

Chất kích thích sinh học thực vật: Đánh giá phân loại, ý nghĩa của chúng đối với canh tác cây trồng và các chỉ số sức khỏe đất

Tác giả: Connor N. Sible, Juliann R. Seebauer và Frederick E. Below

Phòng Thí nghiệm Sinh lý Cây trồng, Khoa Khoa học Cây trồng, Đại học Illinois, Urbana, IL 61801, Mỹ

Hiệu chỉnh khoa học: Youssef Rouphael, Giuseppe Colla và Juan Jose Rios

Tap chí Agronomy 2021, 11(7), 1297; <https://doi.org/10.3390/agronomy11071297>

Dịch thuật Đỗ Thị Thanh Trúc

Tóm tắt

Chất kích thích sinh học thực vật là sản phẩm đặc biệt được sử dụng để tăng sản lượng cây trồng và đang nhanh chóng trở nên phổ biến trên thị trường hạt giống nông nghiệp và hóa chất. Không giống như các nguyên liệu đầu vào cho cây trồng truyền thống, chẳng hạn như phân bón hoặc thuốc trừ sâu, chất kích thích sinh học đặc biệt ở chỗ là sản phẩm duy nhất có thể có nhiều cách để ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và phát triển của cây trồng dựa trên cả thời điểm và nơi áp dụng. Tổng quan này trình bày tóm tắt về hiện trạng và mô tả về các chất kích thích sinh học thực vật với các tài liệu hiện có về việc sử dụng chúng trong sản xuất cây trồng theo hàng như ngô (*Zea mays* L.), đậu tương (*Glycine max* (L.) Merr.), lúa mì (*Triticum aestivum*) và các loài cây trồng chính khác. Chất kích thích sinh học có nhiều tiềm năng để cải thiện sản xuất cây trồng thông qua việc nâng cao năng suất, chất lượng hạt và tăng tính bền vững của hệ thống sản xuất nông nghiệp, đặc biệt là liên quan đến quản lý chất dinh dưỡng. Tuy nhiên, có sự khác biệt lớn về hiệu quả của các chất kích thích sinh học và sự hiểu biết hạn chế về các cơ chế chịu trách nhiệm trong các tình huống được thử nghiệm đồng ruộng nơi có sự khác biệt được quan sát thấy. Những cơ chế chưa biết này có thể phù hợp với các chỉ số sức khỏe của đất đã được công nhận, tạo cơ hội cho tiềm năng kích thích sinh học chưa được thực hiện ngoài sự tăng trưởng và phát triển của cây trồng. Đánh giá này nhằm mục đích xác định các loại chất kích thích sinh học cây trồng chiếm ưu thế, những hiểu biết đã biết về phương thức hoạt động của chúng và các ví dụ về hiệu quả hiện tại trên đồng ruộng với triển vọng cho tương lai của chúng.

Từ khóa: [chất kích thích sinh học](#); [biologicals](#); [dịch chiết rong biển](#); [axit hữu cơ](#); [BNF](#); [PSB](#); [AMF](#); [sức khỏe đất](#)

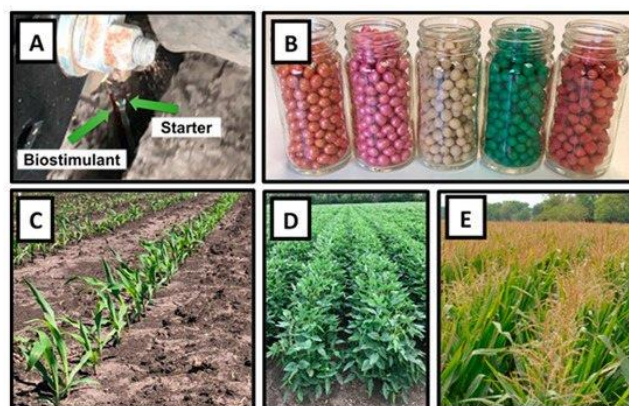
1. Mở đầu

Chất kích thích sinh học thực vật là thuật ngữ phổ biến nhất để chỉ một số sản phẩm đặc biệt được sử dụng vì lợi ích của canh tác cây trồng, các tên phân loại khác để mô tả các sản phẩm này bao gồm phân bón sinh học, chế phẩm sinh học thực vật, chất kích thích sinh học và chất tăng cường trao đổi chất [1, 2, 3, 4, 5]. Mặc dù chúng không được xác định bởi bất kỳ cơ quan liên bang nào của Hoa Kỳ, Dự luật Nông trại Hoa Kỳ năm 2018 đã mô tả chất kích thích sinh học là “một chất hoặc vi sinh vật, khi được áp dụng cho hạt giống, cây trồng hoặc thân rễ, sẽ kích thích các quá trình tự nhiên để tăng cường hoặc có lợi cho việc hấp thu chất dinh dưỡng, hiệu quả sử dụng dinh dưỡng, khả năng chống chịu với căng thẳng phi sinh học hoặc chất lượng và năng suất cây trồng” [6]. Với mô tả hiện tại này, cùng với một phác thảo toàn diện được cập nhật về những gì để phân biệt chất kích thích sinh học và chất điều hòa sinh trưởng thực vật, EPA đã lấy ý kiến công chúng vào tháng 11 năm 2020 và cho đến nay, vẫn đang được xem xét dự thảo [7]. Ngược lại với Hoa Kỳ, Liên minh Châu Âu đã xác định chất kích thích sinh học và xem chúng như một loại sản phẩm riêng biệt theo quy định về sản phẩm phân bón. Cách tiếp cận của họ là dựa trên công bố, trong đó quy định về sản phẩm được xác định bởi cách sản phẩm hoạt động và không được xác định bởi thành phần của nó [8]. Chất kích thích sinh học đã được sử dụng trong thương mại nông nghiệp trong nhiều thập kỷ, nhưng trong những năm gần đây, số lượng các sản phẩm này được cung cấp và sử dụng đã tăng lên rõ rệt. Thị trường toàn cầu cho

các sản phẩm này ước tính đạt 2,6 tỷ USD vào năm 2019 với giá trị dự kiến vào năm 2025 là hơn 4 tỷ USD [9]. Các sản phẩm kích thích sinh học được liệt kê phổ biến bao gồm chất chiết xuất từ rong biển, axit hữu cơ, vi sinh vật có lợi (vi khuẩn và nấm), chất thủy phân protein hoặc axit amin, và chitosan [10, 11, 12] và các loại ít phổ biến hơn nhưng đang phát triển bao gồm chất chiết xuất từ vi sinh vật, than sinh học và các enzym cô đặc. Ngoài trừ các enzym đậm đặc, các chất kích thích sinh học còn lại khác nhau rất nhiều trong thành phần của các sản phẩm riêng lẻ, điều này thường không hoàn toàn được biết đến. Khoảng trống kiến thức này là do nguồn gốc sinh học của các sản phẩm này có chứa nhiều thành phần, nơi mà giả thuyết cho rằng hoạt động có lợi của sản phẩm là kết quả của sự hiệp đồng giữa các thành phần chứ không phải riêng lẻ thành phần nào [13, 14]. Theo nghiên cứu của Yakhin và cộng sự [14], sức mạnh tổng hợp giữa các thành phần trong một sản phẩm gây khó khăn trong việc xác định chính xác các cơ chế chịu trách nhiệm tạo ra phản ứng của cây trồng và do đó, một cách tiếp cận tốt hơn để mô tả động thái của kích thích sinh học phải dựa trên hiệu quả khi ứng dụng chúng. Vì vậy, phần còn lại của tổng quan này sẽ tập trung vào tác động nông học của các chất kích thích sinh học được áp dụng đối với canh tác cây trồng theo hàng (như ngô) và mối quan hệ tiềm năng của chúng với sức khỏe của đất và các chỉ số khác.

2. Cách sử dụng và phương thức áp dụng

Các chất kích thích sinh học thương mại được sử dụng đầu tiên đối với cây trồng đặc sản, có tiềm năng lợi nhuận cao hơn so với cây trồng theo hàng [15]. Các cây trồng đặc sản thường nhạy cảm hơn trước các tác nhân môi trường [16], vì lý do này, lợi tức đầu tư tiềm năng của chất kích thích sinh học sẽ lớn hơn đối với những cây trồng dễ bị tác động bởi khí hậu. Tuy nhiên, tổng diện tích thu hoạch ngô, đậu tương và lúa mì trong năm 2018 lần lượt là 84,8 và 53,0 triệu ha ở Hoa Kỳ và Brazil – lớn hơn gấp 3,2 lần so với tổng diện tích tất cả các loại cây trồng khác được thu hoạch ở hai quốc gia này tương ứng là 25,6 và 17,2 triệu ha [17]. Điều này tạo nên triển vọng cung cấp một thị trường lớn hơn cho chất kích thích sinh học. Cơ hội để mở rộng việc sử dụng các sản phẩm này trong sản xuất nông nghiệp là áp dụng chúng kết hợp với các thực hành quản lý nông học đã được thiết lập, chẳng hạn như với giấy phép cho người trồng sử dụng thuốc diệt cỏ hoặc thuốc diệt nấm (Hình 1.)



Hình 1. Các giai đoạn sinh trưởng của thực vật đại diện cho cơ hội “free-ride” tiềm năng cho việc ứng dụng chất kích thích sinh học với những phương thức quản lý khác đối với hệ thống cây trồng theo hàng. (A) Thời kỳ trồng ở dạng dung dịch trong rãnh. (B) Giai đoạn hạt khi xử lý hạt. (C) Thời điểm sử dụng thuốc trừ cỏ trong giai đoạn sớm (~giai đoạn V5 ở ngô và đậu tương).

(D) Thời điểm sử dụng thuốc diệt nấm đối với đậu tương (~giai đoạn R3). (E) Thời điểm sử dụng thuốc diệt nấm ở ngô (giai đoạn VT/R1).

Bao gồm ứng dụng chất kích thích sinh học với thực hành quản lý tiêu chuẩn hiện tại cung cấp cái gọi là “free-ride” cho sản phẩm, vì không có chi phí phát sinh khi ứng dụng. Ví dụ, việc canh tác cây trồng mang lại cơ hội áp dụng chất kích thích sinh học thông qua xử lý theo rãnh hoặc xử lý hạt giống. Mức độ tiềm năng của việc sử dụng chất kích thích sinh học này được đánh giá cao sau khi áp dụng việc sử dụng thuốc diệt cỏ trên 98 và 99% diện tích ngô và đậu tương ở Hoa Kỳ vào năm 2008 và tiếp theo đó là sử dụng bằng thuốc diệt nấm hoặc thuốc trừ sâu trên khoảng 10% diện tích ngô và đậu tương trong cùng năm [18]. Một đánh giá sâu rộng về chất kích thích sinh học của Wozniak và cộng sự [19] liên quan đến 126 thử nghiệm và tổng cộng 380 lần xử lý chất kích thích sinh học thực vật cho thấy 60% sử dụng dưới dạng phun qua lá, 30% bón vào đất và 10% ở hình thức xử lý hạt giống. Trong khi sử dụng qua lá là phổ biến nhất, câu hỏi về thời điểm phun và phương pháp sử dụng nào là tốt nhất cho một chất kích thích sinh học nhất định phần lớn phụ thuộc vào sản phẩm được sử dụng và mục đích sử dụng chúng. Một trong những thách thức lớn nhất đối với việc tích hợp chất kích thích sinh học vào hệ thống trồng trọt là khả năng tương thích của sản phẩm với các nguyên liệu đầu vào khác như phân bón và/hoặc thuốc trừ sâu. Với nhiều sản phẩm và hóa chất trên thị trường như hiện nay, hạn chế và khó khăn là về mặt kiến thức và việc nghiên cứu đặc điểm của các tương tác tiềm ẩn có thể xảy ra khi sử dụng tại đồng ruộng. Hơn nữa, các chất kích thích sinh học có thể phản ứng khác nhau dựa trên giai đoạn phát triển của cây trồng tại thời điểm áp dụng hoặc tương tác với các điều kiện khí hậu nơi nhiệt độ và lượng mưa khác nghiệt có thể ảnh hưởng đến phản ứng của cây trồng. Việc áp dụng đúng cách đòi hỏi kiến thức về các loại chất kích thích sinh học khác nhau, bao gồm, chúng là gì, chúng ảnh hưởng như thế nào đến sự tăng trưởng và phát triển của cây trồng và trong tình huống áp dụng nào thì chúng cho hiệu quả cao nhất.

3. Đánh giá về danh mục chất kích thích sinh học

3.1. Dịch chiết rong biển

3.1.1. Thành phần và cơ chế

Loại chất chiết xuất từ rong biển đại diện cho một nhóm lớn các chất kích thích sinh học đến từ quá trình chế biến các loài tảo khác nhau, thường là từ macroalgae (rong biển). Các loài được sử dụng khác nhau về thành phần và được xem như là các sản phẩm kích thích sinh học (Bảng 1.). Rong biển là một nguồn tài nguyên tái tạo và những loài tảo được sử dụng để sản xuất chất kích thích sinh học sẽ được giám sát chặt chẽ cho thu hoạch liên tục để duy trì nguồn cung cấp [20]. Các sản phẩm thương mại khác nhau rất nhiều trong thành phần, điều này phụ thuộc vào loài tảo được chọn, giai đoạn thu hoạch và quy trình chiết xuất độc quyền được sử dụng bởi các công ty riêng lẻ [21]. Phương pháp chiết xuất phổ biến nhất là thủy phân kiềm, trong khi các phương pháp khác bao gồm thủy phân axit, nền tảng là nước với sự hỗ trợ vi sóng, siêu âm, enzyme, chất lỏng siêu tới hạn và dịch chiết dạng lỏng nén [22].

Rong biển khác với các sản phẩm có nguồn gốc hữu cơ khác ở chỗ có nhiều cacbohydrat cụ thể như alginate, fucoidan và laminarin, có nhiều trong tảo nâu, carrageen trong tảo đỏ và ulvan có nguồn gốc từ tảo lục [23]. Fucoidan, carrageen và ulvan là những hợp chất bị sulfat hóa nặng và quá trình chiết xuất là chìa khóa để giảm thiểu sự phát triển của các hợp chất sulfhydryl có thể ức chế sự phát triển của cây trồng [24]. Những tác động tích cực của việc áp dụng các thành phần chiết xuất rong biển cho cây trồng phần lớn liên quan đến việc giảm căng thẳng vì

chúng được biết là có tác dụng chống oxy hóa, có thể làm giảm tổn thương tế bào do các loại oxy phản ứng (ROS) xảy ra trong thời gian căng thẳng phi sinh học hoặc sinh học.

Bảng 1. Tóm tắt về các loài rong biển chính được sử dụng trong các chất kích thích sinh học thương mại. 69 sản phẩm riêng lẻ đã được xác định và nhóm theo các loài rong biển được liệt kê là thành phần hoạt tính. Dữ liệu được tổng hợp từ Khan và cộng sự [25] (n = 25); Sharma và cộng sự. [26] (n = 28); và được bổ sung bằng các sản phẩm bổ sung (n = 16) mà trước đây chưa có.

| Loài | Màu sắc | Phần trăm sản phẩm được khảo sát (*) |
|--------------------------------|---------|--------------------------------------|
| <i>Ascophyllum nodosum</i> | Nâu | 63.7 |
| <i>Laminaria</i> spp. | Nâu | 8.6 |
| <i>Durvillaea</i> spp. | Nâu | 7.2 |
| <i>Ecklonia</i> spp. | Nâu | 4.3 |
| <i>Fucus</i> spp. | Nâu | 2.9 |
| <i>Macrosystis pyrifera</i> | Nâu | 2.9 |
| <i>Lithothamnium calcareum</i> | Đỏ | 1.4 |
| Chưa phân loại | - | 15.9 |

(*) Tổng tỷ lệ phần trăm cộng lại lên đến hơn 100 phần trăm vì một số sản phẩm chứa nhiều loài.

Ngoài cacbohydrat, chất chiết xuất từ rong biển còn chứa các kích thích tố thực vật như brassinosteroid, polyamine và betaine [27]. Chính sự kết hợp phức tạp của các hợp chất này đã tạo ra các phản ứng có lợi cho cây trồng như cải thiện sự phát triển của cây trồng, khả năng chống chịu với các áp lực phi sinh học và sinh học, đồng thời nâng cao chất lượng cây trồng thông qua việc hấp thụ nhiều chất dinh dưỡng hơn. Mặc dù có thể đánh giá phản ứng cụ thể của cây trồng (tăng trưởng, năng suất hạt, hấp thụ chất dinh dưỡng, v.v.), khả năng xác định cơ chế và chất chuyển hóa cụ thể chịu trách nhiệm là rất khó khăn trong các nghiên cứu đồng ruộng do các tương tác của môi trường và thực hành nông nghiệp. Do đó, hiệu quả ứng dụng của chúng được đánh giá tốt nhất thông qua tốc độ tăng trưởng và năng suất cây trồng.

3.1.2. Ứng dụng đồng ruộng và hiệu quả

Việc sử dụng các chất chiết xuất từ rong biển trong nông nghiệp đã được ghi nhận trong thế kỷ đầu tiên khi Columella La Mã sử dụng chúng làm lớp phủ và chất bổ sung ở dạng phân hữu cơ cho các cánh đồng [28]. Phần lớn các ứng dụng của chiết xuất rong biển cho cây trồng theo hàng như hiện nay bao gồm hình thức bón qua lá với phương thức hoạt động mục tiêu là giảm thiểu căng thẳng phi sinh học liên quan đến điều kiện môi trường, chủ yếu bao gồm khả năng chịu hạn. Cũng đã có hướng tập trung mới vào việc ứng dụng đối với đất để tăng cường sự phát triển bộ rễ và hoạt động của vi sinh vật trong vùng rễ. Việc sử dụng các chất chiết xuất từ rong biển đã được xem xét và báo cáo rộng rãi để tăng sự phát triển của thực vật, tăng hấp thụ chất dinh dưỡng và năng suất ngũ cốc do hormone thực vật trong sản phẩm, giảm thiểu căng thẳng và/hoặc điều chỉnh quá trình trao đổi chất của thực vật [24, 25, 29, 30]. Tuy nhiên, việc thiếu các công trình nghiên cứu về khả năng tăng trưởng và giảm năng suất không có nghĩa là các sản phẩm chiết xuất từ rong biển luôn cải thiện năng suất cây trồng, vì hầu hết các nghiên

cứu trước đây đều tập trung vào sự khác biệt giữa việc được xử lý và không được xử lý và có một số nghiên cứu hạn chế về tương tác của chiết xuất rong biển với các thực hành nông học khác tại đồng ruộng.

Sự phong phú của các nghiên cứu xác định một loạt lợi ích làm nổi bật tính linh hoạt của các chất chiết xuất từ rong biển và các phản ứng được tìm thấy. Vì những lý do này, cơ hội để sử dụng chiết xuất rong biển trong các hệ thống sản xuất nông nghiệp là rất lớn do sự kết hợp nhiều nguồn gốc rong biển, phương pháp chế biến, thời điểm và vị trí ứng dụng, loại cây trồng và đáp ứng có mục tiêu.

3.2. Axit humic và fulvic

3.2.1. Thành phần và cơ chế

Sự phân hủy chất hữu cơ của vi sinh vật là một quá trình phức tạp tạo ra vô số các sản phẩm phụ khác nhau dọc theo con đường phân hủy [31]. Quan điểm truyền thống của con đường này ngụ ý rằng chất hữu cơ trong đất như một sản phẩm cuối cùng có chứa các hợp chất hóa học ổn định được gọi chung là mùn, bao gồm các chất có khả năng chống lại sự suy thoái tiếp theo. Những chất này thường được phân nhóm thành axit humic (HA) (kiềm tan nhưng không tan trong axit), axit fulvic (hòa tan trong kiềm và axit) và humin (không tan trong kiềm và axit) và cùng với nhau, chúng chiếm tới 60% chất hữu cơ trong đất [32]. Trong khi các quan điểm truyền thống coi các hợp chất này có khả năng chống lại sự phân hủy, một quan điểm gần đây hơn cho rằng sự phân hủy chất hữu cơ là quá trình động và những hợp chất đó trước đây được cho là ổn định trải qua các phản ứng thuận nghịch, do đó, chúng có tiềm năng kích thích hệ vi sinh vật trong đất [33]. Axit humic có thể được lấy từ nhiều nguồn khác nhau, chẳng hạn như vật liệu hữu cơ đã ủ, than bùn, và leonardit [34, 35] và nguồn gốc và giai đoạn phân hủy của axit humic hay fulvic ảnh hưởng đến cấu trúc, thành phần hệ sinh vật đất và ảnh hưởng đến cây trồng [36]. Trong khi axit humic và fulvic khác nhau về chiết xuất kiềm/axit, chúng cũng khác nhau về kích thước phân tử và thành phần nguyên tố, có thể cung cấp cái nhìn sâu sắc về sự khác biệt hiệu quả tiềm năng trong vai trò là chất kích thích sinh học. Axit humic thường có kích thước phân tử lớn hơn, trong khi axit fulvic chứa nhiều nhóm axit cacboxylic chức năng hơn và do đó thường được xem là có số lượng vị trí hoạt động sinh học nhiều hơn trên mỗi phân tử (Bảng 2.) [37].

Bảng 2. Thành phần hóa học của axit humic và fulvic.

| Đặc tính | Axit humic | Axit fulvic |
|--------------------------|-----------------------|--------------------|
| Trọng lượng phân tử | 10,000–100,000 dalton | 1000–10,000 dalton |
| % thành phần chất hữu cơ | | |
| Carbon (C) | 50–60 | 40–50 |
| Hydrogen (H) | 4–6 | 4–6 |
| Nitrogen (N) | 2–6 | 1–3 |
| Oxygen (O) | 30–35 | 44–50 |
| Sulfur (S) | 0–2 | 0–2 |

Mức cacbon (C) cao của các hợp chất hữu cơ này có thể hoạt động như một nguồn năng lượng trực tiếp cho các loài vi sinh vật đất khác nhau, do đó kích thích hoạt động của chúng và có khả năng tạo ra sức sản xuất cao hơn với một loại đất [38]. Axit humic cũng đã được chứng minh là gây ra các hiệu ứng giống như auxin trên thực vật do cấu trúc vòng thơm và chứa N trong cấu trúc [39, 40, 41]. Những tác động của auxin này thường liên quan đến việc tăng sự kéo dài rễ và bắt đầu hình thành lông rễ, điều này có thể dẫn đến sự hấp thu chất dinh dưỡng tăng lên. Các ứng dụng axit humic cũng có thể làm tăng sự hấp thu chất dinh dưỡng vì tăng tính thấm của màng và khả năng cung cấp chất dinh dưỡng tốt hơn thông qua quá trình chelat hóa cation [42, 43]. Sự cải thiện cấu trúc đất thông qua việc tăng độ ổn định đoàn lạp cũng đã được báo cáo từ các ứng dụng axit humic và fulvic [44].

Dịch trích axit humic và fulvic tại phòng thí nghiệm được thực hiện bằng cách sử dụng các dung dịch kiềm hoặc axit ở khoảng pH hiếm khi xảy ra trong môi trường đất tự nhiên tại đồng ruộng. Do đó, điều quan trọng cần lưu ý là việc dịch trích axit humic và fulvic đậm đặc không phản ánh sự phong phú của chúng trong các hệ thống đất tại địa phương; thay vào đó, đó là khả năng cô đặc chúng để tách các sản phẩm thương mại khỏi các axit tự nhiên và chất hữu cơ đã có trong đất và tại sao chúng có thể là chất kích thích sinh học hiệu quả.

3.2.2. Ứng dụng đồng ruộng và hiệu quả

Axit humic và axit fulvic đã được sử dụng làm đầu vào trong sản xuất nông nghiệp trong nhiều năm và đã được nghiên cứu rộng rãi về ảnh hưởng của chúng đối với sự phát triển của cây trồng, cộng đồng vi sinh vật và sự sẵn có của chất dinh dưỡng [45, 46, 47, 48]. Axit humic và fulvic được sử dụng khác nhau như thế nào phụ thuộc vào mục tiêu đã định. Trong các loại cây trồng theo hàng, hai công dụng chính của chúng là cải tạo đất hoặc tăng cường hấp thu chất dinh dưỡng.

Các axit humic và fulvic này đến từ nhiều nguồn và điều này có thể có ảnh hưởng lớn đến hoạt động của các sản phẩm thương mại. Ví dụ, các nguồn phân trộn đã được chứng minh là có tác dụng kích thích sự phát triển của vi sinh vật và sự phát triển sinh dưỡng tiếp theo của rau diếp xoăn (*Cichorium intybus* c.v. Catalogna) khi so sánh với axit humic nguồn gốc từ lignate [49]. Leonardite giàu lưu huỳnh (nguồn axit humic gốc) và axit humic (dạng chiết xuất) đã được tìm thấy để giảm thiểu cả phốt pho (P) và căng thẳng do hạn hán, dẫn đến tăng năng suất khi áp dụng cho việc cải tạo đất trước khi trồng so với đối chứng không được xử lý [50]. Sarir và cộng sự [51] đã áp dụng các tỷ lệ sử dụng axit humic khác nhau bằng các phương pháp ứng dụng khác nhau. Kết quả cho thấy với phương thức phun trên bề mặt đất, năng suất ngô tăng 28% và năng suất cao hơn khi bổ sung axit humic bằng phương thức kết hợp rải hoặc bón theo băng. Nghiên cứu của họ cũng chứng minh sự sẵn có của nitơ (N) và P trong đất tăng lên sau khi bón axit humic, cùng với sự gia tăng hấp thu N của cây sau đó, điều này cho thấy rằng axit humic được bón trong đất có thể kích thích sinh hóa đất liên quan đến chu trình dinh dưỡng. Một phân tích tổng hợp về ảnh hưởng của humic lên trọng lượng rễ và chồi được thực hiện bởi Rose và cộng sự [52] đã tóm tắt các phương thức nhất quán nhất đối với lợi ích về sự tăng trưởng năng suất cây trồng đối với các chất dạng humic được sử dụng. Trong số 390 bài báo trong phần tổng quan ban đầu, 81 nghiên cứu cho rằng trong khi tất cả các nghiên cứu đều đánh giá sự phát triển của rễ và chồi, thì chỉ một số ít theo dõi cây trồng đến giai đoạn trưởng thành và cho năng suất. Những nghiên cứu này đưa ra kết luận, mặc dù nguồn và tỷ lệ của các chất humic là những yếu tố quan trọng trong hoạt động của chúng đối với sự phát triển của cây trồng, nhưng phương pháp áp dụng không phải là một yếu tố có ý nghĩa.

Hơn nữa, humic từ các nguồn phân trộn có hiệu quả hơn so với nguyên liệu từ than bùn và lignite, suy ra rằng với mức N và với tỷ lệ nguồn nguyên liệu cao hơn có thể gây ra những đáp ứng lớn hơn trong sự phát triển của cây trồng. Tất cả dữ liệu thu thập được đều liên quan đến tác động ngắn hạn của việc sử dụng humic đối với sự phát triển của cây trồng, trong khi tác động lâu dài của việc sử dụng lặp lại đối với đặc điểm và sức khỏe của đất không được đánh giá. Ngoài các ứng dụng riêng lẻ, mối quan tâm mới đến việc sử dụng axit humic và fulvic là sự kết hợp chúng với các vi sinh vật có lợi để tạo ra phản ứng tổng hợp cho sự phát triển của cây trồng. Ứng dụng của axit humic đã được chứng minh là làm tăng sản xuất dịch tiết từ rễ ngô, sau đó gia tăng nốt sần để tăng cường hoạt động của vi sinh vật vùng rễ [53]. Các ví dụ khác về phản ứng tổ hợp giữa axit humic, nấm rễ nội cộng sinh (AMF) và vi khuẩn nốt sần thúc đẩy tăng trưởng thực vật (PGPR) đã làm năng suất lúa mì [54]. Tương tự, hỗn hợp vi sinh có lợi với axit humic làm tăng khả năng hấp thu chất dinh dưỡng và năng suất ngô [55]. Axit humic dạng leonardite đã được chứng minh là làm tăng nồng độ N và P trong đất, dẫn đến tăng sinh khối vi sinh vật, tăng trưởng rễ và chồi của ngô [56]. Một thị trường tiềm năng bổ sung cho axit humic và fulvic là ứng dụng của chúng với phân bón, đặc biệt là đạm. Các điện tích âm của axit humic và fulvic cung cấp cation chelate tiềm năng như niken (Ni), là chất cần thiết cho quá trình thủy phân urê bằng men urease [57] và phân đạm phủ humic, được ghi nhận là làm tăng hiệu quả sử dụng phân bón so với phân bón không phủ [58].

Việc sử dụng axit humic và fulvic trong các nghiên cứu đồng ruộng khác nhau và thường thấy rằng sự thành công khi ứng dụng chúng cho việc tăng năng suất ngũ cốc là không nhất quán đủ để so sánh với việc áp dụng đủ lượng phân bón thương mại thông thường. Ngoài ra, có nhiều báo cáo về việc không có lợi ích hoặc thậm chí có tác dụng ngược khi sử dụng axit humic và fulvic ở quy mô đồng ruộng [59, 60]. Tuy nhiên, axit humic và fulvic có thể ảnh hưởng đến sinh hóa đất liên quan đến chu trình N và P, cũng như giữ lại amoni trong đất và cải thiện cấu trúc của đất. Do đó, các quan điểm thay thế cho thị trường axit humic và fulvic là tập trung tốt nhất vào việc quản lý chất dinh dưỡng và khả năng cải thiện sức khỏe của đất. Những quan điểm này được đánh giá tốt nhất trong thời hạn dài, có khả năng cải thiện sức sản xuất đất theo thời gian cùng với việc tăng năng suất cây trồng.

3.3. Vi khuẩn cố định đạm

3.3.1. Các chủng vi sinh vật phổ biến và cơ chế

Nitơ cần thiết cho tất cả các vi sinh vật sống và là chìa khóa cho quá trình sinh tổng hợp các hợp chất quan trọng như protein và axit nucleic. Khí nitơ (N₂) trong khí quyển là nguồn chứa N lớn nhất dễ tiếp cận; tuy nhiên, chỉ một số vi sinh vật (diazotrophs) có thể chuyển hóa N₂ thành dạng hoạt tính sinh học (NH₃) bằng cách chuyển hóa nhờ enzyme nitrogenase (Công thức (1)).



Công thức (1). Phản ứng khử của quá trình khử N trong khí quyển thành NH₃ bởi xúc tác nitrogenase.

Có ba loại phức hợp enzyme nitrogenase khác nhau về đồng yếu tố kim loại của chúng: sắt-sắt (Fe-Fe), molybden-sắt (Mo-Fe), hoặc vanadi-sắt (V-Fe) [61]. Trong khi đồng yếu tố Mo-Fe là phổ biến nhất, không phải tất cả các vi sinh vật đều sử dụng cả ba nitrogenase và như vậy, tính sẵn có của chất đồng yếu tố có thể hạn chế sự cố định N [62]. Hoạt động của nitrogenase bị oxy ức chế không thể đảo ngược, điều này đòi hỏi vi khuẩn phải phát triển các phương pháp bảo vệ enzyme khỏi oxy khi chúng ở trong môi trường hiếu khí. Có nhiều cơ chế mà vi khuẩn có thể

tự cô lập khỏi oxy, với các cơ chế chủ yếu là hình thành dị bào (phổ biến ở vi khuẩn lam trong hệ thống thủy sinh) hoặc nốt sần (liên quan đến cộng sinh vi khuẩn - thực vật, ví dụ, Rhizobia ở cây họ Đậu). Hiểu được cách vi khuẩn cố định đạm tự bảo vệ mình khỏi nồng độ oxy cao là chìa khóa để đưa loài đó vào hệ thống nông học đảm bảo sự cố định N sinh học (BNF) và hiệu quả của sản phẩm. Có nhiều loài từ các quần xã sinh vật khác nhau làm trung gian cho phản ứng trên và những loài này đã được xem xét kỹ lưỡng [63]. Các vi khuẩn cố định đạm phổ biến hơn được sử dụng làm chất kích thích sinh học nông nghiệp được nêu trong Bảng 3.

Bảng 3. Vi sinh vật phổ biến cố định đạm thường được sử dụng làm chất kích thích sinh học và một số loại cây trồng tương ứng điển hình mà chúng được sử dụng.

| Loài vi sinh vật | Kiểu vi khuẩn | Họ | Cây trồng điển hình (**) |
|---|---------------|----------|--------------------------|
| <i>Bradyrhizobium japonicum</i> | Nội cộng sinh | Fabaceae | Đậu nành |
| <i>Rhizobium leguminosarum</i> | Nội cộng sinh | Fabaceae | Đậu nành |
| <i>Azospirillum brasilense</i> (*) | Tự do | Poaceae | Ngô, lúa và lúa mì |
| <i>Azotobacter vinelandii</i> | Tự do | Poaceae | Ngô, lúa và lúa mì |
| <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> | Nội sinh | Poaceae | Mía và ngô |
| <i>Klebsiella variicola</i> | Tự do | Poaceae | Ngô, lúa và lúa mì |

(*) *Azospirillum brasilense* thường được gọi là thành viên của vi khuẩn vùng rễ kích thích sinh trưởng thực vật vì nó được biết đến là nơi sản xuất ra các hormone thực vật, trong khi quá trình cố định nitơ của loài này được thực hiện ở mức N cơ bản.

(**) Lúa: *Oryza sativa*; Mía: *Saccharum officinarum*.

Ước tính 139 đến 175 triệu tấn phân cố định đạm sinh học được hình thành hàng năm (tính trên đất liền) và có tới 60% số đó đến từ các mối quan hệ cộng sinh với thực vật được tìm thấy trong đất canh tác và đồng cỏ [63, 64]. Một đánh giá gần đây đặt những con số này ở 50–70 triệu tấn tại các hệ thống nông nghiệp [65]. Trong khi đó, ước tính về tổng lượng N thu nhận được từ cây họ đậu (Fabaceae) có nguồn gốc từ cố định đạm sinh học nằm trong khoảng từ 23-66% [66, 67, 68].

Một công dụng quan trọng của vi khuẩn cố định đạm trong các hệ thống nông nghiệp là khả năng cộng sinh với cây cỏ (Poaceae) mà theo truyền thống chưa được biết đến là kết hợp với vi sinh vật cố định đạm sinh học để bổ sung N. *Azospirillum brasilense* là một trong những vi khuẩn phổ biến nhất đang được sử dụng thương mại để cung cấp cố định đạm sinh học và nó được nghiên cứu kỹ trong sản xuất hormone thực vật và được phân loại như vi khuẩn vùng rễ cố định đạm thúc đẩy quá trình phát triển cây trồng. Việc sản xuất hormone được hiểu là xảy ra đối với loài này khi kết hợp với thực vật trong hầu hết các môi trường, ngược lại ở những nơi thừa đạm, nó sẽ không cố định đạm [69]. Các công cụ mới đang được sử dụng để chỉnh sửa vi khuẩn cố định đạm về mặt di truyền nhằm phá vỡ các cơ chế khác nhau kiểm soát quá trình điều hòa

gen cố định đạm. Sự hiện diện của N có thể ức chế quá trình cố định đạm sinh học, trong khi việc chỉnh sửa vi sinh vật bỏ qua sự ức chế và cho phép cố định đạm liên tục, do đó phát triển nguồn đạm bổ sung cho các hệ thống canh tác nông học. Những khám phá gần đây bao gồm các vi khuẩn nội sinh thực vật cộng sinh, chúng kết hợp với thực vật bằng cách xâm nhập vào rễ và/hoặc chồi nội bào. Chưa có nghiên cứu để hiểu bằng cách nào vi khuẩn nội sinh thực vật lây nhiễm vào vật chủ mà không làm rõ phản ứng phòng vệ, nhưng mối quan hệ cộng sinh này cho phép vi khuẩn cố định đạm đổi lấy carbohydrate từ thực vật. Trong khi mối quan hệ chính xác của cây ký chủ và vi khuẩn nội sinh thực vật chưa được hiểu đầy đủ thì hầu hết các vi khuẩn nội sinh thực vật được biết đến đều xâm nhập vào các khoảng gian bào, tế bào thực vật chết, mô mạch và nhu mô của vật chủ chứ không phải tế bào sống [70]. Đạm được cố định bởi các vi sinh vật này có thể không được giải phóng cho đến khi vi sinh vật chết và suy thoái và do đó, việc cung cấp đạm cho cây trồng bị trì hoãn thông qua cơ chế giải phóng chậm hơn là sự cộng sinh của quan hệ đối tác tích cực giữa *Rhizobia* và các cây họ đậu [70].

Những thách thức của việc sử dụng vi khuẩn cố định đạm làm chất kích thích sinh học được áp dụng liên quan đến sự đa dạng của các loài có sẵn, nhóm cây trồng liên quan đến vi khuẩn cố định đạm và các chiến lược mà chúng sử dụng để tối ưu hóa cố định đạm sinh học trong môi trường hiếu khí. Những tiến bộ trong các công cụ gen thậm chí còn tăng thêm tiềm năng hơn để tối ưu hóa việc sử dụng vi sinh vật cố định đạm sinh học làm chất kích thích sinh học. Sau khi đã xác định được loài, điều quan trọng là phải biết giới hạn sản xuất đạm của nó đối với tiềm năng cung cấp cho cây trồng, các loài cộng sinh và các yếu tố liên quan đến gen cố định đạm và cơ hội trong điều khiển về mặt di truyền để phát triển thêm chủng vi sinh vật hiệu quả hơn.

3.3.2. Ứng dụng đồng ruộng và hiệu quả

Dễ dàng thấy lợi thế về mặt nông học đối với việc sử dụng vi sinh vật cố định đạm là khả năng bổ sung đạm cho cây trồng, điều này làm giảm một phần nhu cầu cung cấp N từ phân bón. Chìa khóa để tối ưu hóa hiệu quả của nhóm vi khuẩn này là đặt chúng gần gốc cây theo rãnh hoặc xử lý hạt giống. Mối quan hệ giữa vi khuẩn và cây trồng đã được nghiên cứu kỹ đối với họ *Fabaceae* (*Leguminosae*), bao gồm các loại đậu, đậu Hà Lan, cỏ linh lăng và cỏ ba lá [71]. Việc tiêm vi khuẩn vào đậu tương có vai trò chủ yếu của vi khuẩn cố định đạm làm chất kích thích sinh học, trong đó *Bradyrhizobium japonicum* là vi khuẩn hàng đầu. Một phân tích tổng hợp của 339 thử nghiệm *Bradyrhizobium* trên khắp nước Mỹ và Argentina cho thấy, trung bình, năng suất tăng 1,67% và 6,39% đối với đậu tương [72]. Gần đây người ta chú ý hơn đến việc cấy phối hợp, thường là với *Azospirillum* spp. Cấy phối hợp có thể làm tăng số lượng và kích thước nốt sần đậu tương, sinh khối rễ và sự phát triển chồi khi so sánh với chỉ có *Bradyrhizobium*, mặc dù cấy phối hợp không làm tăng hàm lượng N trong hạt hoặc tăng năng suất [73].

Trong khi *Azospirillum* spp. đã được thử nghiệm tại đồng ruộng trong hai thập kỷ qua, các nghiên cứu đánh giá vi khuẩn cố định đạm trên cây cỏ phân lớn chỉ giới hạn ở các thử nghiệm sàng lọc sơ bộ trong nhà kính [74, 75]. Sử dụng việc cấy vi khuẩn *Azotobacter chroococcum* vào hạt ở nhiều mức N đã làm tăng khả năng hấp thu N của ngô, mặc dù không có dữ liệu báo cáo về bất kỳ sự thay đổi năng suất hạt nào [76]. *Azospirillum brasilense* đã được sử dụng ở Brazil để cải thiện sử dụng đạm và năng suất thông qua xử lý hạt giống và làm tăng năng suất và sinh trưởng của cây ngô khi kết hợp với chỉ một nửa tỷ lệ tối ưu của N trong phân bón [77, 78]. Một phân tích tổng hợp về *Azospirillum* spp. chỉ ra rằng năng suất đạt được ở ngô khi bổ sung vi khuẩn cố định N mà không bổ sung nguồn N hóa học chỉ tăng khi bón N [79]. Đối với cả ngô và lúa mì, việc sử dụng vi khuẩn *Klebsiella* đã làm tăng năng suất ở mức bón N và P thấp

hoặc cao [80]. Hầu hết các nghiên cứu hiện tại đều tập trung vào việc cải thiện các thông số cây trồng cùng với việc bổ sung vi sinh vật cố định đạm sinh học, trong khi các tương tác với thực hành nông học khác tương đối chưa được biết đến ngoài thực địa. Một nghiên cứu khác đã chứng minh việc bổ sung phân lân đã ức chế hoạt động của *Azospirillum brasilense* so với chỉ việc cấy vi khuẩn [81]. Khả năng cố định đạm và lưu trữ đạm trong đất thông qua các vi sinh vật cố định đạm sinh học cũng có tiềm năng trong việc cải thiện sức khỏe đất và tỷ lệ C:N bằng cách kích thích hệ vi sinh vật sẵn có trong đất. Việc sử dụng nhóm vi khuẩn cố định đạm sẽ đưa ra khuyến nghị cụ thể cho từng trang trại riêng lẻ để xác định loại và phương pháp ứng dụng vi sinh vật thích hợp trong quản lý nông học để đảm bảo cây trồng có phản ứng tích cực.

3.4. Vi sinh vật phân giải lân

3.4.1. Chúng vi sinh vật và cơ chế

Trong khi P chiếm 0,05% hàm lượng trong đất trồng (w/w), thì chỉ 0,1% P số đó ở dạng hòa tan trong nước hữu hiệu cho cây trồng và vì sự hữu dụng thấp này nên bắt buộc phải bổ sung lân từ phân bón để đáp ứng đủ dinh dưỡng của cây trồng cho năng suất mong muốn [82]. Thật không may, đến 90% lượng phân lân có thể bị cố định trong đất, khiến nó không có sẵn để cây hấp thụ, nhưng vẫn là một phần của đất chứa P. Phospho trong đất ở dạng không hữu dụng có thể được chuyển thành dạng hữu dụng cho cây trồng thông qua hoạt động của nhóm vi sinh vật đất bằng cách hòa tan phosphate vô cơ hoặc khoáng hóa nguồn P hữu cơ. Quá trình hòa tan phosphate vô cơ của vi sinh vật chủ yếu được thực hiện thông qua việc tiết ra các axit hữu cơ [83], điều này có thể làm tăng tính khả dụng của P bằng một trong hai phương pháp: (1) Thông qua quá trình chelate hóa bởi các cation, ví dụ, $Fe^{2+/3+}$ và Ca^{2+} , ngăn cản chúng cố định P hữu dụng; và (2) Bằng cách giảm độ pH của đất, giải phóng các phức P khoáng, đặc biệt là Ca [84]. Việc sản xuất các axit hữu cơ chuyên biệt là khác nhau giữa các loài, nhưng axit gluconic và 2-ketogluconic có xu hướng phổ biến nhất [84]. Vì tất cả các sinh vật đều cần P như một yếu tố cần thiết để tổng hợp các enzym, axit nucleic, nucleotide và phospholipid, nên tất cả các vi sinh vật đều có các chiến lược thu nhận P, mặc dù vậy một số loài vẫn hoạt động hiệu quả hơn những loại khác. Một số vi sinh vật được biết là có khả năng hòa tan P và các nghiên cứu hiện tại chỉ ra rằng nấm *Aspergillus* và *Penicillium* cũng như vi khuẩn *Bacillus*, *Pseudomonas* và *Rhizobium* cho hiệu quả nhất [79]. Trong số các vi khuẩn, nhóm vi khuẩn gram âm có khả năng hòa tan P ở mức độ lớn hơn nhóm gram dương [85]. Để tìm kiếm các ứng cử viên phân giải lân tiềm năng, nhiều nghiên cứu sử dụng tricalcium phosphate làm nguồn P không hòa tan mặc dù nhiều loài vi sinh vật có thể dễ dàng hòa tan nó. Do đó, việc sử dụng đồng thời nhiều nguồn P được khuyến nghị là một lựa chọn tốt hơn để lựa chọn vi khuẩn phân giải lân [86]. Các nguồn này có thể bao gồm Ca-phosphate cho đất kiềm, Fe- hoặc Al-phosphate cho đất chua và phytate cho đất có quỹ P hữu cơ lớn. Một phương pháp khác để tăng mức độ P hữu dụng trong đất là thông qua thủy phân phosphate hữu cơ trong sản xuất các enzym ngoại bào [87]. Mặc dù các cơ chế của quá trình hòa tan P đã được hiểu rõ, nhưng hiệu quả của việc tăng cường các cơ chế đó thông qua quản lý hoặc nhân giống vi sinh vật nhằm tăng sản lượng cây trồng còn ít được biết đến.

3.4.2. Ứng dụng đồng ruộng và hiệu quả

Các vi sinh vật phân giải lân đã được nghiên cứu trong nhiều thập kỷ và được thực hiện trong cả hệ sinh thái tự nhiên và điều kiện phòng thí nghiệm [88, 89, 90]. Tuy nhiên, vi sinh vật phân giải lân gần đây mới được sử dụng trong canh tác cây trồng và tiềm năng thương mại hóa đầy đủ của chúng vẫn chưa được thực hiện [83]. Do mức độ và nguồn gốc của P trong đất khác nhau tùy theo loại đất và phương thức canh tác (bón phân, làm đất và luân canh), việc sử dụng đúng vi sinh vật để tối ưu hóa quá trình hòa tan P cho hệ thống nhất định là rất quan trọng. Việc

sử dụng riêng lẻ của ba chủng vi sinh vật phân giải lân đối với lúa mì đã tăng năng suất lên 19-24%, trong khi việc sử dụng cùng lúc 3 chủng làm tăng năng suất 33% so với đối chứng không được cấy vi khuẩn [91]. *Bacillus megaterium* M3 được xác định là chế phẩm có giá trị nhất (trong số 5 chế phẩm được nghiên cứu) vì nó làm tăng cả ba thông số của chu trình P trong đất: sinh khối vi sinh vật trong đất, hoạt động phosphatase trong đất và sự hấp thụ P của cây trồng [91]. Những chủng khác của *Bacillus megaterium* cũng đã được ghi nhận trong việc làm tăng khả năng hòa tan P và tăng hàm lượng P hữu dụng trong đất, đáng chú ý nhất là tăng năng suất mía lên 12,6% so với đối chứng không được cấy vi khuẩn, đồng thời cho phép giảm 25,0% lượng P từ phân bón mà không làm giảm năng suất so với công thức bón P đầy đủ [92]. Tuy nhiên, các tương tác của nhóm vi sinh vật phân giải lân đối với các cộng đồng vi sinh vật trong tự nhiên và làm thế nào chúng phát huy hiệu quả đối trong môi trường là điều ít được nghiên cứu. Một nghiên cứu trong nhà kính sử dụng nhiều chủng vi khuẩn có và không bổ sung P đối với ngô đã cho kết quả *Bacillus megaterium* tăng cường sự phát triển của ngô trồng trong chậu không vô trùng, trong khi các chủng khác có hiệu quả trong điều kiện vô trùng lại không ảnh hưởng đến sự phát triển của cây trồng trong đất không vô trùng [93]. Nói chung, những phát hiện này chỉ ra rằng *Bacillus megaterium* không chỉ có hiệu quả như một vi khuẩn phân giải lân thông qua khả năng hòa tan P trực tiếp mà còn thông qua khả năng tăng cường hoạt động của các quần thể vi sinh vật phân giải lân trong đất.

Các nghiên cứu bổ sung ở cả kịch bản trong nhà kính và đồng ruộng đã xác định *Aspergillus awamori*, *Bacillus subtilis* và *Pseudomonas putida* là những sinh vật tiềm năng có thể được áp dụng phù hợp với các yếu tố nông học đầu vào khác, chẳng hạn như tưới tiêu và phân bón để đạt hiệu quả cao hơn so với thực hành riêng lẻ [94, 95, 96]. Mặc dù việc sử dụng vi sinh vật phân giải lân trong các hệ thống nông học rõ ràng có tiềm năng làm tăng lượng P có sẵn trong đất, tăng khả năng hấp thụ P của cây trồng và tăng năng suất khi được sử dụng đồng thời với các phương thức canh tác khác, tuy nhiên, thách thức là phải hiểu tương tác môi trường đối với các chủng vi sinh vật để tối ưu hóa việc sử dụng chúng. Ngoài ra, khả năng sử dụng vi sinh vật phân giải lân nhằm cung cấp P cho sự phát triển của cây trồng, thay vì bón phân lân, hướng sử dụng này cũng giảm ô nhiễm P thải ra nguồn nước và còn có thể hỗ trợ sự phát triển của các vi sinh vật khác trong đất.

3.5. Nấm rễ cộng sinh

3.5.1. Hình thái chung và cơ chế

Ai cũng biết rằng nấm đất cùng tồn tại trong các mối quan hệ cộng sinh với cây trồng và những mối tương tác này đã được xem xét đối với nhiều loại cây trồng bao gồm ngô, lúa mì, đậu tương và lúa nước [97, 98, 99, 100]. Mối liên hệ giữa nấm và cây trồng phổ biến nhất là nội sinh và được gọi là nấm rễ nội sinh, do cấu trúc hình thái của các phân tử và tiểu bào mà những sinh vật này tạo ra. Những loại nấm này được cho là đã cùng tiến hóa với rễ cây cho phép thích nghi với sự phát triển trên đất khô [101]. Trong khi vi khuẩn có thể được phân lập và phân biệt ở cấp độ loài thông qua phân tích di truyền, phân loại nấm rễ cộng sinh thường dựa trên các đặc điểm hình thái của bào tử nghỉ vô tính. Theo thời gian, nấm rễ nội sinh đã phát triển các đột biến di truyền độc đáo thông qua sinh sản vô tính dẫn đến sự đa dạng của vi sinh vật trong loài, gây khó khăn cho việc phân tách giữa các cá thể và quần thể và tạo ra sự phức tạp trong sự hiểu biết về tương tác của chúng với thực vật [102]. Sự liên kết cộng sinh có lợi cho sự phát triển của cây trồng có thể là do sự xâm nhập của nấm rễ cộng sinh trong vỏ rễ [103]. Các loại nấm phát triển sợi nấm, phân nhánh thành các cấu trúc phân tử và túi kết hợp với rễ cho phép cây hấp thụ chất dinh dưỡng, trong khi cây cung cấp carbohydrate cho nấm.

Sự mở rộng sợi nấm này giúp rễ tiếp xúc với đất nhiều hơn, điều này cần thiết cho việc hấp thụ các chất dinh dưỡng bất động như P. Nhiều loài nấm rễ cộng sinh đã được phát hiện là chất hòa tan hiệu quả của P bằng cách sử dụng cơ chế chelat và thủy phân axit, tương tự như vi sinh vật phân giải lân. Ngoài mối quan hệ của nấm rễ cộng sinh và thực vật là mối quan hệ hiệp đồng của chúng với vi khuẩn đất, trong đó sự hiểu biết tốt hơn do những tiến bộ trong nghiên cứu vi sinh vật đã dẫn đến khái niệm về khả năng đồng cây [104]. Việc phát hiện ra việc nấm rễ nội sinh có thể hoạt động cùng với vi khuẩn trong đất và do đó ảnh hưởng đến sự hình thành hoặc ảnh hưởng đến hoạt động của chất kích thích sinh học nhằm thúc đẩy sự phát triển của cây trồng và sức khỏe của đất sẽ rất có ý nghĩa đối với sản xuất nông nghiệp trong tương lai.

3.5.2. Ứng dụng đồng ruộng và hiệu quả

Một số nghiên cứu và tổng quan đã đánh giá tiềm năng của nấm rễ cộng sinh như là chất kích thích sinh học, với các vai trò chủ yếu là giảm thiểu căng thẳng trong điều kiện mặn, bảo vệ chống lại mầm bệnh thực vật và khả năng làm tăng hấp thụ chất dinh dưỡng, đặc biệt liên quan đến P [105]. Căng thẳng sinh học được giảm thiểu thông qua việc tăng hấp thụ N, P, K, Ca và Mg ở ngô trong điều kiện mặn có mặt của nấm rễ cộng sinh [106]. Ngoài ra, stress do muối được giảm bớt nhiều với sự có sự hiện diện của nấm rễ cộng sinh bản địa hơn là từ việc cấy các loài ngoại lai thông qua việc điều chỉnh quá trình quang hợp và giảm sản lượng đồng thời phản ứng với các gốc tự do do oxy hóa [107]. Một phân tích tổng hợp về việc cấy nấm rễ cộng sinh vào lúa mì đã làm tăng sự hấp thụ N, P, Zn và tăng năng suất ngũ cốc [108]. Tuy nhiên, các nghiên cứu thường bỏ qua các tương tác của chế phẩm với kiểu gen cây trồng, trong đó việc cấy nấm rễ cộng sinh làm tăng năng suất ngũ cốc ở một giống lúa mì nhưng không làm tăng năng suất hạt ở một giống lúa mì khác [109]. Các nghiên cứu trong nhà kính sử dụng *Penicillium bilaiae* (hoặc *P. bilaii*) phủ trên hạt ngô lai cho thấy hiệu quả trong việc tăng khả năng hấp thụ P và tăng trưởng của ngô khi được cung cấp đầy đủ độ phì, nhưng không có phản ứng nào được tìm thấy khi các chất dinh dưỡng vĩ mô khác như N bị hạn chế [110]. Phát hiện này cho thấy rằng sự sẵn có đầy đủ của các chất dinh dưỡng khác, chẳng hạn như N, là chìa khóa cho sự thành công của việc cấy nấm rễ cộng sinh, vì nấm cũng cần chất dinh dưỡng và trong điều kiện thiếu N, chúng có thể cạnh tranh với cây trồng và thực sự làm giảm tốc độ tăng trưởng và giảm sản lượng [111]. Mặc dù các nghiên cứu này được thực hiện trong điều kiện nhân tạo với nguồn cung cấp N thấp, nhưng điều quan trọng cần đề cập đến là các vi sinh vật có ích được sử dụng làm chất kích thích sinh học cũng cần nguồn dinh dưỡng và nước, do đó, hiệu quả sử dụng chúng phụ thuộc vào khí hậu và độ phì nhiêu đất, tương tự như sản xuất cây trồng.

3.6. Nhóm vi sinh vật có ích khác và ứng dụng

Trong khi việc sử dụng vi sinh vật sống trong các hệ thống sản xuất nông nghiệp chủ yếu là tập trung vào việc thu nhận chất dinh dưỡng thông qua cố định nitơ sinh học, vi sinh vật phân giải lân và nấm rễ cộng sinh, có những cơ hội khác cho chất kích thích sinh học vi sinh vật khác nhau được sử dụng trong sản xuất nông nghiệp. Các phương thức quản lý canh tác như làm đất, luân canh và xen canh đang thay đổi với sự gia tăng trong quản lý tối thiểu, tăng cường luân canh ngô - ngô hoặc xen canh ngô - đậu tương/lúa mì và cây che phủ. Những thay đổi này làm tăng sự tích tụ dư lượng thực vật trên đồng ruộng. Tàn dư đậu tương trả lại cho đất khi thu hoạch có thể đạt trung bình 6 tấn/ha, trong khi với tàn dư thực vật từ trồng ngô là 12 tấn/ha [66, 112]. Loại tàn dư thực vật này chứa các dạng chất dinh dưỡng hữu cơ như N, P và S có thể được khoáng hóa để cây trồng hấp thụ sau này. Tàn dư thực vật có nhiều xenluloza, hemixenluloza và lignin là những polyme có cấu trúc đòi hỏi năng lượng đầu vào cao để phân hủy thông qua quá trình thủy phân

bởi các enzym. Sự phân hủy lignin chủ yếu qua trung gian của nấm [113]. Vi khuẩn và nấm dễ dàng hoạt động dựa trên các hợp chất C hòa tan đơn giản, trong khi các hợp chất phức tạp không hòa tan bị phân hủy bởi nấm đa đường [114]. Những vi sinh vật này được sử dụng làm chất kích thích sinh học cũng có thể cải thiện sức khỏe của đất vì chúng có thể được sử dụng để xúc tác sự phân hủy tàn dư thực vật, dẫn đến sự khoáng hóa nhanh các chất dinh dưỡng hữu cơ và tăng độ phì nhiêu của đất cho vụ sau, do đó giúp tăng cường quá trình cố định đạm sinh học và phân giải lân.

3.7. Danh mục loại chất kích thích sinh học mới

3.7.1. Enzym

Việc ứng dụng phosphatase như một sản phẩm thương mại được sử dụng trên đồng ruộng đã giới thiệu một loại chất kích thích sinh học mới, đó là các enzym đã được tinh chế. Đất chứa các enzym ngoại bào do sinh vật sản xuất và điều này được quan sát thấy ở thực vật và vi sinh vật [115, 116, 117]. Những enzym này hoạt động như chất xúc tác sinh học để tăng tốc độ phản ứng sinh hóa, trong đất có thể phụ thuộc vào các hợp chất N hoặc P hữu cơ. Trong những năm gần đây, việc sản xuất công nghiệp các enzym thông qua quá trình lên men vi sinh vật đã dẫn đến việc sản xuất và tinh chế các enzym áp dụng cho đất trồng trọt [118]. Ngoài phosphatase, các enzym liên quan đến chu trình C cũng được quan tâm, vì chúng có thể xúc tác quá trình phân hủy tàn dư thực vật và cung cấp một công cụ tiềm năng để quản lý tối ưu hóa trong các hệ thống chất hữu cơ cao như phương thức không làm đất hoặc cây che phủ. Các enzym này bao gồm cellulase và hemicellulase phân hủy các polyme của mô thực vật. Sự phân hủy các polyme lớn thành các polyme hoặc monome nhỏ hơn khiến chúng dễ bị thủy phân hơn bởi các quần thể vi sinh vật. Sự suy thoái này có thể tạo ra một phản ứng dây chuyền làm tăng tốc độ khoáng hóa các chất dinh dưỡng bổ sung cho sự hấp thụ của cây trồng trong tương lai. Về lý thuyết, một hỗn hợp hoàn hảo có thể được phát triển khi chứa nhiều enzym theo con đường phân hủy nhắm mục tiêu cho các thành phần hữu cơ cụ thể và giải phóng các chất dinh dưỡng nhất định. Tuy nhiên, mặc dù việc sử dụng cho mục đích thương mại các enzym được mở rộng, hiện nay có rất ít hoặc không có nghiên cứu về tác dụng của enzyme cho vùng rễ ở quy mô đồng ruộng, do đó cần có nghiên cứu thêm về sự hiểu biết về các sản phẩm này và tác động nông học của chúng.

3.7.2. Than sinh học

Than sinh học được hình thành thông qua các quá trình phân hủy ở nhiệt độ cao nguồn nhiên liệu mà không cần bổ sung oxy, được gọi là quá trình nhiệt phân [119]. Sản phẩm cuối cùng là một vật liệu có hàm lượng cacbon cao với các đặc tính khác nhau phụ thuộc vào nguồn gốc, nhiệt độ và thời gian xử lý [120]. Một trong những dạng than sinh học phổ biến nhất là than củi, được lấy từ sinh khối gỗ. Các nguồn sinh khối chủ yếu chứa hemicellulose, cellulose và lignin và mỗi lần tăng nhiệt độ cần thiết để phân hủy cấu trúc, dẫn đến hoạt động và sự ổn định khác nhau của than sinh học [121]. Than sinh học được sử dụng trong nhiều ngành công nghiệp khác nhau như một nguồn nhiên liệu, vật liệu xây dựng, lọc và gần đây là chất cải tạo đất nông nghiệp. Than sinh học có khả năng chống suy thoái cao và hoạt động như một nguồn C ổn định khi ứng dụng vào lĩnh vực nông nghiệp. Vì nó xốp và có diện tích bề mặt lớn, nên nó có khả năng chelat hóa với các ion trong đất. Các lợi ích nông nghiệp do than sinh học mang lại bao gồm tăng năng suất cây trồng, khả năng giữ nước lớn hơn đất đã qua xử lý và khả năng giữ chất dinh dưỡng [122]. Mặt khác, than sinh học ổn định bản thân nó là một hợp chất có hàm lượng carbon cao có khả năng chống lại sự suy thoái, tiến trình và ứng dụng của nó trong các lĩnh vực nông học cũng đóng vai trò như một nguồn hấp thụ C và do đó, nó được coi là một nguyên liệu “đôi bên cùng có lợi” để sử dụng trong nông nghiệp [123]. Một phân tích tổng hợp toàn diện liên

quan đến việc sử dụng than sinh học trong các hệ thống nông học cho thấy năng suất tổng thể tăng 10%, dao động từ -28% đến +39% [124]. Các tác giả đã lưu ý rằng hầu hết các nghiên cứu về than sinh học đều là những phản hồi sau một đến hai năm ứng dụng và những tác động lâu dài của nó vẫn chưa được biết đến. Trong khi việc tăng hàm lượng C trong đất thường được xem là một kết quả tích cực, nó cũng có thể cho phép tăng hoạt động của vi sinh vật và cố định N trong đất, do đó hạn chế N hữu dụng của cây trồng. Tuy nhiên, tính mới của than sinh học như một giải pháp bền vững cho sức sản xuất đất dài hạn, tăng sản lượng cây trồng và cải thiện sức khỏe của đất là những vấn đề tương đối chưa được biết đến và việc tiếp tục nghiên cứu sử dụng than sinh học khi kết hợp với quản lý nông học thích hợp có thể tạo ra một chất kích thích sinh học đầy hứa hẹn với mục tiêu trước mắt là đất thay vì hầu hết các ứng dụng kích thích sinh học trực tiếp đang được tập trung vào tăng sự phát triển và năng suất của cây trồng trong một mùa sinh trưởng.

4. Chất kích thích sinh học thực vật và sức khỏe đất

4.1. Các chỉ số sức khỏe của đất như là các cơ chế đồng thời của hành động kích thích sinh học

4.1.1. Các enzym trong đất

Trong khi chất kích thích sinh học có thể làm tăng khả năng hấp thu chất dinh dưỡng của cây trồng, các cơ chế cụ thể liên quan đến việc tăng khả năng cung cấp và hấp thu chất dinh dưỡng không phải lúc nào cũng được biết đến. Một cơ chế tiềm năng từ hoạt động kích thích sinh học đối với sự sẵn có của chất dinh dưỡng là thông qua những thay đổi trong hoạt động của các enzym vì các enzym trong đất xúc tác quá trình phân hủy và oxy hóa thủy phân chất hữu cơ [125, 126, 127]. Những biến đổi này xảy ra theo cơ chế nhiều bước với các enzym đặc thù xúc tác ở mỗi bước, gây khó khăn cho việc biết chính xác nơi ảnh hưởng của chất kích thích sinh học có thể xảy ra. Mặc dù các quá trình này bao gồm nhiều bước được xúc tác riêng bởi một enzym cụ thể, trình tự của các bước phân hủy qua trung gian enzym được giới hạn bởi các bước đầu tiên và bước cuối cùng. Các enzym ở bước cuối có thể rất nhạy cảm với các hiệu ứng xử lý vì chúng xúc tác quá trình chuyển hóa chất dinh dưỡng thành dạng khả dụng sinh học của nó. Do đó, bước cuối cùng trong quá trình giải phóng chất dinh dưỡng là một thước đo gián tiếp về sự hữu dụng của chất dinh dưỡng và cung cấp cái nhìn sâu sắc về cách một chất kích thích sinh học nhất định có thể làm tăng chất dinh dưỡng. Chất hữu cơ trong đất giàu chất dinh dưỡng chủ yếu bao gồm C, N, P và S (tỷ lệ cân bằng 61:7:1:1 [128]) và như vậy, các enzym liên quan đến sự khoáng hóa của các chất dinh dưỡng là những chỉ số tiềm năng cho việc làm sáng tỏ các cơ chế kích thích sinh học liên quan đến sự sẵn có của chất dinh dưỡng. Chính vai trò của chúng trong chu trình chuyển hóa chất hữu cơ tạo ra các hoạt động của enzyme chỉ thị tiềm năng về sức khỏe của đất, cung cấp khả năng sử dụng chất kích thích sinh học như các sản phẩm sức khỏe của đất. Các enzym ở bước cuối cơ bản bao gồm những enzym sau:

β -Glucosidase: Xúc tác quá trình thủy phân liên kết glycosidic của polysaccharid để giải phóng glucose [129]. Những liên kết này là chìa khóa cho cấu trúc thành tế bào và sự phân hủy của chúng được thực hiện qua trung gian vi khuẩn và nấm. Sự thay đổi trong hoạt động tiềm năng của β -glucosidase cho thấy sự khác biệt về khả năng phân hủy tàn dư thực vật và tích lũy C trong đất và đang được Bộ phận Sức khỏe Đất NRCS của USDA sử dụng như một chỉ số chính thức về sức khỏe sinh học của đất [130].

Protease: Một loại enzym thủy phân protein, là thành phần chính của nguồn dự trữ N hữu cơ trong đất và do đó, được cho là bước giới hạn tốc độ trong quá trình khoáng hóa N từ chất hữu cơ trong đất [131]. Protease xúc tác quá trình thủy phân protein bằng cách phân cắt không đặc hiệu các liên kết peptit giữa các axit amin, tạo ra các đoạn protein (peptit) ngắn hơn, sau đó

được tác động bởi các aminopeptidase để tạo ra các axit amin và N hữu dụng cho cây trồng. Sự thay đổi trong hoạt động của protease là một dấu hiệu của sự gia tăng hoạt động của vi sinh vật hoặc rễ để phân hủy tàn dư thực vật và chu trình dinh dưỡng [132].

Leucine aminopeptidase: Enzym này phân cắt các gốc axit amin khỏi đầu tận cùng N của peptit và protein. Có nhiều enzym tham gia vào quá trình phân hủy protein đặc trưng cho loại liên kết peptit (tức là hai axit amin liên kết); tuy nhiên, leucine aminopeptidase phổ biến ở các loại đất khác nhau và do đó là một chỉ thị tốt về sự phân hủy protein [133]. Cũng như các aminopeptidase khác, leucine aminopeptidase đóng một vai trò quan trọng trong việc giải phóng N hữu cơ khi bước cuối cùng của quá trình phân giải protein thành các axit amin sẵn có ở vi sinh vật. Mức độ hoạt động của leucine aminopeptidase cao hơn cho thấy sự khoáng hóa N hữu cơ được tăng cường và do đó giải phóng N khỏi chất hữu cơ trong đất sau hoạt động của enzym deaminase.

Phosphatase (phosphomonoesterase và phosphodiesterase): Các enzym phosphatase tham gia vào việc giải phóng orthophosphate có sẵn trong cây trồng từ các dạng P hữu cơ [134]. Các phosphat hữu cơ có thể tồn tại dưới dạng liên kết monoester hoặc diester được phân cắt bởi một enzym cụ thể tương ứng là phosphomonoesterase hoặc phosphodiesterase. Các vi sinh vật sinh học tiến hóa để lập đầy các lỗ hổng sinh thái khác nhau và một số có thể chuyên về con đường phosphomonoesterase và một số khác là con đường phosphodiesterase [135]. Do đó, đánh giá tiềm năng hoạt động của cả hai enzym sản xuất phosphat cung cấp một đánh giá toàn diện về tiềm năng P tổng số. Tương tự với quá trình khoáng hóa N từ chất hữu cơ trong đất, hai enzym P này hoạt động cùng nhau để giải phóng P có sẵn trong cây trồng từ nguồn hữu cơ. Ngoài ra, sự thay đổi trong hoạt động của hai enzym P này có thể chỉ ra loài sinh vật nào bị ảnh hưởng bởi việc ứng dụng sản phẩm.

Arylsulfatase: Enzym này là chất xúc tác để giải phóng S vô cơ (SO_4^{2-}) bằng cách phân cắt liên kết ester gắn S với chất hữu cơ [136]. Khoảng 98% tổng lượng S trong đất được gắn vào chất hữu cơ và 30–75% trong số đó được phân bổ cho ester sunfat [137]. Mức độ hoạt động của arylsulfatase có thể được kết từ những thay đổi đối với S hữu dụng trong đất hỗ trợ cho sự hấp thu tiềm năng của cây trồng.

Do đó, việc đánh giá các hoạt động tiềm năng của enzym đất khi bị ảnh hưởng bởi chất kích thích sinh học có thể đề cập đến cách chất kích thích sinh học ảnh hưởng đến chu kỳ dinh dưỡng của vùng rễ và trong trường hợp β -glucosidase đang hoạt động đồng thời như một dấu hiệu về hậu quả đối với sức khỏe của đất.

4.1.2. Sinh khối vi sinh vật và mật độ quần thể

Trừ khi chất kích thích sinh học tự nó là một enzym, bất kỳ ảnh hưởng nào đến các hoạt động của enzym do ứng dụng chất kích thích sinh học sẽ được thúc đẩy bởi những thay đổi trong các hoạt động của vi sinh vật hoặc thực vật. Các hoạt động lớn hơn của enzym có thể xảy ra thông qua việc tăng sản xuất enzym trên một đơn vị vi khuẩn hoặc thực vật [138], bằng cách tăng số lượng vi sinh vật hay là sự phát triển của cây trồng, do đó dẫn đến tổng sản lượng enzym lớn hơn. Do đó, việc đánh giá sinh khối vi sinh vật và sự đa dạng của quần thể vi sinh vật có thể giải mã thêm các cơ chế và phương thức hoạt động tiềm năng của các chất kích thích sinh học sử dụng trong đất. Hơn nữa, việc đánh giá các quần thể vi sinh vật trong đất có thể liên quan đến các tác động về chất lượng đất từ những phương thức quản lý nông học khác nhau, cung cấp cái nhìn sâu sắc về ảnh hưởng của các phương thức nói trên đối với sức khỏe tổng thể của đất [139]. Các phương pháp khác nhau để đánh giá các thông số vi sinh vật bao gồm tổng sinh khối vi sinh vật và/hoặc hô hấp C để có được chỉ số về số lượng của tất cả các vi sinh vật có mặt và tổng giá

trị dinh dưỡng cố định dưới dạng sinh khối vi sinh vật. Tuy nhiên, trong khi sinh khối vi sinh vật cung cấp cái nhìn sâu sắc về tổng số tăng trưởng của quần thể, các phương pháp như phân tích rRNA 16S hoặc phân tích axit béo phospholipid (PLFA) giải thích sự đa dạng giữa các vi sinh vật hiện nay [140]. Sự kết hợp giữa các thông số sinh khối vi sinh vật với sự đa dạng của chúng đồng thời giải đáp cách quần thể vi sinh vật đang phát triển và vi sinh vật nào đang thúc đẩy sự phát triển đó. Các phương pháp này cũng có thể xác định sự tồn tại của vi sinh vật được áp dụng và khi so sánh với đối chứng không được xử lý, bằng cách nào mà vi sinh vật ảnh hưởng đến các quần thể bản địa của đất. Mặc dù để tiến hành thì rất tốn kém, khả năng phân tích đa dạng vi sinh vật để tìm ra các cơ chế kích thích sinh học cũng như các tác động sinh thái của ứng dụng cung cấp một tham số hữu ích cho việc đánh giá các chất kích thích sinh học.

4.2. *Chất kích thích sinh học và tiềm năng sức khỏe đất*

Khái niệm sức khỏe đất không phải là mới trong lĩnh vực nông nghiệp và trước đây nó được gọi là độ “êm dịu” hoặc độ tối xốp của đất và chất lượng đất [141]. Sự chú ý gần đây đến hậu quả môi trường từ việc quản lý không phù hợp dẫn đến xói mòn đất diễn ra nhiều hơn và ô nhiễm các dòng nước bởi chất dinh dưỡng đã đánh thức khái niệm về sức khỏe đất. Sức khỏe đất bao gồm nhiều thông số, trong số đó có thông số sinh học và do đó, vai trò của việc sử dụng chất kích thích sinh học được chú ý. Cơ quan NRCS của USDA đang tích cực làm việc với các nhà nghiên cứu hàn lâm trên khắp nước Mỹ để thiết lập các phương pháp thống nhất cho việc đánh giá và kiểm tra các chỉ số sức khỏe đất và một số lựa chọn bao gồm các hoạt động enzym, tỷ lệ hô hấp và tổng C hữu cơ trong đất [130]. Như đã nhấn mạnh ở trên, các thông số này cũng có thể là các chỉ số đánh giá hoạt động của chất kích thích sinh học đối với loại cây trồng theo hàng, do đó cung cấp khả năng áp dụng chúng để tác động đồng thời đến sự tăng trưởng của cây trồng và sức khỏe của đất. Nhiều nông dân tiếp cận với chất kích thích sinh học nhằm mục tiêu tăng năng suất cây trồng sau một mùa vụ mà ít tập trung vào khả năng ảnh hưởng lâu dài đến đất và việc sử dụng lặp lại theo thời gian. Mặc dù chất kích thích sinh học có thể không tạo ra phản ứng trong thời gian ngắn, nhưng có khả năng tăng sức khỏe của đất theo thời gian dẫn đến tăng sản lượng trong những năm tiếp theo. Tuy nhiên, các đánh giá về chất kích thích sinh học trên đất theo quan điểm dài hạn là hạn chế. Ngoài tác động trực tiếp đến các hoạt động sinh học của đất để cải thiện sức khỏe đất là việc tăng khả năng hấp thụ C. Các ứng dụng của chất kích thích sinh học như than sinh học là sự bổ sung trực tiếp C vào đồng ruộng và vì than sinh học có khả năng chống thoái hóa nên người ta cho rằng các ứng dụng lặp lại có thể làm tăng mức C trong đất và sức sản xuất của đất, dẫn đến tăng năng suất sinh khối cây trồng theo mùa và khả năng hấp thụ C sinh học lớn hơn. Tuy nhiên, việc bổ sung C trong thời gian dài có thể làm thay đổi tỷ lệ C:N trong đất, có thể làm cố định nhiều N hơn và do đó làm giảm năng suất cây trồng; điều này đòi hỏi phải có nghiên cứu lâu dài về ảnh hưởng của chất kích thích sinh học đối với chu kỳ dinh dưỡng của đất, sức khỏe đất và C trong đất. Mặc dù nó có vẻ là một giải pháp hoàn hảo, nhưng việc nhận thức và hiểu biết đầy đủ về giá trị của việc sử dụng chất kích thích sinh học và cách tiếp cận đa dạng để tối ưu hóa quản lý nông học dài hạn nhằm tăng sức khỏe đất và năng suất cây trồng sẽ mất nhiều năm.

5. **Kết luận**

Những thách thức chính đối với thị trường chất kích thích sinh học là khả năng vô tận trong các ứng dụng của chúng. Trong khi tất cả các yếu tố đầu vào (ví dụ: di truyền hạt giống, thuốc trừ sâu, độ phì nhiêu, cải tạo đất, làm đất và luân canh) mang nhiều lựa chọn về loại sản phẩm hoặc phương pháp, mục đích dự kiến của việc áp dụng chúng thường là trực tiếp. Ví dụ, thuốc diệt cỏ, thuốc diệt nấm, thuốc diệt côn trùng và thuốc diệt tuyến trùng là bốn loại thuốc trừ

sâu duy nhất, nhưng mỗi loại đều có một mục đích nhất định, đó là ngăn chặn dịch hại tương ứng của cỏ dại, nấm bệnh, côn trùng hoặc tuyến trùng. Thị trường phân bón có vô số lựa chọn cho người nông dân. Tuy nhiên, bất kể nguồn phân bón và phương pháp bón được chọn là gì, nó thường được sử dụng để cung cấp các chất dinh dưỡng cần thiết cho cây trồng phát triển và cho năng suất mong muốn. Điểm khác biệt ban đầu của các chất kích thích sinh học so với các nguyên liệu đầu vào nông nghiệp khác là tính linh hoạt của các sản phẩm riêng lẻ đối với các phản ứng mong muốn. Ví dụ, áp dụng cùng một chất kích thích sinh học chiết xuất từ rong biển, khi trồng có thể ảnh hưởng đến các quần thể vi sinh vật tại chỗ, trong khi bón qua lá ở các giai đoạn sinh trưởng của cây trồng nhằm mục đích tạo ra các đường dẫn tín hiệu để giảm thiểu căng thẳng phi sinh học. Thách thức hàng đầu thứ hai đối với việc sử dụng chất kích thích sinh học là thành phần đầy đủ của tất cả các hợp chất trong một sản phẩm thường không được biết đến và điều này đặc biệt đúng đối với các chất chiết xuất từ rong biển, axit humic và axit fulvic.

Phản ứng với chất kích thích sinh học được quan sát bất chấp việc hiểu rõ thành phần nào chịu trách nhiệm, điều này dẫn đến thách thức về khả năng lặp lại của kết quả và/hoặc hiểu biết tác động của tương tác với các phương thức quản lý nông học và điều kiện môi trường cụ thể. Yếu tố gây nhiễu thứ ba đối với việc sử dụng chất kích thích sinh học là sự lựa chọn sản phẩm ngày càng đa dạng. Mặc dù chất kích thích sinh học không hẳn là mới, nhưng hai thập kỷ qua đã chứng kiến sự gia tăng về số lượng các sản phẩm có giá trị và với sự phát triển của phương tiện truyền thông xã hội, các chiến dịch tiếp thị nhắm đến mục tiêu tăng cường việc sử dụng chúng. Trong khi thị trường thuốc trừ sâu và phân bón cũng đang gia tăng trong cạnh tranh lựa chọn sản phẩm tốt, sự khác biệt chính với các chất kích thích sinh học là ở các hướng dẫn pháp lý mơ hồ. Không có định nghĩa pháp lý về các sản phẩm này, việc ghi nhãn các sản phẩm mới có thể đơn giản hơn, chẳng hạn theo quy định của FIFRA và do đó, tỷ lệ sản phẩm mới trên thị trường xuất hiện nhiều hơn so với bất kỳ sản phẩm nông học nào. Chính ba yếu tố về tính linh hoạt của sản phẩm, sự hiểu biết hạn chế về thành phần sản phẩm và các cơ chế hoạt động cụ thể liên quan và sự lựa chọn từ người tiêu dùng đã khiến thị trường chất kích thích sinh học nông học trở nên hỗn loạn và luôn thay đổi đối với các loại cây trồng theo hàng. Ngoài ra, sự thay đổi trong biểu hiện năng suất cây trồng đơn vụ khiến người nông dân ứng dụng các chất kích thích sinh học trên đồng ruộng thận trọng và hiện nay đang yêu cầu một phương pháp tiếp cận có quy tắc đòi hỏi sẽ mất nhiều mùa vụ điều chỉnh để tích hợp thành công một phương thức mới.

Mặc dù dữ liệu là bất định và nhu cầu kiểm tra thực địa lớn hơn là rõ ràng, nhưng có những tình huống chất kích thích sinh học có thể ảnh hưởng tích cực đến hệ thống cây trồng và đất để tăng năng suất. Tập trung vào tiềm năng phục hồi dinh dưỡng từ phân bón hiện đang là chiến lược nghiên cứu hàng đầu để sử dụng chất kích thích sinh học cho hệ thống cây trồng theo hàng, ngày càng chú ý đến việc tăng năng suất ngũ cốc, thường là kết quả của việc sử dụng chất dinh dưỡng hiệu quả hơn. Trong khi nhiều chất kích thích sinh học được áp dụng cho cây trồng theo hàng để tăng năng suất, nhiều sản phẩm đạt được những phản ứng này thông qua tác động đến đất và sinh học vùng rễ. Đánh giá kỹ hơn về tác dụng của chất kích thích sinh học đối với chất lượng đất và các chỉ số sinh học có thể cho thấy những lợi ích trước đây chưa được biết đến khi ứng dụng. Với sự quan tâm từ chính phủ và cộng đồng về phương thức canh tác và ảnh hưởng của chúng đến chất lượng nước và quản lý dinh dưỡng, việc sử dụng chất kích thích sinh học như một giải pháp cho các phương thức bền vững hơn và cải thiện chất lượng đất cung cấp một lựa chọn khả thi ngay cả khi không có sự tăng năng suất.

Kinh phí

Nghiên cứu này được thực hiện với sự tài trợ một phần từ dự án NC1200 “Regulation of Photosynthetic Processes” của Viện Nông nghiệp và Thực phẩm Mỹ và dự án AES 802–908 Illinois.

Lời cảm ơn

Chúng tôi gửi lời cảm ơn đến Andrew J. Margenot từ Đại học Illinois đã chia sẻ kiến thức về enzym đất và những cân nhắc liên quan đến các chỉ số sức khỏe của đất.

Tài liệu tham khảo

1. Goatley, J.M.; Schmidt, R.E. Biostimulator enhancement of Kentucky bluegrass sod. *HortScience* **1991**, *26*, 254–255. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
2. Doak, S.O.; Schmidt, R.E.; Ervin, E.H. Metabolic enhancer impact on creeping bentgrass leaf sodium and physiology under salinity. *Inter. Turfgrass Soc. Res. J.* **2005**, *10*, 845–849. [[Google Scholar](#)]
3. du Jardin, P. *The Science of Plant Biostimulants—A Bibliographic Analysis, Ad Hoc Study Report*; European Commission: Luxembourg, 2012. [[Google Scholar](#)]
4. García-Fraile, P.; Menéndez, E.; Celador-Lera, L.; Díez-Méndez, A.; Jiménez-Gómez, A.; Marcos-García, M.; Cruz-González, X.A.; Martínez-Hidalgo, P.; Mateos, P.F.; Rivas, R. Bacterial probiotics: A truly green revolution. In *Probiotics and Plant Health*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2017; pp. 131–162. [[Google Scholar](#)]
5. Swift, R.; Denton, M.D.; Melino, V.J. Plant probiotics for nutrient acquisition by agriculturally important grasses: A comprehensive review of the science and the application. *Annu. Plant Rev. Online* **2018**, 537–584. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
6. Congress, U.S. Agriculture Improvement Act of 2018. In *Proceedings of the 115th Congress*; 2018. Available online: <https://www.agriculture.senate.gov/imo/media/doc/CRPT-115hrpt1072.pdf> (accessed on 15 November 2020).
7. US EPA. *Draft Guidance for Plant Regulator Products and Claims, Including Plant Biostimulants*; US EPA: Washington, DC, USA, 2020.
8. Ricci, M.; Tilbury, L.; Daridon, B.; Sukalac, K. General principles to justify plant biostimulant claims. *Front. Plant Sci.* **2019**, *10*, 1–8. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Marketsandmarkets.com. Biostimulants Market by Active Ingredient (Humic Substances, Amino Acids, Seaweed Extracts, Microbial Amendments), Crop Type (Fruities & Vegetables, Cereals, Turf & Ornamentals), Application Method, Form, and Region—Global Forecast to 2025). Available online: <https://www.marketsandmarkets.com> (accessed on 21 June 2020).
10. Kauffman, G.L.; Kneivel, D.P.; Watschke, T.L. Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. *Crop Sci.* **2007**, *47*, 261–267. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
11. Halpern, M.; Bar-Tal, A.; Ofek, M.; Minz, D.; Muller, T.; Yermiyahu, U. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. In *Advances in Agronomy*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2015; Volume 130, pp. 141–174. ISBN 0065-2113. [[Google Scholar](#)]
12. du Jardin, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.* **2015**, *196*, 3–14. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
13. Bulgari, R.; Cocetta, G.; Trivellini, A.; Vernieri, P.; Ferrante, A. Biostimulants and crop responses: A review. *Biol. Agric. Hortic.* **2015**, *31*, 1–17. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
14. Yakhin, O.I.; Lubyantsev, A.A.; Yakhin, I.A.; Brown, P.H. Biostimulants in plant science: A global perspective. *Front. Plant Sci.* **2017**, *7*, 2049. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Neill, C.L.; Morgan, K.L. Beyond Scale and Scope: Exploring Economic Drivers of U.S. Specialty Crop Production With an Application to Edamame. *Front. Sustain. Food Syst.* **2021**, *4*, 1–10. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
16. Kistner, E.; Kellner, O.; Andresen, J.; Todey, D.; Morton, L.W. Vulnerability of specialty crops to short-term climatic variability and adaptation strategies in the Midwestern USA. *Clim. Chang.* **2018**, *146*, 145–158. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
17. FAO. *FAOSTAT Statistical Database*; FAO: Rome, Italy, 2020. [[Google Scholar](#)]
18. Fernandez-Cornejo, J.; Nehring, R.F.; Osteen, C.; Wechsler, S.; Martin, A.; Vialou, A. Pesticide use in US agriculture: 21 selected crops, 1960–2008. *USDA-ERS Econ. Inf. Bull.* **2014**, *1*, 124. [[Google Scholar](#)]

19. Wozniak, E.; Blaszczyk, A.; Wiatrak, P.; Canady, M. Biostimulant Mode of Action: Impact of Biostimulant on Whole-Plant Level. *Chem. Biol. Plant Biostimul.* **2020**, 205–227. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
20. Ugarte, R.A.; Craigie, J.S.; Critchley, A.T. Fucoid flora of the rocky intertidal of the Canadian Maritimes: Implications for the future with rapid climate change. In *Seaweeds and Their Role in Globally Changing Environments*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2010; pp. 69–90. [[Google Scholar](#)]
21. Goñi, O.; Fort, A.; Quille, P.; McKeown, P.C.; Spillane, C.; O’Connell, S. Comparative transcriptome analysis of two *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants: Same seaweed but different. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64*, 2980–2989. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
22. Shukla, P.S.; Mantin, E.G.; Adil, M.; Bajpai, S.; Critchley, A.T.; Prithiviraj, B. *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Front. Plant Sci.* **2019**, *10*, 655. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
23. Goñi, O.; Quille, P.; O’Connell, S. Seaweed Carbohydrates. *Chem. Biol. Plant Biostimul.* **2020**, 57–95. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
24. Craigie, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* **2011**, *23*, 371–393. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
25. Khan, W.; Rayirath, U.P.; Subramanian, S.; Jithesh, M.N.; Rayorath, P.; Hodges, D.M.; Critchley, A.T.; Craigie, J.S.; Norrie, J.; Prithiviraj, B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* **2009**, *28*, 386–399. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
26. Sharma, H.S.S.; Fleming, C.; Selby, C.; Rao, J.R.; Martin, T. Plant biostimulants: A review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *J. Appl. Phycol.* **2014**, *26*, 465–490. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
27. Stirk, W.A.; Rengasamy, K.R.R.; Kulkarni, M.G.; van Staden, J. Plant Biostimulants from Seaweed: An Overview. *Chem. Biol. Plant Biostimulants* **2020**, *2*, 31–55. [[Google Scholar](#)]
28. Newton, L. Seaweed utilization. *Nature* **1951**, *167*, 1004. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
29. González, A.; Castro, J.; Vera, J.; Moenne, A. Seaweed oligosaccharides stimulate plant growth by enhancing carbon and nitrogen assimilation, basal metabolism, and cell division. *J. Plant Growth Regul.* **2013**, *32*, 443–448. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
30. Calvo, P.; Nelson, L.; Kloepper, J.W. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* **2014**, *383*, 3–41. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
31. Nardi, S.; Muscolo, A.; Vaccaro, S.; Baiano, S.; Spaccini, R.; Piccolo, A. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and krebs cycle in maize seedlings. *Soil Biol. Biochem.* **2007**, *39*, 3138–3146. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
32. Lamar, R.T. Possible Role for Electron Shuttling Capacity in Elicitation of PB Activity of Humic Substances on Plant Growth Enhancement. *Chem. Biol. Plant Biostimul.* **2020**, 97–121. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
33. Lehmann, J.; Kleber, M. The contentious nature of soil organic matter. *Nature* **2015**, *528*, 60–68. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Senesi, N.; Miano, T.M.; Provenzano, M.R. Fluorescence spectroscopy as a means of distinguishing fulvic and humic acids from dissolved and sedimentary aquatic sources and terrestrial sources. In *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1991; pp. 63–73. [[Google Scholar](#)]
35. Niemeyer, J.; Chen, Y.; Bollag, J. Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1992**, *56*, 135–140. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
36. Muscolo, A.; Sidari, M.; Attinà, E.; Francioso, O.; Tugnoli, V.; Nardi, S. Biological activity of humic substances is related to their chemical structure. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2007**, *71*, 75–85. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
37. Rupiasih, N.N.; Vidyasagar, P. A Review: Compositions, Structures, Properties and Applications of Humic Substances. *J. Adv. Sci. Technol.* **2005**, *8*, 16–25. [[Google Scholar](#)]
38. Valdrighi, M.M.; Pera, A.; Agnolucci, M.; Frassinetti, S.; Lunardi, D.; Vallini, G. Effects of compost-derived humic acids on vegetable biomass production and microbial growth within a plant (*Cichorium intybus*)-soil system: A comparative study. *Agric. Ecosyst. Environ.* **1996**, *58*, 133–144. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
39. Nardi, S.; Panuccio, M.R.; Abenavoli, M.R.; Muscolo, A. Auxin-like effect of humic substances extracted from faeces of *Allolobophora caliginosa* and *A. rosea*. *Soil Biol. Biochem.* **1994**, *26*, 1341–1346. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
40. Canellas, L.P.; Olivares, F.L.; Okorokova-Façanha, A.L.; Façanha, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol.* **2002**, *130*, 1951–1957. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

41. Scaglia, B.; Nunes, R.R.; Rezende, M.O.O.; Tambone, F.; Adani, F. Investigating organic molecules responsible of auxin-like activity of humic acid fraction extracted from vermicompost. *Sci. Total Environ.* **2016**, *562*, 289–295. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
42. Tahir, M.M.; Khurshid, M.; Khan, M.Z.; Abbasi, M.K.; Kazmi, M.H. Lignite-derived humic acid effect on growth of wheat plants in different soils. *Pedosphere* **2011**, *21*, 124–131. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
43. Berbara, R.L.L.; García, A.C. Humic substances and plant defense metabolism. In *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2014; pp. 297–319. [[Google Scholar](#)]
44. Piccolo, A.; Pietramellara, G.; Mbagwu, J.S.C. Use of humic substances as soil conditioners to increase aggregate stability. *Geoderma* **1997**, *75*, 267–277. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
45. Vallini, G.; Pera, A.; Avio, L.; Valdrighi, M.; Giovannetti, M. Influence of humic acids on laurel growth, associated rhizospheric microorganisms, and mycorrhizal fungi. *Biol. Fertil. Soils* **1993**, *16*, 1–4. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
46. Ayuso, M.; Hernandez, T.; Garcia, C.; Pascual, J.A. Stimulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. *Bioresour. Technol.* **1996**, *57*, 251–257. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
47. Celik, H.; Katkat, A.V.; Aşık, B.B.; Turan, M.A. Effect of foliar-applied humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2010**, *42*, 29–38. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
48. Jindo, K.; Soares, T.S.; Peres, L.E.P.; Azevedo, I.G.; Aguiar, N.O.; Mazzei, P.; Spaccini, R.; Piccolo, A.; Olivares, F.L.; Canellas, L.P. Phosphorus speciation and high-affinity transporters are influenced by humic substances. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2016**, *179*, 206–214. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
49. Valdrighi, M.M.; Pera, A.; Scatena, S.; Agnolucci, M.; Vallini, G. Effects of humic acids extracted from mined lignite or composted vegetable residues on plant growth and soil microbial populations. *Compost Sci. Util.* **1995**, *3*, 30–38. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
50. Kaya, C.; Şenbayram, M.; Akram, N.A.; Ashraf, M.; Alyemeni, M.N.; Ahmad, P. Sulfur-enriched leonardite and humic acid soil amendments enhance tolerance to drought and phosphorus deficiency stress in maize (*Zea mays* L.). *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1–13. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Sarir, M.S.; Sharif, M.; Zeb, A.; Akhlaq, M. Influence of different levels of humic acid application by various methods on the yield and yield components of maize. *Sarhad J. Agric.* **2005**, *21*, 75–81. [[Google Scholar](#)]
52. Rose, M.T.; Patti, A.F.; Little, K.R.; Brown, A.L.; Jackson, W.R.; Cavagnaro, T.R. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: Practical implications for agriculture. In *Advances in Agronomy*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2014; Volume 124, pp. 37–89. ISBN 0065-2113. [[Google Scholar](#)]
53. Canellas, L.P.; Olivares, F.L.; Canellas, N.O.A.; Mazzei, P.; Piccolo, A. Humic acids increase the maize seedlings exudation yield. *Chem. Biol. Technol. Agric.* **2019**, *6*, 3. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
54. Abou-Aly, H.E.; Mady, M.A. Complemented effect of humic acid and biofertilizers on wheat (*Triticum aestivum* L.) productivity. *Ann. Agric. Sci., Moshtohor* **2009**, *47*, 1–12. [[Google Scholar](#)]
55. Gao, C.; El-Sawah, A.M.; Ali, D.F.I.; Hamoud, Y.A.; Shaghaleh, H.; Sheteiwy, M.S. The integration of bio and organic fertilizers improve plant growth, grain yield, quality and metabolism of hybrid maize (*Zea mays* L.). *Agronomy* **2020**, *10*, 319. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
56. Sharif, M.; Khattak, R.A.; Sarir, M.S. Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2002**, *33*, 3567–3580. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
57. Medina, R.; Radel, R.J. Mechanisms of urease inhibition. In *Ammonia Volatilization from Urea Fertilizers. Bull. Y-206*; National Fertilizer Development Center: Islamabad, Pakistan, 1988; pp. 137–174. [[Google Scholar](#)]
58. Chen, D.; Suter, H.; Islam, A.; Edis, R.; Freney, J.R.; Walker, C.N. Prospects of improving efficiency of fertiliser nitrogen in Australian agriculture: A review of enhanced efficiency fertilisers. *Soil Res.* **2008**, *46*, 289–301. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
59. de Santiago, A.; Exposito, A.; Quintero, J.M.; Carmona, E.; Delgado, A. Adverse effects of humic substances from different origin on lupin as related to iron sources. *J. Plant Nutr.* **2010**, *33*, 143–156. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
60. Hartz, T.K.; Bottoms, T.G. Humic substances generally ineffective in improving vegetable crop nutrient uptake or productivity. *HortScience* **2010**, *45*, 906–910. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
61. Zehr, J.P.; Jenkins, B.D.; Short, S.M.; Steward, G.F. Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: A cross-system comparison. *Environ. Microbiol.* **2003**, *5*, 539–554. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Vitousek, P.M.; Howarth, R.W. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? *Biogeochemistry* **1991**, *13*, 87–115. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
63. Burns, R.C.; Hardy, R.W.F. *Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants*; Springer Science & Business Media: Berlin/Heidelberg, Germany, 1975; Volume 21, ISBN 364280926X. [[Google Scholar](#)]

64. Paul, E.A. Advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems. *Intern. Symb. Brisbane Willson. JR* **1988**, *1*, 417. [[Google Scholar](#)]
65. Herridge, D.F.; Peoples, M.B.; Boddey, R.M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant Soil* **2008**, *311*, 1–18. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
66. Power, J.F.; Doran, J.W.; Wilhelm, W.W. Uptake of nitrogen from soil, fertilizer, and crop residues by no-till corn and soybean. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1986**, *50*, 137–142. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
67. Lindström, K.; Murwira, M.; Willems, A.; Altier, N. The biodiversity of beneficial microbe-host mutualism: The case of rhizobia. *Res. Microbiol.* **2010**, *161*, 453–463. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Córdova, S.C.; Castellano, M.J.; Dietzel, R.; Licht, M.A.; Togliatti, K.; Martinez-Feria, R.; Archontoulis, S. V Soybean nitrogen fixation dynamics in Iowa, USA. *F. Crop. Res.* **2019**, *236*, 165–176. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
69. Steenhoudt, O.; Vanderleyden, J. Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: Genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.* **2000**, *24*, 487–506. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
70. James, E.K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. *F. Crop. Res.* **2000**, *65*, 197–209. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
71. Zahran, H.H. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1999**, *63*, 968–989. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
72. Leggett, M.; Diaz-Zorita, M.; Koivunen, M.; Bowman, R.; Pesek, R.; Stevenson, C.; Leister, T. Soybean response to inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* in the United States and Argentina. *Agron. J.* **2017**, *109*, 1031–1038. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
73. Zeffa, D.M.; Fantin, L.H.; Koltun, A.; de Oliveira, A.L.M.; Nunes, M.P.B.A.; Canteri, M.G.; Gonçalves, L.S.A. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on co-inoculation with *Bradyrhizobium* in soybean crop: A meta-analysis of studies from 1987 to 2018. *PeerJ* **2020**, *8*, e7905. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
74. Higdon, S.M.; Pozzo, T.; Tibbitt, E.; Chiu, C.; Jeannotte, R.; Bennett, A.B.; Weimer, B.C. Diazotrophic bacteria from maize exhibit multifaceted plant growth promotion traits in multiple hosts. *bioRxiv* **2020**, *9*, e0239081. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Ryu, M.-H.; Zhang, J.; Toth, T.; Khokhani, D.; Geddes, B.A.; Mus, F.; Garcia-Costas, A.; Peters, J.W.; Poole, P.S.; Ané, J.-M. Control of nitrogen fixation in bacteria that associate with cereals. *Nat. Microbiol.* **2020**, *5*, 314–330. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
76. Meshram, S.U.; Shende, S.T. Total nitrogen uptake by maize with *Azotobacter* inoculation. *Plant Soil* **1982**, *69*, 275–280. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
77. Vicente Alves, M.; Nunes Nesi, C.; Naibo, G.; Henrique Barreta, M.; Lazzari, M.; Fiorese Júnior, A.; Skoronski, E. Corn seed inoculation with *Azospirillum brasilense* in different nitrogen fertilization management. *Brazilian J. Agric. Sci. Bras. Ciências Agrárias* **2020**, *15*, 1–6. [[Google Scholar](#)]
78. Galindo, F.S.; Teixeira Filho, M.C.M.; Buzetti, S.; Pagliari, P.H.; Santini, J.M.K.; Alves, C.J.; Megda, M.M.; Nogueira, T.A.R.; Andreotti, M.; Arf, O. Maize yield response to nitrogen rates and sources associated with *Azospirillum brasilense*. *Agron. J.* **2019**, *111*, 1985–1997. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
79. Zeffa, D.M.; Fantin, L.H.; dos Santos, O.J.A.P.; de Oliveira, A.L.M.; Canteri, M.G.; Scapim, C.A.; Gonçalves, L.S.A. The influence of topdressing nitrogen on *Azospirillum* spp. inoculation in maize crops through meta-analysis. *Bragantia* **2018**, *77*, 493–500. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
80. Latkovic, D.; Maksimovic, J.; Dinic, Z.; Pivic, R.; Stanojkovic, A.; Stanojkovic-Sebic, A. Case Study upon Foliar Application of Biofertilizers Affecting Microbial Biomass and Enzyme Activity in Soil and Yield Related Properties of Maize and Wheat Grains. *Biology* **2020**, *9*, 452. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Moraes, C.; dos Santos, R.M.; Rigobelo, E.C. Rock phosphate fertilization harms' *Azospirillum brasilense*' selection by maize. *Aust. J. Crop Sci.* **2019**, *13*, 1967. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
82. Sharma, S.B.; Sayyed, R.Z.; Trivedi, M.H.; Gobi, T.A. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus* **2013**, *2*, 587. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
83. Kalayu, G. Phosphate solubilizing microorganisms: Promising approach as biofertilizers. *Int. J. Agron.* **2019**, *2019*, 1–7. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
84. Walpola, B.C.; Yoon, M.-H. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review. *African J. Microbiol. Res.* **2012**, *6*, 6600–6605. [[Google Scholar](#)]
85. Kumar, A.; Kumar, A.; Patel, H. Role of microbes in phosphorus availability and acquisition by plants. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **2018**, *7*, 1344–1347. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

86. Bashan, Y.; Kamnev, A.A.; de-Bashan, L.E. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: A proposal for an alternative procedure. *Biol. Fertil. Soils* **2013**, *49*, 465–479. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
87. Tarafdar, J.C.; Yadav, R.S.; Niwas, R. Relative efficiency of fungal intra-and extracellular phosphatases and phytase. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2002**, *165*, 17–19. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
88. Collavino, M.M.; Sansberro, P.A.; Mroginski, L.A.; Aguilar, O.M. Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. *Biol. Fertil. Soils* **2010**, *46*, 727–738. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
89. Alori, E.T.; Glick, B.R.; Babalola, O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 971. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
90. Saeid, A.; Prochownik, E.; Dobrowolska-Iwanek, J. Phosphorus solubilization by *Bacillus* species. *Molecules* **2018**, *23*, 2897. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
91. Turan, M.; Gulluce, M.; von Wirén, N.; Sahin, F. Yield promotion and phosphorus solubilization by plant growth-promoting rhizobacteria in extensive wheat production in Turkey. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2012**, *175*, 818–826. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
92. Sundara, B.; Natarajan, V.; Hari, K. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *F. Crop. Res.* **2002**, *77*, 43–49. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
93. Ibarra-Galeana, J.A.; Castro-Martínez, C.; Fierro-Coronado, R.A.; Armenta-Bojórquez, A.D.; Maldonado-Mendoza, I.E. Characterization of phosphate-solubilizing bacteria exhibiting the potential for growth promotion and phosphorus nutrition improvement in maize (*Zea mays* L.) in calcareous soils of Sinaloa, Mexico. *Ann. Microbiol.* **2017**, *67*, 801–811. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
94. Singh, Y.P.; Sharma, A. Effect of sources of phosphorus and microbial inoculation on productivity, nutrient availability in soil and uptake of nutrients by chickpea (*Cicer arietinum*) grown on sandy loam soil. *Indian J. Agric. Sci.* **2011**, *81*, 834. [[Google Scholar](#)]
95. Afshar, R.K.; Chaichi, M.R.; Moghadam, H.; Ehteshami, S.M.R. Irrigation, phosphorus fertilizer and phosphorus solubilizing microorganism effects on yield and forage quality of turnip (*Brassica rapa* L.) in an arid region of Iran. *Agric. Res.* **2012**, *1*, 370–378. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
96. Lobo, L.L.B.; dos Santos, R.M.; Rigobelo, E.C. Promotion of maize growth using endophytic bacteria under greenhouse and field conditions. *Aust. J. Crop Sci.* **2019**, *13*, 2067. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
97. Farooq, M.; Hussain, M.; Wakeel, A.; Siddique, K.H.M. Salt stress in maize: Effects, resistance mechanisms, and management. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **2015**, *35*, 461–481. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
98. Ganugi, P.; Masoni, A.; Pietramellara, G.; Benedettelli, S. A Review of Studies from the Last Twenty Years on Plant–Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associations and Their Uses for Wheat Crops. *Agronomy* **2019**, *9*, 840. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
99. Mbodj, D.; Effa-Effa, B.; Kane, A.; Manneh, B.; Gantet, P.; Laplaze, L.; Diedhiou, A.G.; Grondin, A. Arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice: Establishment, environmental control and impact on plant growth and resistance to abiotic stresses. *Rhizosphere* **2018**, *8*, 12–26. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
100. Sugiyama, A. The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond—A review. *J. Adv. Res.* **2019**, *19*, 67–73. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
101. Willis, A.; Rodrigues, B.F.; Harris, P.J.C. The ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Crit. Rev. Plant Sci.* **2013**, *32*, 1–20. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
102. Rosendahl, S. Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* **2008**, *178*, 253–266. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Smith, S.E.; Read, D.J. *Mycorrhizal Symbiosis*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2010; ISBN 0080559344. [[Google Scholar](#)]
104. Miransari, M. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *89*, 917–930. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
105. Plenchette, C.; Clermont-Dauphin, C.; Meynard, J.M.; Fortin, J.A. Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Can. J. Plant Sci.* **2005**, *85*, 31–40. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
106. Lee, Y.; Krishnamoorthy, R.; Selvakumar, G.; Kim, K.; Sa, T. Alleviation of salt stress in maize plant by co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* CBMB20. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **2015**, *58*, 533–540. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
107. Estrada, B.; Aroca, R.; Barea, J.M.; Ruiz-Lozano, J.M. Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. *Plant Sci.* **2013**, *201*, 42–51. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

108. Pellegrino, E.; Öpik, M.; Bonari, E.; Ercoli, L. Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. *Soil Biol. Biochem.* **2015**, *84*, 210–217. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
109. Zhou, Q.; Ravnskov, S.; Jiang, D.; Wollenweber, B. Changes in carbon and nitrogen allocation, growth and grain yield induced by arbuscular mycorrhizal fungi in wheat (*Triticum aestivum* L.) subjected to a period of water deficit. *Plant Growth Regul.* **2015**, *75*, 751–760. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
110. Gómez-Muñoz, B.; Jensen, L.S.; De Neergaard, A.; Richardson, A.E.; Magid, J. Effects of *Penicillium bilaii* on maize growth are mediated by available phosphorus. *Plant Soil* **2018**, *431*, 159–173. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
111. Wang, X.-X.; Wang, X.; Sun, Y.; Cheng, Y.; Liu, S.; Chen, X.; Feng, G.; Kuyper, T.W. Arbuscular mycorrhizal fungi negatively affect nitrogen acquisition and grain yield of maize in a N deficient soil. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 418. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
112. Sindelar, A.J.; Schmer, M.R.; Jin, V.L.; Wienhold, B.J.; Varvel, G.E. Long-term corn and soybean response to crop rotation and tillage. *Agron. J.* **2015**, *107*, 2241–2252. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
113. Dick, W.A.; Gregorich, E.G. Developing and maintaining soil organic matter levels. *Manag. Soil Qual. Chall. Mod. Agric.* **2004**, 103–120. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
114. Wolf, D.C.; Wagner, G.H. Carbon transformations and soil organic matter formation. *Princ. Appl. Soil Microbiol.* **2005**, *2*, 285–332. [[Google Scholar](#)]
115. Tabatabai, M.A.; Bremner, J.M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* **1969**, *1*, 301–307. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
116. Eivazi, F.; Tabatabai, M.A. Phosphatases in soils. *Soil Biol. Biochem.* **1977**, *9*, 167–172. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
117. Spiers, G.A.; McGill, W.B. Effects of phosphorus addition and energy supply on acid phosphatase production and activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* **1979**, *11*, 3–8. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
118. Nielsen, P.H.; Oxenbøll, K.M.; Wenzel, H. Cradle-to-gate environmental assessment of enzyme products produced industrially in Denmark by Novozymes A/S. *Int. J. Life Cycle Assess.* **2007**, *12*, 432. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
119. Weber, K.; Quicker, P. Properties of biochar. *Fuel* **2018**, *217*, 240–261. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
120. Leng, L.; Huang, H. An overview of the effect of pyrolysis process parameters on biochar stability. *Bioresour. Technol.* **2018**, *270*, 627–642. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
121. Yang, H.; Yan, R.; Chen, H.; Lee, D.H.; Zheng, C. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel* **2007**, *86*, 1781–1788. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
122. Biederman, L.A.; Harpole, W.S. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: A meta-analysis. *GCB Bioenergy* **2013**, *5*, 202–214. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
123. Laird, D.A. The charcoal vision: A win–win–win scenario for simultaneously producing bioenergy, permanently sequestering carbon, while improving soil and water quality. *Agron. J.* **2008**, *100*, 178–181. [[Google Scholar](#)]
124. Jeffery, S.; Verheijen, F.G.A.; van der Velde, M.; Bastos, A.C. A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2011**, *144*, 175–187. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
125. Tabatabai, M.A. Soil enzymes. *Methods Soil Anal. Part 2 Microbiol. Biochem. Prop.* **1994**, *5*, 775–833. [[Google Scholar](#)]
126. Burns, R.G.; Dick, R.P. *Enzymes in the Environment: Activity, Ecology, and Applications*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2002; ISBN 0203904036. [[Google Scholar](#)]
127. Nannipieri, P.; Giagnoni, L.; Landi, L.; Renella, G. Role of phosphatase enzymes in soil. In *Phosphorus in Action*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2011; pp. 215–243. [[Google Scholar](#)]
128. Tipping, E.; Somerville, C.J.; Luster, J. The C: N: P: S stoichiometry of soil organic matter. *Biogeochemistry* **2016**, *130*, 117–131. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
129. Zang, X.; Liu, M.; Fan, Y.; Xu, J.; Xu, X.; Li, H. The structural and functional contributions of β -glucosidase-producing microbial communities to cellulose degradation in composting. *Biotechnol. Biofuels* **2018**, *11*, 1–13. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
130. USDA-NRCS Soil Health. Available online: <https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/main/soils/health/> (accessed on 20 April 2021).
131. Fujii, K.; Yamada, T.; Hayakawa, C.; Nakanishi, A.; Funakawa, S. Decoupling of protein depolymerization and ammonification in nitrogen mineralization of acidic forest soils. *Appl. Soil Ecol.* **2020**, *153*, 103572. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
132. Bastida, F.; Moreno, J.L.; Hernández, T.; García, C. Microbiological activity in a soil 15 years after its revegetation. *Soil Biol. Biochem.* **2006**, *38*, 2503–2507. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

133. Štursová, M.; Baldrian, P. Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. *Plant Soil* **2011**, *338*, 99–110. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
134. Colvan, S.R.; Syers, J.K.; O'Donnell, A.G. Effect of long-term fertiliser use on acid and alkaline phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities in managed grassland. *Biol. Fertil. Soils* **2001**, *34*, 258–263. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
135. Turner, B.L.; Haygarth, P.M. Phosphatase activity in temperate pasture soils: Potential regulation of labile organic phosphorus turnover by phosphodiesterase activity. *Sci. Total Environ.* **2005**, *344*, 27–36. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
136. Fitzgerald, J.W. Naturally occurring organosulfur compounds in the soil. *Sulfur Environ.* **1978**, *1978*, 391–443. [[Google Scholar](#)]
137. Chen, H.; Yang, L.; Wen, L.; Luo, P.; Liu, L.; Yang, Y.; Wang, K.; Li, D. Effects of nitrogen deposition on soil sulfur cycling. *Global Biogeochem. Cycles* **2016**, *30*, 1568–1577. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
138. Wade, J.; Li, C.; Vollbracht, K.; Hooper, D.G.; Wills, S.A.; Margenot, A.J. Geoderma Prescribed pH for soil β -glucosidase and phosphomonoesterase do not reflect pH optima. *Geoderma* **2021**, *401*, 115161. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
139. Zhang, P.; Sun, J.; Li, L.; Wang, X.; Li, X.; Qu, J. Effect of soybean and maize rotation on soil microbial community structure. *Agronomy* **2019**, *9*, 42. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
140. Orwin, K.H.; Dickie, I.A.; Holdaway, R.; Wood, J.R. A comparison of the ability of PLFA and 16S rRNA gene metabarcoding to resolve soil community change and predict ecosystem functions. *Soil Biol. Biochem.* **2018**, *117*, 27–35. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
141. McDaniel, M. What is soil health, how do we measure it, and why the emphasis on soil biology? In Proceedings of the 29th Annual Integrated Crop Management conference, Ames, IA, USA, 1 December 2017. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]