



RESEARCH ON THE SELECTION OF MICRO-ORGANISM DECOMPOSING ORGANIC MATTER GENERATED IN THE PRODUCTION OF YARN FROM RAMI

Du Ngoc Thanh^{1,*}, Vu Kieu Hanh¹

¹Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Vietnam

Email address: dungocthanh@tuaf.edu.vn

<http://doi.org/10.51453/2354-1431/2021/569>

Article info

Received: 03/4/2021

Accepted: 05/7/2021

Keywords:

Green thorn (Ramie);
Bioproducts; Cellulose
resolution

Abstract:

During the process of crop restructuring, thorns emerged as a bright object for many localities to choose in place of other inefficient crops. The area of green hemp for fiber production in Vietnam is over 1,000 hectares (2018). After taking the bark to make yarn, a large amount of rami waste is released into the environment. These wastes, after a period of time, in order to be naturally biodegradable, create a bad smell and rot for the surrounding environment. There is a need for a specialized microbial product to treat rami waste to clean up the environment while creating an organic fertilizer supply back to the soil growing rami. To solve this problem, the research has collected, isolated, and selected the strains of microorganisms having the capability of resolving cellulose and lignin, the main components in the stems of rami. The results have selected four strains of microorganisms with high cellulose and lignin resolution activity to produce bio-degradable products of rami, including actinomycetes RR04, BG05, BG08, bacteria RR05. The study has also selected the most suitable fermentation medium, MT2, so that the strains of microorganisms have the best biological activity in treating hemp residue.



NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN CHỦNG VI SINH VẬT PHÂN GIẢI CHẤT HỮU CƠ PHÁT SINH TRONG QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT SỢI TỪ CÂY GAI XANH (*Boehmeria nivea tenacissima* (L.) Gaud.)

Dư Ngọc Thành^{1,*}, Vũ Kiều Hạnh¹

¹Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, Việt Nam

*Địa chỉ email: dungocthanh@tuaf.edu.vn

<http://doi.org/10.51453/2354-1431/2021/569>

Thông tin bài viết

Ngày nhận bài: 03/4/2021

Ngày duyệt đăng: 05/7/2021

Từ khóa:

Cây gai xanh (*Rami*); Chế phẩm sinh học; Phân giải xenluloza

Tóm tắt

Trong quá trình chuyển đổi cơ cấu cây trồng, cây gai nổi lên như một đối tượng sáng giá để nhiều địa phương lựa chọn thay cho các cây trồng khác kém hiệu quả. Diện tích cây gai xanh lấy sợi của Việt Nam đã trên 1000 ha (2018). Sau khi lấy vỏ làm sợi, một lượng lớn bã thải thân lá cây gai được thải ra ngoài môi trường. Các chất thải hữu cơ sau một thời gian để ngoài tự nhiên nó bị phân hủy sinh học gây ra mùi hôi, thối môi trường xung quanh. Việc tạo ra một chế phẩm vi sinh chuyên để xử lý bã thải cây gai làm sạch môi trường là cần thiết. Để giải quyết vấn đề đó, đề tài đã nghiên cứu thu thập, phân lập và tuyển chọn được những chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenluloza và lignin thành phần chính trong thân lá cây gai. Kết quả đã chọn được 4 chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải xenluloza và lignin cao để sản xuất chế phẩm sinh học phân giải bã thải cây gai xanh và có khả năng tổ hợp tốt là các chủng xạ khuẩn RR04, BG05, BG08, vi khuẩn RR05. Nghiên cứu cũng đã lựa chọn được môi trường lên men thích hợp nhất là MT2 để các chủng vi sinh vật có được hoạt tính sinh học xử lý bã thải cây gai tốt nhất.

1. Mở đầu

Trong những năm gần đây để đáp ứng nhu cầu sản xuất sợi, các tỉnh như Thanh Hóa, Quảng Ngãi, Sơn La vv... [5], [8], [10] đã phát triển cây Gai xanh [1], năm 2018 diện tích trồng cây Gai xanh lấy sợi là 1000 ha [9]. Sau khi lấy vỏ làm sợi, một lượng lớn bã thải thân lá cây gai được thải ra ngoài môi trường. Các chất thải này sau một thời gian để ngoài tự nhiên nó bị phân hủy sinh học tạo ra mùi hôi, thối cho môi trường xung quanh [3]. Sự cần thiết có một chế phẩm vi sinh chuyên dụng có khả năng phân giải xenluloza và lignin để xử lý bã thải

cây gai làm sạch môi trường, đồng thời tạo ra một lượng phân bón hữu cơ cung cấp trở lại cho đất trồng gai đảm bảo độ phì nhiêu của đất [3] và sự phát triển bền vững của nhà máy sản xuất sợi trong tương lai.

2. Mục tiêu của đề tài

Mục tiêu của đề tài là phân lập và tuyển chọn được những chủng vi sinh vật phân giải nhanh xenluloza và lignin để sản xuất chế phẩm vi sinh xử lý bã thải cây gai xanh.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Khảo sát tình hình sản xuất, chế biến cây gai xanh và thu thập mẫu vi sinh vật

- Thu thập số liệu thứ cấp về tình hình sản xuất cây Gai xanh, nguồn bã thải cây Gai xanh sau khi đã lấy vỏ làm sợi.

- Thu thập mẫu để phân lập vi sinh vật (VSV): Nhóm nghiên cứu đã lấy 9 mẫu tại 3 huyện có diện tích trồng nhiều cây Gai xanh là Thọ Xuân, Cẩm Thủy, Như Xuân tỉnh Thanh Hóa để tìm kiếm vi sinh vật phân giải xenluloza và lignin - hai thành phần chính khó phân hủy có trong bã thải cây Gai xanh. Trong đó có 3 mẫu đất lấy từ đất trồng cây Gai xanh, 3 mẫu bã thải cây Gai xanh lấy từ bã thải cây Gai xanh đang trong giai đoạn phân hủy hoại mục và 3 mẫu rơm lấy từ rơm hoại mục.

3.2. Phân lập và tuyển chọn VSV có khả năng phân giải bã thải cây Gai xanh

* Phân lập và tuyển chọn VSV phân giải hợp chất xenluloza và lignin

Theo phương pháp 6 bước với dung dịch ở các nồng độ từ 10^{-4} đến 10^{-6} nhỏ và dàn đều trên đĩa petri chứa môi trường Gauze I và Hans [3]. Để trong tủ ẩm ở nhiệt độ 28 °C, 37 °C trong 24h-48h sao cho có thể thấy rõ các khuẩn lạc riêng biệt. Các khuẩn lạc có hình dạng, màu sắc khác nhau được tách riêng, làm thuần và giữ trong ống nghiệm để dùng cho thí nghiệm sau.

* Tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenluloza và lignin cao

- Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học: Sử dụng phương pháp xác định hoạt tính CMC-aza (Williams, 1983)[7].

Sinh khối các chủng vi sinh vật sau khi nuôi cấy 48h được li tâm lắng gạn bỏ phần cặn lắng và nhỏ 1ml vào các lỗ thạch đã được chuẩn bị sẵn trên các đĩa petri chứa môi trường CMC đặc. Lưu giữ đĩa thạch trong tủ ẩm 24h, sau đó lấy ra và tráng bề mặt thạch bằng dung dịch lugol.

Hoạt tính sinh học được xác định bằng kích thước vòng phân giải, vòng tròn trong suốt bao quanh lỗ thạch (hiệu số giữa đường kính vòng tròn trong suốt (D) và đường kính lỗ thạch (d)).

3.3. Xác định tên loài VSV của các chủng vi sinh vật phân lập

- Phân loại vi sinh vật bằng phương pháp Sequence [3].

- Sử dụng chương trình phần mềm máy tính để đối chiếu. Phân tích và xây dựng cây phát sinh chủng loại bằng phương pháp tối thiểu (Maximum Parsimony- MP method) và phương pháp tiến hoá tối thiểu (Minimum Evolution - ME method) trên cơ sở khoảng cách di truyền theo mô hình Kimura, dựa vào cây phả hệ để xác định được mối quan hệ của các chủng vi sinh vật [3].

- Xác định đặc điểm hình thái của các chủng vi sinh vật lựa chọn thông qua hình thái khuẩn lạc [3].

3.4. Lựa chọn tổ hợp và môi trường để nhân sinh khối VSV

Hai môi trường đối chứng: [4]

1. Môi trường Hans để phân lập và nhân sinh khối vi khuẩn

2. Môi trường Gauze I để phân lập và nhân sinh khối xạ khuẩn

Bốn môi trường sản xuất:

MT1- Sử dụng ri đường thay thế peptone trong môi trường Hans.MT2 - Bổ sung nước chiết đậu vào môi trường Gauze I.

MT3 - Dùng ri đường và bột đậu tương thay Glucose và cao men trong Gauze I

MT4 - Sử dụng cám gạo thay tinh bột tan trong môi trường Gauze I.

- Điều kiện lên men: $t^0 = 30^0C$; pH = 7,0; tốc độ sục khí 0,75 lít không khí/lít môi trường/phút; tỷ lệ giống cấp 1 là 1%.

- Xác định mật độ tế bào (Phương pháp đếm CFU) và hoạt tính sinh học của tổ hợp các VSV (Phương pháp đo kích thước vòng phân giải).

- Đánh giá khả năng tổ hợp của các chủng vi sinh vật

4. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

4.1. Phân lập và tuyển chọn chủng VSV phân giải hợp chất lignin, xenlulozo để xử lý bã thải cây Gai xanh

4.1.1. Phân loại sơ bộ và xác định khả năng phân giải lignin, xenluloza của các chủng VSV phân lập

Từ các mẫu từ đất, rơm rạ hoại mục (có nhiều xenluloza và lignin như bã cây Gai xanh) và bã thải cây gai xanh hoại mục chúng tôi đã phân lập các chủng VSV có khả năng phân giải lignin và xenluloza.

Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 20 chủng VSV, trong đó có 5 chủng VSV phân lập từ đất, 7 chủng phân lập từ rơm rạ, 8 chủng VSV được phân lập từ bã thải cây gai xanh.

Bảng 3.1. Nguồn gốc và số lượng VSV được phân lập

STT	Nguồn gốc phân lập	Số lượng (chủng)	Ký hiệu
1	Đất trồng cây gai xanh	5	ĐT01, ĐT02, ĐT03, ĐT04, ĐT05
2	Rơm rạ hoai mục	7	RR01, RR02, RR03, RR04, RR05, RR06, RR07
3	Bã gai xanh hoai mục	8	BG01, BG02, BG03, BG04 BG05, BG06, BG07, BG08
	Tổng	20	

Từ 20 chủng VSV phân lập được tiến hành phân loại sơ bộ và định tính khả năng phân giải xenluloza và lignin. Kết quả tại bảng 3.2 cho thấy trong 20 chủng VSV được phân lập, có 9 chủng VSV có hoạt tính phân giải xenluloza, có 5 chủng VSV có hoạt tính phân giải cả xenluloza và lignin.

Trong 9 chủng phân giải xenluloza có 03 chủng VSV có nguồn gốc phân lập từ đất, 03 chủng VSV có nguồn gốc phân lập từ bã thải cây gai phân hủy và 03 chủng VSV phân lập từ rơm rạ phân hủy. Từ kết quả đánh giá sơ bộ trên, chúng tôi sử dụng 9 chủng VSV này sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo

Bảng 3.2. Phân loại sơ bộ và xác định khả năng phân giải xenluloza của các chủng VSV phân lập

STT	Kí hiệu chủng VSV phân lập	Nhóm VSV	Hoạt tính phân giải xenluloza	Hoạt tính phân giải lignin
1	ĐT01	Vi khuẩn	+	-
2	ĐT02	Vi khuẩn	+	-
3	ĐT03	Vi khuẩn	+	-
4	ĐT04	Vi khuẩn	-	-
5	ĐT05	Nấm mốc	-	-
6	RR01	Xạ khuẩn	+	+
7	RR02	Xạ khuẩn	-	-
8	RR03	Xạ khuẩn	-	-
9	RR04	Xạ khuẩn	+	+
10	RR05	Vi khuẩn	+	+
11	RR06	Vi khuẩn	-	-
12	RR07	Nấm mốc	-	-
13	BG01	Nấm mốc	-	-
14	BG02	Vi khuẩn	-	-
15	BG03	Vi khuẩn	-	-
16	BG04	Xạ khuẩn	+	-
17	BG05	Xạ khuẩn	+	+
18	BG06	Xạ khuẩn	-	-
19	BG07	Vi khuẩn	-	-
20	BG08	Xạ khuẩn	+	+

Ghi chú: “-” không có hoạt tính phân giải; “+” có hoạt tính phân giải

4.1.2. Tuyển chọn chủng VSV có hoạt tính phân giải lignin, xenluloza cao

Trên cơ sở kết quả phân lập được 9 chủng vi sinh vật, đề tài tiến hành tuyển chọn các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải lignin và xenluloza cao sử dụng làm nguyên liệu cho các nghiên cứu

tiếp theo. Hoạt tính phân giải xenluloza của các chủng VSV phân lập được đánh giá thông qua đường kính vòng phân giải xenluloza và vòng phân giải lignin trên môi trường thạch đĩa bằng phương pháp đục lỗ thạch. Kết quả tuyển chọn của các chủng vi sinh vật được tổng hợp tại bảng 3.3

Bảng 3.3. Kết quả xác định hoạt tính phân giải xenluloza và lignin của các chủng VSV phân lập

STT	Ký hiệu chủng VSV phân lập	Đường kính vòng phân giải xenluloza (D-d) (mm)	Đường kính vòng phân giải lignin (D-d) (mm)
1	ĐT01	17,0	-
2	ĐT02	21,0	-
3	ĐT03	11,0	-
4	RR01	5,0	3,0
5	RR04	16,0	5,0
6	RR05	14,0	7,0
7	BG04	3,0	-
8	BG05	12,0	15,0
9	BG08	22,0	6,0

Ghi chú: “-” không có hoạt tính phân giải

Kết quả tập hợp trong bảng 3.3 cho thấy các chủng VSV lựa chọn không có hoạt tính phân giải lignin là ĐT01, ĐT02, ĐT03, BG04. Các chủng VSV có hoạt tính phân giải lignin và xenluloza thấp là RR01 và BG04, đường kính vòng phân giải nhỏ chỉ từ 3,0-5,0 mm. Các chủng còn lại đều có hoạt tính phân giải xenluloza và lignin cao, đường kính vòng xenluloza là 21-22 mm và lignin là 5-15 mm. BG08 có đường kính vòng phân giải xenluloza cao nhất 22,0 mm, BG05 có đường kính vòng phân giải lignin lớn nhất là 15,0 mm.

4.1.3. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các chủng vi sinh vật lựa chọn

Kết quả quan sát đặc điểm hình thái khuẩn lạc của 9 chủng vi sinh vật hữu ích đã tuyển chọn được thể hiện ở bảng 3.4. Qua bảng cho thấy đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các chủng VSV hữu ích khác nhau là rất khác nhau, các chủng VSV trong cùng một giống có màu sắc và hình dạng khuẩn lạc khác nhau. Qua đó cho thấy quần thể VSV hữu ích trong nghiên cứu này tại Thanh Hóa là rất đa dạng, đây là nguồn vật liệu phong phú để sản xuất chế phẩm vi sinh tại địa phương.

Bảng 3.4. Đặc điểm hình thái của các chủng vi sinh vật hữu ích

STT	Ký hiệu chủng	Tên định danh	Đặc điểm hình thái
1	ĐT01	<i>Bacillus. sp</i>	Lồi, có mùi, tâm trắng đục, mép trắng trong
2	ĐT02	<i>Azotobacter. sp</i>	Tròn lồi, nhày, trắng trong
3	ĐT03	<i>Pseudomonas. sp</i>	Tròn, nhày, tâm lồi có màu vàng, mép vàng nhạt
4	RR01	<i>Streptomyces. sp</i>	Tròn lồi, phát hồng ở tâm, mép trắng, sợi bóng
5	RR04	<i>Streptomyces. sp</i>	Tròn dẹt, trắng xám, tâm và mép trắng, sợi bóng
6	RR05	<i>Pseudomonas. sp</i>	Tròn, nhày, tâm lồi có màu vàng, mép vàng nhạt

STT	Ký hiệu chủng	Tên định danh	Đặc điểm hình thái
7	BG04	<i>Streptomyces. sp</i>	Tròn dẹt, trắng, sợi bóng
8	BG05	<i>Streptomyces. sp</i>	Tròn dẹt, trắng xám, tâm và mép trắng, sợi bóng
9	BG08	<i>Streptomyces. sp</i>	Tròn dẹt, tâm và mép trắng, sợi bóng

4.2. Đánh giá khả năng tổ hợp của các chủng vi sinh vật lựa chọn

Từ những chủng VSV hữu ích đã phân lập được ở trên, chúng tôi tiến hành lựa chọn tổ hợp chủng VSV thích hợp theo phương pháp cấy vạch tiếp xúc giữa các chủng vi sinh vật trên môi trường đặc hiệu. Các tổ hợp VSV sẽ được sử dụng làm nguồn giống cho sản xuất chế phẩm vi sinh xử lý bã cây gai xanh sau này.

Qua kết quả ở bảng 3.5 cho thấy 9 chủng VSV hữu ích phân lập được, có khả năng sinh trưởng phát triển trên cùng một môi trường sống. Đa số các chủng đều không gây ức chế sinh trưởng và phát triển của chủng khác, tuy nhiên trong 9 chủng VSV hữu ích thì có 2 chủng có hiện tượng ức chế nhẹ lẫn

nhau là chủng ĐT02 và chủng RR01; chủng BG04 và chủng ĐT03. Điều này xảy ra có thể là do trong quá trình sinh trưởng và phát triển, một trong hai chủng VSV này đã thải ra môi trường sống các sản phẩm trao đổi chất gây ức chế sự sinh trưởng và phát triển của chủng kia hoặc cũng có thể do khả năng sinh trưởng và phát triển của một chủng vi sinh vật nào đó kém hơn các chủng kia nên không thể cạnh tranh được dinh dưỡng và môi trường sống nên bị ức chế. Từ kết quả đánh giá tương tác giữa các chủng vi khuẩn trên, chúng tôi chọn ra tổ hợp VSV có khả năng tương tác và có hoạt tính sinh học cao nhất để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo. VSV được chọn có 3 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* (RR04, BG05, BG08) và một chủng vi khuẩn *Pseudomonas* (RR05).

Bảng 3.5. Khả năng tương tác của các chủng vi sinh vật hữu ích

	ĐT01	ĐT02	ĐT03	RR01	RR04	RR05	BG04	BG05	BG08
ĐT01		-	-	-	-	-	-	-	-
ĐT02	-		-	±	-	-	-	-	-
ĐT03	-	-		-	-	-	-	-	-
RR01	-	-	-		-	-	-	-	-
RR04	-	-	-	-		-	-	-	-
RR05	-	-	-	-	-		-	-	-
BG04	-	-	±	-	-	-		-	-
BG05	-	-	-	-	-	-	-		-
BG08	-	-	-	-	-	-	-	-	

Chú thích: (-) phát triển bình thường; (±) ức chế nhẹ; (+) ức chế mạnh

4.3. Lựa chọn môi trường nhân sinh khối của các chủng vi sinh vật được lựa chọn

Trong quá trình lên men nhân sinh khối VSV, việc nghiên cứu lựa chọn môi trường dinh dưỡng có ý nghĩa hết sức quan trọng.

Chúng tôi sử dụng 4 môi trường là MT1, MT2, MT3, MT4 với các thành phần dinh dưỡng khác nhau nhằm lựa chọn được một loại môi trường sản xuất thích hợp cho các chủng VSV. Hai loại môi trường đối chứng là Hans và Gause I. Kiểm tra mật độ tế bào vi sinh trên các loại môi trường nghiên cứu, kết quả thu được tổng hợp ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Mật độ tế bào VSV trên các loại môi trường nghiên cứu

Ký hiệu chủng	Mật độ tế bào các chủng VSV hữu ích (CFU/ml)					
	Hans	Gauze	MT 1	MT 2	MT 3	MT4
RR04	-	$4,7 \cdot 10^8$	$5,2 \cdot 10^7$	$4,3 \cdot 10^8$	$4,4 \cdot 10^7$	$7,5 \cdot 10^6$
RR05	$1,2 \cdot 10^9$	-	$2,0 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^9$	$2,7 \cdot 10^8$	$5,2 \cdot 10^7$
BG05	$1,2 \cdot 10^9$	-	$2,6 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^9$	$4,0 \cdot 10^8$	$4,5 \cdot 10^7$
BG08	$1,5 \cdot 10^9$	-	$5,4 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^9$	$1,8 \cdot 10^8$	$5,5 \cdot 10^8$

Ghi chú: (-) Không xác định

Qua bảng 3.6 cho thấy trong 4 môi trường sản xuất đưa vào nghiên cứu thì môi trường sản xuất MT2 là thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của các chủng VSV hữu ích. Ở môi trường sản xuất MT2 thì mật độ tế bào của các chủng đều đạt xấp xỉ hoặc bằng mật độ tế bào khi được nuôi cấy trên môi trường đặc hiệu như Hans và Gause.

Như vậy, sử dụng môi trường sản xuất MT2 để nhân sinh khối sản xuất chế phẩm vi sinh là thích hợp nhất.

5. Kết luận và đề nghị

5.1. Kết luận

Nghiên cứu chọn được 4 chủng vi sinh vật có khả năng tương tác tốt và có hoạt tính phân giải xenluloza và lignin cao để sản xuất chế phẩm vi sinh phân giải bã thải cây gai xanh là 3 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp *RR04*, *Streptomyces* sp *BG05*, *Streptomyces* sp *BG08* và một chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp *RR05*.

Các chủng *Streptomyces* sp *RR04*, *Streptomyces* sp *BG05*, *Streptomyces* sp *BG08*, *Pseudomonas* sp *RR05* có hoạt tính xử lý xenluloza và lignin tốt nhất trong điều kiện môi trường lên men MT2.

5.2. Đề nghị

- Đây là kết quả nghiên cứu bước đầu phân lập, tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân giải tốt xenluloza và lignin thành phần chính có trong bã cây gai xanh.

- Để đánh giá được toàn diện các chủng VSV đã lựa chọn được đề tài cần tiếp tục nghiên cứu: xác định các điều kiện cụ thể nhân sinh khối phù hợp; xác định hoạt tính đối kháng của VSV; đánh giá an toàn sinh học các chủng vi sinh vật đã tuyển chọn; đánh giá khả năng phân giải lân, tổng hợp IAA, tính đối kháng một số bệnh trên cây gai xanh.

- Tiếp tục nghiên cứu triển khai sản xuất chế phẩm sinh học, xây dựng quy trình sản xuất phân bón hữu cơ từ bã thải cây gai xanh.

REFERENCES

- [1] Chinh, T. T., Chinh, T. K., Tam, N. T., Thuc, H. T. (2012). *Technology of planting, caring, collecting and preserving products from rami*. Agriculture Publishing House.
- [2] The Ministry of Science and Technology announced. (2011). *National standard, TCVN 8741:2011*. Agricultural microbiology - Short - term preservation method.
- [3] Chinh, L. H. (2001). *Medical Microbiology*. Medical Publisher.
- [4] Connie, R., Mahon, M. S., George Manuselis, J. R. (1995). *Diagnostic Microbiology*. WB Saunder Company.
- [5] Howard, L., Ypdyke, Elaine, L., James, O. (1970). *Mycotic, and parasitic infections, 5th. Bodily*. Diagnostic Procedures for Bacterial, American Public Health Association, Inc., New York.
- [6] Williams and Wilkins Co. (1986). *Bergey- Manual of systematic bacteriology*.
- [7] Son La province. (2018). Prospects for the development of rami in Moc Chau district. <http://www.mocchau.sonla.gov.vn/.../4354>.
- [8] Young agriculture. (2018). Technology of growing green rami. <http://www.nongnghieptre.com>
- [9] Agriculture – Forestry – Fisheries. (2018). Selected green rami brochure. Agriculture. <https://tailieu.vn>.
- [10] Agricultural extension Cultivation. (2018). Quang Ngai: Experimental planting of green rami - Agriculture Newspaper. <https://nongnghiep.vn>.
- [11] Scientific database system. (2018). Research and development of green rami. <http://elib.dostquangtri.gov.vn>.