệ An*, Việt Nam.