استجابة بعض المجاميع الميكروبية في التربة للتسميد النانوي بالزنك والحديد والمولبيدنيوم عند زراعة الحمص الشتوي

م. يامن الحسن[1] ا.د. عبد الله العيسى[2] د. محمود الحمدان [3]

الملخص:

نُفِذّ البحث تحت الظروف الحقلية في مركز البحوث العلمية الزراعية بمحافظة حمص – سورية، خلال الموسم الزراعي 2024، بهدف تقييم استجابة بعض المجاميع الميكروبية في التربة للتسميد النانوي بالزنك والحديد والمولبيدنيوم (منفردة ومشتركة) عند زراعة الحمص الشتوي. تم التسميد بتراكيز محددة من الأسمدة النانوية التالية: أكسيد الزنك النانوي (1 كغ/هـ)، وشيلات الحديد النانوية (1 كغ/هـ)، ومولبيدات الأمونيوم النانوية (50 مل/هـ)، بالإضافة إلى التسميد المشترك لكل من: الزنك مع المولبيدنيوم (0.5 كغ/هـ زنك+25 مل/هـ مولبيدنيوم)، والحديد مع المولبيدنيوم (0.5 كغ/هـ حديد+25 مل/هـ مولبيدنيوم)، والزنك مع الحديد(0.5 كغ/هـ زنك+0.5 كغ/هـ حديد)، والزنك والحديد والمولبيدنيوم (0.33 كغ/هـ زنك+0.33 كغ/هـ حديد+ 16.6 مل/هـ مولبيدنيوم)، أسفرت النتائج عن استجابات متباينة للمجتمع الميكروبي في التربة تجاه هذه الإضافات ؛ فازدادت أعداد بكتيريا النشدرة والآزوتوباكتر والبكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني والأكتينومايسيتات والفطريات والبكتيريا المذيبة للفوسفور بشكل ملحوظ عند استخدام الحديد النانوي منفرداً أو بالمشاركة مع المولبيدنيوم، في حين أدى استخدام الزنك النانوي –خاصة عند اقترانه مع المولبيدنيوم– إلى انخفاض في أعداد بكتيريا النشدرة والبكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني والبكتيريا المتبوغة التابعة للجنس *Bacillus*، بينما لم تتأثر أعداد الآزوتوباكتر والأكتينومايسيتات والفطريات والبكتيريا المذيبة للفوسفور.

الكلمات المفتاحية: الأسمدة النانوية، الحديد النانوي، الزنك النانوي، المولبيدنيوم النانوي، المجتمع الميكروبي، التربة، بكتيريا النشدرة، الآزوتوباكتر.

1- طالب دراسات عليا (دكتوراه)، قسم التربة واستصلاح الأراضي، كلية الزراعة، جامعة حمص

2- أستاذ في قسم التربة واستصلاح الاراضي، كلية الزراعة، جامعة حمص، سوريا

3- مدير بحوث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، حمص، سوريا

Response of Soil Microbial Communities to Zinc, Iron, and Molybdenum Nano-Fertilizers of in Winter Chickpea Cultivation

Yamen Al-Hasan [(1)] Prof. Dr. Abdulla Alissa [(2)] Dr. Mahmoud Al-Hamdan[(3)]

Abstract:

This research was conducted under field conditions at the Agricultural Scientific Research Center in Homs Governorate, Syria, during the 2024 agricultural season. The aim was to evaluate the response of specific soil microbial groups to nano-fertilization with zinc, iron, and molybdenum (both individually and in combination) in winter chickpea cultivation. Fertilization was applied using specified concentrations of the following nano-fertilizers: nano zinc oxide (1 kg/ha), nano iron chelates (1 kg/ha), and nano ammonium molybdate (50 ml/ha). Additionally, combined fertilization treatments were applied: zinc with molybdenum (0.5 kg/ha Zn + 25 ml/ha Mo), iron with molybdenum (0.5 kg/ha Fe + 25 ml/ha Mo), zinc with iron (0.5 kg/ha Zn + 0.5 kg/ha Fe), and zinc, iron, and molybdenum together (0.33 kg/ha Zn + 0.33 kg/ha Fe + 16.6 ml/ha Mo). The results revealed divergent responses in the soil microbial community; the populations of Ammonifying bacteria, *Azotobacter*, Mineral nitrogen-

utilizing bacteria, Actinomycetes, fungi, and Phosphate-solubilizing bacteria increased significantly upon the individual application of nano-iron or its combination with molybdenum. In contrast, the application of nano-zinc – particularly when combined with molybdenum – led to a decrease in the populations of Ammonifying bacteria, Mineral nitrogen-utilizing bacteria, and spore-forming bacteria belonging to the genus *Bacillus*. Meanwhile, the counts of *Azotobacter*, Actinomycetes, Fungi, and Phosphate-solubilizing bacteria remained unaffected.

Keywords: Nano-fertilizers, Nano-iron, Nano-zinc, Nano-molybdenum, Microbial community, Soil, Ammonifying bacteria, *Azotobacter*.

(1) Graduate Student (PhD), Department of Soil and Land Reclamation, College of Agriculture, Homs University

(2) Professor, Department of Soil and Land Reclamation, College of Agriculture, Homs University, Syria

(3) Director of Research at the General Commission for Scientific Agricultural Research, Homs, Syria

1- المقدمة:

تعاني الزراعة المعاصرة من تحديات جسيمة، أبرزها تغيّر المناخ والضغط المتصاعد على الموارد المائية والزراعية، الأمر الذي يستدعي تطوير حلول مبتكرة لتعزيز الإنتاجية وتحقيق الأمن الغذائي. وفي هذا الإطار، برزت تقنية النانو كأحد الحلول الواعدة لإحداث نقلة نوعية في القطاع الزراعي، من خلال تصميم أسمدة ذكية تزيد من كفاءة امتصاص العناصر الغذائية وتحد من الفاقد الناتج عن الأساليب التقليدية منخفضة الكفاءة، و يحقق الشكل النانوي للعناصر الغذائية هذه الكفاءة العالية من خلال : زيادة مساحة سطحها وآليات الإطلاق المُتحكم فيه، مما يُحسّن من استغلالها من قبل المجاميع الميكروبية عبر تفعيل إنزيمات التربة وتعزيز النشاط البكتيري في منطقة الجذور (Gulaiya *et al.*, 2025)، إلا أن التوسّع في استخدام المواد النانوية يثير تساؤلات عديدة بشأن مصيرها في البيئة وتأثيرها على النظم الإيكولوجية للتربة، ولا سيما المجتمع الميكروبي الذي يُشكّل عِماد خصوبتها وصحتها، وتظهر الدراسات العلمية السابقة عن تأثيرات متباينة لتأثير هذه المواد؛ فبينما سجلت بعض الأبحاث تحفيزاً للنشاط الميكروبي والإنزيمي (Poorna Chandrika *et al.*, 2025) ، حذّرت دراساتٌ أخرى من آثار سلبية محتملة، حيث قد يمثل إدخال الأسمدة النانوية إلى البيئة تهديداً للمجتمعات الميكروبية النافعة (Charu and Dhan, 2020)، وتتعقد هذه الصورة أكثر عندما يؤخذ بعين الاعتبار التفاعل الدقيق بين النبات والكائنات الحية الدقيقة في التربة؛ فقد أظهرت دراسة Sasse *et al* (2018) أن الإفرازات الجذرية لا تقدم الغذاء للمجتمع الميكروبي فحسب، بل تطلق أيضاً إشارات كيميائية محددة مثل مركبات الفلافونويد (Flavonoids) – وهي مواد كيميائية حيوية تُفرَز من قمم الجذور – تعمل على تجنيد المجموعات الميكروبية المفيدة وتشكيل المجتمع الميكروبي في منطقة الجذور ، وهذا يثير تساؤلاً مهماً حول كيف يمكن أن تؤثر المواد النانوية المضافة إلى التربة على هذه "الحوارات" الكيميائية المعقدة وبالتالي على تكوين ووظيفة المجتمع الميكروبي؟.

انطلاقاً من هذا، وخاصة في ظل النقص الملحوظ في الأبحاث التي تُعنى بتأثير هذه العناصر على المجتمع الميكروبي للتربة، تتجلى أهمية هذه الدراسة في تقييم التأثير المُتباين للتسميد بالحديد والزنك والمولبيدنيوم النانوي على أعداد بعض المجاميع الميكروبية الوظيفية في التربة المزروعة بالحمص الشتوي تحت الظروف الحقلية السورية، كما تسعى لتقديم رؤية عملية حول الجرعات والتركيبات الآمنة بيئياً، التي من شأنها تعزيز التنوع الحيوي للتربة والحفاظ على توازنها الميكروبي، دون عرقلة لتلك التفاعلات الحيوية الطبيعية التي تُعدّ أساساً لصحة التربة والإنتاجية الزراعية المستدامة.

2- الدراسة المرجعية:

تشير العديد من الدراسات العلمية إلى صورة بالغة التعقيد لتأثير المواد النانوية على الكائنات الحية الدقيقة في التربة، حيث تتباين الاستجابة بناءً على طبيعة العنصر النانوي، وتركيزه، ونوع الكائن الحي الدقيق؛ فقد كشفت دراسة قام بها (Poorna Chandrika *et al.*, 2025)عن قدرة جسيمات سيترات الحديد والزنك النانوية على تحفيز نشاط إنزيمات التربة (اليورياز، الديهيدروجينياز، الفوسفاتاز)، مع تأثير انتقائي إيجابي على أعداد الأكتينومايسيتات والفطريات، كما لاحظ Zhang *et al* (2019) أن جسيمات أكاسيد الحديد النانوية قد عزّزت من نشاط الإنزيمات المحلّلة للمادة العضوية وسرّعت عملية تحلل الكومبوست.

أفاد He *et al* (2016) بأن إضافة أوكسيد الحديد النانوي FeO للتربة بتركيز 0.1- 10 مغ/كغ أدى إلى زيادة نشاط *Bradyrhizobium* والبكتيريا المؤكسدة للنترات *Nitrosomonas* مما حسّن بذلك من عملية تثبيت النتروجين الجوي والنترجة على التوالي .

أشار Frenk *et al* (2013) أنّه عند استخدام أوكسيد الحديد Fe_3O_4 النانوي لوحظت زيادة في الأنواع التابعة للجنس *Bacillus* بشكل ملحوظ، كما أدى ذلك إلى تحسين قدرة *Bacillus* على تحليل المركبات المعقدة في التربة، وعلى الرغم من هذه التأثيرات الإيجابية

لسماد الحديد النانوي، إلا أن الدراسات العلمية تشير إلى وجود تأثيرات تثبيطية محتملة على المجتمع الميكروبي في التربة، كما بيّن Xu *et al* (2015) في دراسة حول تأثير الجسيمات النانوية لـ ZnO وTiO_2 و Fe_3O_4 و CeO_2 على الأنشطة الأنزيمية للتربة (الانفرتاز و اليورياز والكاتلاز و والفوسفاتاز) والمجاميع البكتيرية في المياه المالحة والقلوية والتربة السوداء(الشيرنوزوم)؛ حيث أظهرت النتائج تأثير هذه الجسيمات على نشاط إنزيمات التربة محدثة تغيرات في مجتمع بكتيريا التربة وتهديداً للتثبيت الحيوي للنيتروجين، وهذا التأثير التثبيطي يتوافق مع ما أكدته نتائج دراسة Jiling *et al* (2016) التي أظهرت أن التركيز العالي من الجسيمات النانوية لـ Fe_3O_4 يقلل بشكل كبير من محتوى البكتيريا في التربة، أما بالنسبة للزنك النانوي، فقد أظهرت النتائج صورة متناقضة، بين تأثيرات محفزة وأخرى سلبية؛ فمن جهة، ذكر Xu *et al* (2018) أنّ إضافة 1−100 مغ/ كغ من أوكسيد الزنك النانوي ZnO إلى تربة مزروعة بالخس أدت إلى زيادة أعداد السيانوباكتريا، Bacteroidetes، و Proteobacteria، مما حسّن من عملية تثبيت النتروجين وتحلّل المواد العضوية، ونتج عن ذلك زيادة في معدل التمثيل الضوئي والكتلة الحيوية لنبات الخس بنسبة 6.2%، ووفقاً ل You *et al* (2018) أدت إضافة أوكسيد الزنك النانوي ZnO بتركيز 0.5−2 مغ/غ بشكل مباشر للتربة إلى زيادة أعداد *Bacillus* , α −*Proteobacteria* و γ-*Proteobacteria* . من جهة أخرى، سجلت دراسات عديدة آثاراً مثبطة للجسيمات النانوية لأكسيد الزنك النانوي على المجاميع الميكروبية في التربة؛ فقد لاحظ Chai *et al* (2015) أن أكسيد الزنك النانوي أثر سلباً على أعداد *Azotobacter* ، والأنشطة الأنزيمية في التربة، وفي دراسة Elumalai *et al*(2015)، تم اختبار جزيئات أكسيد الزنك (ZnO) في المختبر كمبيد للبكتريا وللفطريات، ولوحظ النشاط المضاد ضد السلالات البكتيرية مثل *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis*, *Proteus, mirabilis Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* ، وأيضاً

تم اكتشاف نشاط مضاد من قبل ZnO للفطريات الممرضة للنبات مثل *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* .

بالنسبة للمولبيدنيوم النانوي، وجد Shcherbakova *et al* (2017) أن معاملة بذور الحمص بالمولبيدنيوم النانوي Mo بتركيز 10 مغ/ ل أدت إلى زيادة أعداد *Rhizobium*، مع تحسين ملحوظ في معدل الإنبات ونشاط إنزيم البيروكسيداز.

تنطلق منهجية ومقاربة الدراسة الحالية من ذلك التناقض الواضح في نتائج البحوث السابقة حول تأثير التسميد النانوي؛ فبينما أشار بعضها إلى زيادة ملحوظة في أعداد الكائنات الدقيقة، سجل البعض الآخر تأثيرات سلبية على العلاقة بين النبات وهذه الكائنات، ويصعب مع هذا التناقض تحديد المخاطر المحتملة لاستخدام تلك المواد في البيئة، مما يعمّق الحاجة إلى البحث لتحديد جرعات آمنة تحفّز نمو النبات دون إلحاق الضرر بالأحياء الدقيقة في التربة.، وسيسهم التقييم الدقيق والإرشادات المناسبة في توجيه بحوث تكنولوجيا النانو وتطبيقاتها المستقبلية، لضمان عدم إضرارها بصحة النظام البيئي الحيوي.

3- هدف البحث:

بيان تأثير التسميد النانوي بالزنك والحديد والمولبيدنيوم على أعداد بعض المجاميع الفيزيولوجية للكائنات الحية الدقيقة في التربة المزروعة بالحمّص الشتوي ، وذلك في ظروف محافظة حمص – سورية.

4- مواد وطرائق البحث:

4-1- الموقع: تم إجراء البحث في مركز البحوث العلمية الزراعية بحمص، الذي يقع شمال مدينة حمص على بعد 5 كم، عند خط طول 36.43، وخط عرض 34.42، وعلى ارتفاع

482م عن سطح البحر، ضمن منطقة الاستقرار الأولى، وبمعدل هطول مطري سنوي 439 مم.

4-2- التربة: حمراء طينية. درجة تفاعل التربة متعادلة . منخفضة الملوحة. منخفضة إلى متوسطة المحتوى من المادة العضوية، ومتوسطة امحتوى من كربونات الكالسيوم (جدول 1).

(الجدول 1): بعض الخصائص الفيزيائية الكيميائية لتربة الموقع المدروس من عمق (0-30 سم)

التحليل الميكانيكي			pH	الناقلية الكهربائية ملموز/ سم	المادة العضوية %	كربونات الكالسيوم %
رمل%	سلت%	طين%	1:2.5			
32	21	47	7.20	0.38	1.55	12

4-3- تحضير التربة والزراعة :

تم زراعة الحمص *Cicer arietinum* L ، الصنف المحلي غاب 5 في كانون الثاني (2024)، وتم حراثة أرض التجربة حراثتين متعامدتين بوساطة المحراث المطرحي القلاب بعمق 30 سم، ونُعمت التربة بعد إضافة الدفعة الأولى من السماد الآزوتي يوريا (46%) البالغة 20 كغ / هـ والسماد الفوسفوري P_2O_5 (46%) 60 كغ / هـ والسماد البوتاسيK_2O (50%) 40 كغ/ هـ حسب التوصية السمادية المعتمدة في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، و من ثمّ تم تسوية التربة آلياً وفتح خطوط الزراعة، حيث قُسمت أرض التجربة إلى وحدات تجريبية بأبعاد 6x4=24 م^2 بحيث ضمت كل وحدة تجريبية خمسة خطوط بطول 6 م ومسافة بين الخط والآخر 50 سم وبين النبات والأخر 10 سم، وتم ترك مسافة 2 م بين القطع التجريبية والمعاملات كممرات خدمة، معدل البذار 90 كغ/هـ، حيث تم وضع البذار يدوياً ضمن حفر

بمعدل 1–2 بذرة على مسافة 5–10 بين البذرة والأخرى، ثم فُرّدت النباتات إلى نبات واحد في كل جورة وذلك بعد أسبوعين من الزراعة، ورويت القطع التجريبية بعد الزراعة مباشرة، وتم تقديم كافة عمليات الخدمة (تفريد – تعشيب – ري – تسميد – مكافحة....) في مواعيدها وحسب الحاجة. وتم الحصاد والانتهاء من التجربة في شهر أيار لعام 2024. رويت القطع التجريبية بالري السطحي بشرائح. كانت مياه الري غير مالحة وذات درجة حموضة متعادلة إلى حمضية خفيفة، تتراوح بين 6.78 و7.2، ونظراً لأن محصول الحمص (*Cicer arietinum* L.) المُستَخدم في هذه الدراسة هو محصول شتوي بعلي، فإنه يعتمد اعتماداً رئيساً على مياه الأمطار الموسمية، ولذلك لم يتم اتباع جدول ري محدد مسبقاً، وتم الاعتماد على الزراعة البعلية، وأذيبت العناصر السمادية النانوية (الزنك– الحديد– المولبيدنيوم) بكمية مناسبة من الماء ثمّ تم توزيعها بشكل متجانس على كافة القطع التجريبية.

4–4– تحضير الأسمدة النانوية: تم أخذ الأسمدة النانوية من الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية في حمص، حيث تحضير أسمدة الحديد والزنك النانوي بشكل فيزيائي عن طريق الطحن من أسمدة شيلات الحديدي EDDHA (13%) وأوكسيد الزنك ZnO (80%) في مطاحن خاصة بمخابر هيئة الطاقة الذرية السورية والغربلة عن طريق مناخل من رتبة النانوية وذلك حسب (Suryananrayana and Al-Aqeeli, 2013)، أما المولبيدنيوم النانوي تم تحضيره، باستخدام جسيمات المولبيدينوم النانوية بطريقة الاختزال الكيميائي في سوائل أيونية، بالاعتماد على الطريقة المطورة من قبل Ayi *et al* (2015). حيث تم استخدام مولبيدات الأمونيوم $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot 4H_2O$ (54%) كمصدر للمولبيدينوم، وبورهيدريد الصوديوم ($NaBH_4$) كمادة مختزلة، في وسط من السائل الأيوني [Emim][ES] عند درجة حرارة 180°م.

4–5– المعاملات المستخدمة:

تم اضافة أسمدة أكسيد الزنك النانوي بمعدل 1 كغ/هـ وهذه جرعة آمنة تتوافق مع دراسة (Xu *et al.*, 2018)، وأيضاً تم إضافة سماد شيلات الحديد النانوي بمعدل 1 كغ/هـ كما أن هذه جرعة آمنة حسب دراسة (He *et al.*, 2016)، وأضيف سماد مولبيدات الأمونيوم بمعدل 50 مل/هـ وهذه جرعة آمنة حسب دراسة (Murphy and Walsh, 1972)، وكان لكل معاملة ثلاثة مكررات، وتم إضافة الأسمدة على مرحلتين، أولاً: بعد شهر من الزراعة، والثانية: قبل مرحلة الإزهار، حيث تم إذابة العناصر السمادية (الزنك– الحديد – المولبيدنيوم) بكمية مناسبة من الماء ثمّ تم توزيعها بشكل متجانس على القطع التجريبية كافة. والجدول (2) يبيّن معاملات البحث.

(جدول 2): معاملات البحث

المعاملة السمادية	كمية الإضافة الأرضية	رمز المعاملة
شاهد بدون إضافة	–	C
سماد الزنك	Zn (1 Kg/h)	Zn(N)
سماد الحديد	Fe(1 Kg/h)	Fe(N)
سماد المولبيدنيوم	Mo(50 ml/h)	Mo(N)
سماد الزنك مع سماد المولبيدنيوم	Zn (0.5 Kg/h)+ Mo(25 ml/h)	Zn+Mo (N)
سماد الحديد مع سماد المولبيدنيوم	Fe(0.5 Kg/h) + Mo(25 ml/h)	Fe+Mo(N)
سماد الزنك مع سماد الحديد	Zn (0.5 Kg/h)+ Fe(0.5 Kg/h)	Zn+Fe (N)
سماد الزنك والحديد والمولبيدنيوم معاً	Zn (0.33 Kg/h)+ Fe(0.33 Kg/h)+ Mo(16.6 ml/h)	Zn+Mo+Fe (N)

4-6- تصميم التجربة: تم تصميم التجربة حسب القطاعات العشوائية الكاملة، وب3 مكررات للمعاملة الواحدة، مساحة القطعة التجريبية 24 م2 وكانت عدد القطع التجريبية 24 قطعة، وتم تحليل نتائج البحث باستعمال برنامج SPSS v20 وذلك لحساب أقل فرق معنوي بين المتوسطات L.S.D عند مستوى 5%.

4-7- عينات التربة: تم جمع عينات التربة لأجل تقدير بعض خصائصها الكيميائية بأخذ عينة مركبة من القطع التجريبية وعند عمق الحراثة (0-30 سم) وذلك قبل الزراعة. وتم أخذ عينات التربة لتقدير محتواها من مجاميع الأحياء الدقيقة المدروسة من نفس العمق السابق بواسطة أدوات (مسبر ، معول، سكين) معقمة مسبقاً بالكحول والتلهيب، وذلك بعد حصاد المحصول.

4-4- التحاليل والقياسات:

4-4-1- التحاليل الفيزيائية للتربة:

تم التحليل الميكانيكي للتربة بطريقة الهيدروميتر حسب (الجردي، 1992)، وحدد القوام بالاعتماد على المثلث الأمريكي للقوام .بالاعتماد على الخطوات الموضحة في دليل (راين وآخرون، 2003).

4-4-2- التحاليل الكيميائية للتربة:

تم تحليل المؤشرات الكيميائية التالية حسب (عودة وشمشم، 2008)، إذ تم تقدير ال pH التربة : وذلك باستخدام جهاز pH meter في معلق تربة ماء 1:2.5 (Maclean,1982)، وتم تقدير الناقلية الكهربائية EC : بواسطة جهاز الناقلية الكهربائية conductivity-meter في

مستخلص مائي للتربة 5:1 (Baruah,1997)، وتم تقدير الكربونات الكلية : بالطريقة الحجمية (Richards,1954)، و قدرت المادة العضوية : بطريقة الأكسدة الرطبة بواسطة ديكرومات البوتاسيوم في وسط شديد الحموضة (Walkley and Black,1934).

4-4-3- التحاليل الميكروبيولوجية:

تم دراسة المجموعات الفيزيولوجية التالية للأحياء الدقيقة بطريقة الأطباق المصبوبة (في العيسى وعلوش،2006) وهي: البكتيريا المحللة للنتروجين العضوي (النشدرة) Ammonification bacteria : تم حساب أعدادها على بيئة الأغار المغذي ، والبكتيريا المستخدمة للأزوت المعدني Bacteria Assimilation Mineral Nitrogen: قدرت على بيئة نشوية نشادرية، و *Azotobacter*: درست على بيئة Ashby's Mannitol Agar ، والأكتينومايسيتات Actinomycetes: قدرت على البيئة المغذية Nystatin Agar ، والفطريات Fungi: تم حساب أعدادها على بيئة المالت المغذي، والبكتريا المتبوغة التابعة لجنس *Bacillus* : درست على بيئة الآجار المغذي Nutrient agar، والبكتيريا المذيبة للفوسفور: درست على بيئة Pikovskaya's Agar.

5- النتائج والمناقشة :

5-1- تأثير التسميد بالحديد والزنك والمولبيدنيوم النانوي في أعداد بعض المجاميع الفيزيولوجية للأحياء الدقيقة:

5-1-1- البكتيريا المحللة للنيتروجين العضوي (النشدرة):

أظهرت النتائج (جدول- 3) وجود فروق معنوية بين معاملات أسمدة الزنك والحديد والمولبيدنيوم النانوية؛ إذ تفوقت معاملة الحديد النانوي Fe (N) معنوياً على جميع المعاملات، مسجلةً أعلى زيادة (6.53 مليون خلية/غ تربة جافة)، بزيادة قدرها (27.7) % مقارنة مع

الشاهد، وقد يُفسَّر هذا التفوق المعنوي بالدور المحوري للحديد النانوي في تعزيز الذوبانية والتوافر الحيوي في الوسط الميكروبي، مما يدعم بشكل مباشر نشاط الإنزيمات المحللة الرئيسة المعتمدة عليه مثل (Dehydrogenase و Urease)، وبالتالي يسرّع ويحسّن كفاءة عملية تحلل المواد العضوية وإطلاق الأمونيوم (Zhang *et al*., 2019)، وهذا مطابق لنتائج (2025) Poorna Chandrika *et al* الذي وجد أن جسيمات الحديد النانوية قد حفزت نشاط Urease بنسبة تصل لـ 79%، مما يفسّر تعزيز القدرة التحليلية لبكتيريا النشدرة وازدهار أعدادها، و يدعم هذا التفسير أن تحسين التوافر الحيوي للعناصر لا ينعكس إيجاباً على الأحياء الدقيقة فحسب، بل يمتد ليعزز النمو النباتي ويزيد من الإفرازات الجذرية، التي تُغذي بدورها المجتمع الميكروبي (Sasse *et al*., 2018)، من جهة أخرى سجلت معاملة الزنك النانوي Zn(N) زيادة في أعداد البكتيريا المحللة للنيتروجين العضوي بنسبة (7.4)% عن الشاهد، وهي نتيجة تتوافق مع ما أشارت إليه دراسة Xu *et al* (2018) من أن جسيمات أكسيد الزنك النانوي (ZnO NPs) تحفز تحلل المواد العضوية، في المقابل أدت إضافة المولبيدنيوم النانوي Mo(N) منفرداً إلى انخفاض غير معنوي في أعداد بكتيريا النشدرة بنسبة (1.7)% عن الشاهد، مما يشير إلى وجود تأثير مثبط محتمل أو محدودية دور هذا العنصر في المراحل الأولى لتحلل المواد العضوية النيتروجينية.

أما بالنسبة للمعاملات المشتركة النانوية، فقد أدت معاملتي Zn+Fe (N) و Fe +Mo(N) إلى زيادة معنوية ملحوظة في أعداد هذه المجموعة البكتيرية (5.75، 6.03 مليون خلية / 1 غ تربة جافة) مقارنة مع الشاهد الذي كانت أعداد هذه البكتيريا عنده (5.11 مليون خلية/ 1 غ تربة جافة)، ويمكن أن يعزى هذا الأداء إلى وجود تأثير تآزري بين العناصر؛ إذ يعمل الحديد على تعزيز التمعدن وإطلاق الأمونيوم، بينما يدعم الزنك والمولبيدنيوم عدداً من المسارات الاستقلابية المساعدة، على النقيض من ذلك أدت المعاملات المشتركة

الثنائية Zn+Mo(N) والثلاثية Zn+Fe+Mo(N) إلى انخفاض ملحوظ في أعداد هذه المجموعة الميكروبية مقارنة مع الشاهد، وهذا يتفق مع Charu and Dhan (2020) الذي بيّن أنّه قد يشكل إدخال الأسمدة النانوية في البيئة الطبيعية تهديداً للمجاميع الميكروبية المفيدة.

5-1-2- البكتريا المستخدمة للآزوت المعدني:

أشارت النتائج (جدول- 3) عن استجابة واضحة للبكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني تجاه المعاملات النانوية لأسمدة الزنك والحديد والمولبيدنيوم؛ حيث تفوقت معاملة الحديد النانوي Fe(N) معنوياً على جميع المعاملات، مسجلةً (3.75 مليون خلية/غ تربة جافة)، أي بزيادة بلغت (23.7)% مقارنة بالشاهد، وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليه He (2016) *et al* بأن الحديد النانوي قد أدى لتحسين عملية النترجة، و يؤكد هذا التفوق الدور المحوري للحديد كعامل مساعد أساسي في سلسلة إنزيمات النترجة المحورية، حيث يدعم بشكل غير مباشر عمل Ammonia Mono Oxygenase (AMO) المسؤول عن الخطوة الأولى والحاسمة لأكسدة الأمونيوم من خلال مراكز الحديد- كبريت[Fe- S] في بروتينات نقل الإلكترون (Arp *et al*., 2007; Stein, 2019)، و يدخل بشكل مباشر في تركيب مراكز Fe] [S- في إنزيم Nitrate reductase (NarG) (Gonzàlez *et al*., 2006)، و حديد الهيم في إنزيم Nitrite reductase(NirS) (Zumft, 1997)، مما يعزز بشكل عام من وتيرة وسرعة تحويل الأمونيوم إلى نترات، حيث يؤدي نقص الحديد إلى إعاقة كفاءة هذه العملية الحيوية، في المقابل سجلت معاملة Zn(N) زيادة طفيفة في أعداد هذه المجموعة الميكروبية (2.9)% مقارنة بالشاهد، مما يحسّن ظاهرياً من عملية النترجة، وهو اتجاه يتوافق مع نتائج Xu *et al*., 2018)، في حين أدت إضافة المولبيدنيوم النانوي Mo(N) منفرداً إلى تثبيط واضح لنشاط بكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني، مسجلةً أدنى القيم (2.42 مليون خلية/غ) بانخفاض قدره (20.1)% مقارنة بالشاهد، وقد لوحظ هذا التأثير السلبي في بكتيريا النشدرة (جدول- 3)

مما يعزز فرضية أن التأثير المثبط للموليبدنيوم قد يكون واسع النطاق وليس محصوراً بمجموعة وظيفية واحدة، واللافت للنظر أن المعاملة المشتركة Fe+Mo(N) أظهرت تحفيزاً لنشاط بكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني بزيادة معنوية (12.2)% مقارنة بالشاهد، وهذا يعكس تأثيراً تآزرياً واضحاً بين العنصرين؛ حيث يدعم الحديد كلاً من عمليات الأكسدة والاختزال في سلسلة النترجة، بينما دور الموليبدينوم يقتصر على مرحلة الاختزال في (Gonzàlez *et al*., 2006) Nitrate reductas، وهذا يفسر الأداء السلبي للموليبدينوم المنفرد في تجربتنا، حيث أن غياب الدعم الكافي من الحديد لمراحل الأكسدة الأولى يعطل التدفق المتكامل للمركبات النيتروجينية نحو مرحلة الاختزال، مما يحول دون تحقيق الفعالية المرجوة، بينما عند التطبيق المشترك، يوفر الحديد الدعم اللازم لمراحل الأكسدة الأولية، مما يهيئ التدفق الأمثل للمواد الوسيطة نحو مواقع الاختزال المعتمدة على الموليبدينوم (Kuypers *et al*., 2018)، علاوة على ذلك يضمن الشكل النانوي لكلا العنصرين كفاءة أعلى في توصيلها للتربة، وذلك من خلال زيادة مساحة سطحها وآليات الإطلاق المُتحكم فيه، مما يُحسّن من استغلالها من قبل المجتمعات الميكروبية عبر تفعيل إنزيمات التربة وتعزيز النشاط البكتيري في منطقة الجذور (Gulaiya *et al*., 2025)، وفي السياق نفسه أدت معاملة Zn+Fe(N) الى ارتفاع غير معنوي (3.25 مليون خلية/غ) بنسبة (7.2)% عن الشاهد، ومرة أخرى تكرر التأثير المثبط القوي للمعاملة الثلاثية Zn+Fe+Mo(N) على بكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني، مؤكداً بذلك نمطاً ثابتاً لوحظ سابقاً على بكتيريا النشدرة، وقد يُفسر ذلك نتيجة لكون عملية النترجة متطلبة للطاقة أصلاً، فإن البكتيريا المستخدمة للنيتروجين المعدني تكون بالتبعية أقل تحملاً لأي ضغط إضافي، فعند تعرضها لإجهاد مزدوج (كذلك الناجم عن أيونات المعدن وأنواع الأكسجين التفاعلي ROS)، توجّه هذه البكتيريا مواردها الطاقية المحدودة أساساً نحو عمليات إصلاح الضرر الخلوي على حساب استثمارها في النمو والتكاثر، وهذا التوجيه القسري للطاقة، المقترن بالطبيعة المهدرة

أصلاً لاستقلابها تحت الإجهاد – كتحويل المسارات لإنتاج غاز N_2O – يثبط نشاطها بشكل حاد (Prosser *et al*., 2019). والجدير بالذكر فإن ديناميكية تغير مجموعة بكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني تشابهت مع ديناميكية تغير بكتيريا النشدرة، وهذا أمر منطقي لأن هذه المجموعة تعمل على منتجات بكتيريا النشدرة في إطار ما يُعرف بالتتابع الغذائي (العيسى، 2007).

5-1-3- *Azotobacter*:

أظهرت التحاليل الإحصائية (الجدول-3) استجابة معنوية للأزوتوباكتر للتسميد بالعناصر النانوية للزنك والحديد والمولبيدنيوم، مما يعكس حساسية عالية لديناميكية تثبيت النيتروجين الحيوي تجاه توافر هذه العناصر النادرة، إذ تفوقت المعاملات النانوية المنفردة معنوياً مقارنة بالشاهد، مع الإشارة إلى أن المعاملات الثلاث الأولى لم يظهر بينها فرق معنوي، إذ بلغت أعداد الآزوتوباكتر(1.59,1.49 ,1.55 مليون خلية/غ تربة جافة) عند استخدام معاملات Zn(N), Fe(N), Mo(N)، وبنسب زيادة (50.4, 54.3, 44.7)% عن الشاهد على التوالي، ويُعزى هذا الأداء الاستثنائي إلى الأدوار المحورية المنفردة لكل عنصر في تنشيط الآليات الإنزيمية المسؤولة عن تثبيت النيتروجين وتعزيز الاستقلاب الخلوي، فالحديد يشارك في تركيب بروتينات الحديد- كبريت الحيوية (Fe-S proteins) مثل الفيرودوكسين (Andrews *et al.*,2003)، والتي بدورها تنقل الإلكترونات لبروتين الحديد الحاوي على عنقود $[S_4\text{-}Fe_4]$، الذي يعمل كمانح إلكتروني أساسي وحصري للنيتروجيناز خلال عملية اختزال النيتروجين الجوي (Rutledge and Tezcan, 2020)، في حين يشكل المولبيدنيوم (Mo) المكون المركزي للعامل المساعد (FeMo-co) داخل النيتروجيناز، والذي يُعد الموقع المحفز النشط لارتباط جزيء النيتروجين N_2 واختزاله (Einsle and Rees, 2020)، حيث بيّن Ribbe *et al* (2014) أن إدخال ذرة الموليبدينوم هو خطوة حاسمة في المسار الحيوي المعقد لتجميع هذا العامل

المساعد (FeMo-co) وإكسابه نشاطه التحفيزي الكامل، في حين ينشط الزنك (Zn^{2+}) مجموعة واسعة من الإنزيمات المنظمة للطاقة والتمثيل الغذائي العام، محسناً من كفاءة البكتيريا (Broadley *et al.*, 2007)، هذا فضلاً عن التأثير غير المباشر لهذه العناصر في تعزيز الإفرازات الجذرية النباتية الداعمة للمجتمع الميكروبي (Sasse *et al.*, 2018)، أما بالنسبة للمعاملات المشتركة، فقد قدمت المعاملة التآزرية Fe+Mo(N) نموذجاً للتكامل الوظيفي بين العناصر؛ حيث حققت أعلى قيمة بين جميع معاملات التجربة، ولكن دون أن يكون هناك فرق معنوي بينها وبين المعاملات الثلاث المنفردة، مسجلةً 1.64 مليون خلية/غ، وذلك بتفوق معنوي بلغ (59.2)% عن الشاهد، ويمكن تفسير هذا التآزر من خلال اقتران الدور الحيوي للحديد في تغذية سلسلة نقل الإلكترون (متمثلاً في الفيرودوكسين) بالدور الهيكلي والتحفيزي للمولبيدنيوم في مركز النيتروجيناز (عبر عامل FeMo-co)، مما يخلق تزامناً مثالياً بين إمداد الطاقة وتنفيذ عملية الاختزال (Andrews *et al.*,2003; Einsle and Rees, 2020)، علاوة على ذلك ربما أسهم التوافر الحيوي المتزامن للحديد والمولبيدنيوم في تعزيز الكفاءة الفيزيولوجية للنبات المضيف (كتعزيز البناء الضوئي)، مما انعكس إيجاباً على كمية ونوعية الإفرازات الجذرية الغنية بالكربون، والتي مثلت بدورها مصدر طاقة داعماً للنشاط الميكروبي (Sasse *et al.*, 2018)، واللافت للانتباه أن المعاملة الثلاثية Zn+Fe+Mo(N) أسفرت أيضاً عن زيادة معنوية في أعداد هذه المجموعة الميكروبية بلغت (22.6)% مقارنة بالشاهد، على النقيض تماماً من التأثير المثبط الذي أحدثته نفس المعاملة في المجموعات الميكروبية الأخرى (بكتريا النشدرة و بكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني)، فكيف استطاعت *Azotobacter* تفادي هذا التثبيط بل والاستفادة من تلك العناصر؟، يمكن تفسير ذلك بامتلاك هذه البكتريا مجموعة متطورة من آليات الدفاع والتكيف الفريدة، أهمها: تشكيل أغلفة عديدة السكاريد (Capsules) سميكة تعمل كحاجز فيزيائي واقٍ يساهم في حماية الخلية من الظروف البيئية الضارة مثل الجفاف

والإشعاع (Patil *et al*., 2020)، ووفقاً لنتائج تجربتنا الحالية، يُرجح أن هذا الحاجز ساهم في الحد من وصول الجسيمات النانوية والأيونات عالية السمية إلى جدار الخلية، كما تمتلك الآزوتوباكتر قدرة استثنائية على التحول إلى أكياس (Cysts) ذات جدار سميك وحالة سكونية عند التعرض للإجهاد، وهي بُنى مقاومة تم توثيقها لمقاومة الجفاف والأشعة فوق البنفسجية والظروف غير الملائمة (Patil *et al*., 2020)، مما يضمن بقاءها في بيئات قد تكون قاسية على الكائنات الدقيقة الأخرى. إضافة إلى ذلك، وكما أظهرت نتائج الدراسة الحالية، فقد أبدت الآزوتوباكتر قدرة ملحوظة على الاستفادة من العناصر النانوية (مثل الزنك– الحديد– المولبيدنيوم) كمغذيات دقيقة محفزة للنمو والتمثيل الغذائي عندما تكون متوفرة بتراكيز مناسبة وغير سامة، وبتكامل هذه الآليات المتطورة لم تتمكن الآزوتوباكتر من تجنب الآثار السلبية المحتملة فحسب، بل استطاعت تحفيز نموها ونشاطها الاستقلابي في وجود هذه العناصر، وفي المقابل، لم تسجل المعاملات المشتركة الأخرى Zn+ Fe (N) و Zn+Mo (N) فروق معنوية مقارنة بالشاهد، مما يشير إلى أن التأثير التآزري الأمثل يتحقق عند وجود الثنائي (الحديد + المولبيدنيوم) النانوي تحديداً.

جدول (3): تأثير التسميد بالزنك والحديد والموليبدنيوم النانوي على : بكتيريا النشدرة– البكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني– *Azotobacter*

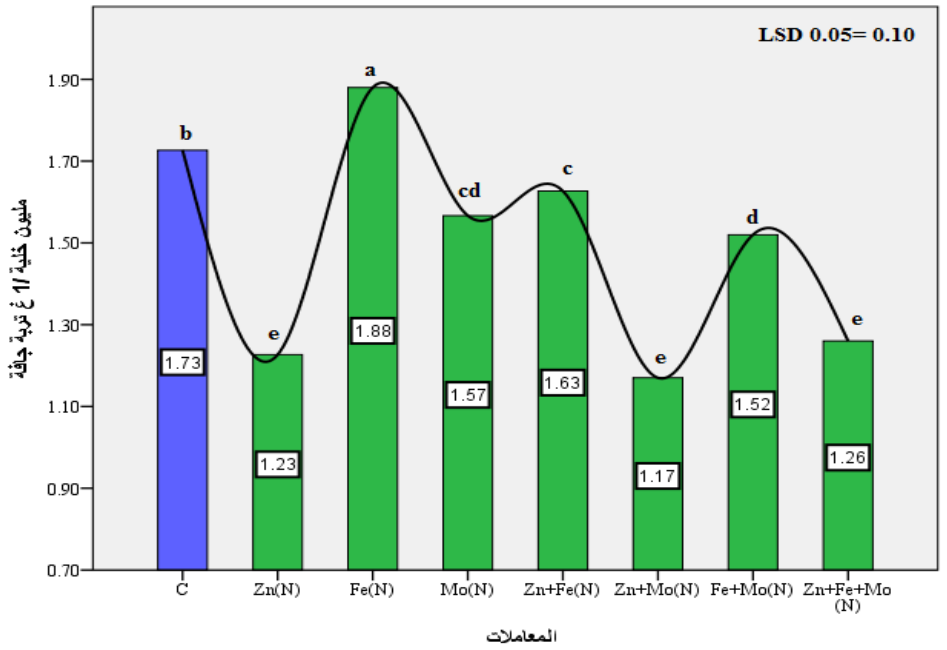
المجاميع الميكروبية / المعاملات	بكتيريا النشدرة	البكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني	***Azotobacter***
	مليون/1غ تربة جافة		
c	5.11^{de}	3.03^{d}	1.03^{c}
Zn(N)	5.49^{cd}	3.12^{cd}	1.55^{a}
Fe(N)	6.53^{a}	3.75^{a}	1.59^{a}
Mo(N)	5.02^{de}	2.42^{f}	1.49^{a}
Zn+Fe(N)	5.75^{bc}	3.25^{bc}	1.13^{bc}
Zn+Mo(N)	4.85^{e}	2.60^{ef}	1.14^{bc}
Fe+Mo(N)	6.03^{ab}	3.40^{b}	1.64^{a}
Zn+Fe+Mo(N)	4.27^{f}	2.64^{e}	1.26^{b}
LSD_N 0.05	0.513	0.193	0.155

* تدل أحرف الدلالات الإحصائية على المعاملات المعنوية حسب الترتيب الأبجدي اعتماداً على قيم LSD

5-1-4- البكتريا المتبوغة التابعة للجنس *Bacillus*:

كشفت النتائج عن حساسية ملحوظة للبكتيريا المتبوغة تجاه الأشكال النانوية لأسمدة الحديد والزنك والمولبيدنيوم مع تفاوت كبير في استجابتها (شكل 1)، فقد سجّلت معاملة الحديد النانوي المنفرد Fe(N) أعلى قيم معنوية لأعداد هذه البكتيريا (1.88 مليون خلية/غ)، مُحَقّقة زيادة نسبتها (8.7)% عن معاملة الشاهد، ويمكن أن يُعزى هذا التفوق إلى الدور المحوري لأيونات الحديد النانوية في تنشيط سلاسل نقل الإلكترون والإنزيمات الأساسية المشاركة في استقلاب الطاقة، مما يدعم النمو والتكاثر البكتيري (Madigan *et al*., 2018)، بالإضافة لذلك يعمل الحديد كعامل مساعد أساسي في سلسلة إنزيمات التحلل الميكروبي، مما يدعم كفاءة هذه البكتيريا في تمعدن المادة العضوية، وهذا يتفق مع نتيجة Frenk *et al* (2013) الذي أشار أنّه عند استخدام الحديد النانوي لوحظ زيادة في جنس *Bacillus* بشكل ملحوظ، وأيضاً أدى لتحسين إمكانية *Bacillus* من تحليل المركبات المعقدة في التربة، في المقابل أظهرت معاملة الزنك النانوي المنفرد Zn(N) تأثيراً مثبطاً معنوياً، حيث انخفضت الأعداد من (1.73 مليون خلية/غ) في الشاهد إلى (1.23 مليون خلية/غ) عند هذه المعاملة، وبنسبة انخفاض معنوي بلغت (28.9)%، وهذا يتفق مع نتائج دراسة Elumalai *et al* (2015) الذي لاحظ النشاط المضاد لجزيئات أكسيد الزنك (ZnO) ضد السلالات البكتيرية مثل*Bacillus subtilis* ، وعلاوة على ذلك، يمكن أن يفسر هذا التثبيط بقدرة جسيمات أكسيد الزنك النانوية على إحداث إجهاد تأكسدي داخل الخلايا، من خلال آليتي: إطلاق أيونات الزنكZn^{2+}، وتوليد أنواع الأكسجين التفاعلية المدمرة للمكونات الخلوية (Sirelkhatim *et al*., 2015)، أما المعاملة المنفردة للمولبيدنيوم النانوي Mo(N) فقد سجلت أعداداً بلغت (1.57 مليون خلية/غ)، مع انخفاض معنوي قدره (9.2)% مقارنة بالشاهد، ويمكن تفسير هذا التثبيط الطفيف للمولبيدنيوم إلى أن وظائفه المعروفة في دعم إنزيمات النيتروجيناز واختزال النترات، لا تمثل أولوية استقلابية للبكتيريا المتبوغة تحت الظروف التجريبية المطبقة، وبالنسبة للمعاملات المشتركة، سجلت

المعاملة Fe+Mo(N) انخفاضاً معنوياً في أعداد هذه المجموعة البكتيرية بنسبة (13.8)% مقارنة بالشاهد، في حين أدت المعاملة Zn+Fe(N) إلى انخفاض طفيف غير معنوي في الأعداد بنسبة انخفاض (5.8)% عن الشاهد، أما المعاملة الثلاثية Zn+Fe+Mo(N) فقد سجلت انخفاضاً معنوياً بلغ (1.26 مليون خلية/غ)، وبنسبة انخفاض (27.2)% مقارنة بالشاهد، مما يؤكد وجود تأثير تثبيطي تراكمي قوي في الخلطات التي تجمع الزنك مع عناصر أخرى، فيما كانت المعاملة الثنائية Zn+Mo(N) هي الأكثر تثبيطاً بين جميع المعاملات النانوية، حيث انخفضت الأعداد إلى (1.17 مليون خلية/غ)، مسجلة انخفاضاً معنوياً بلغ (32.4)%.



شكل (1): تأثير التسميد النانوي بالحديد والزنك والمولبيدنيوم على البكتريا المتبوغة التابعة للجنس *Bacillus*

5-1-5- الأكتينومايستات:

أسفرت النتائج التي تم الحصول عليها (الجدول- 4) عن استجابة ذات دلالة معنوية لمجموعة الأكتينومايستات لمعاملات التسميد النانوي بالزنك والحديد والمولبيدنيوم، وهذا يدل على أن كفاءة هذه المجموعة البكتيرية في تدوير المغذيات في التربة تتأثر بتغيرات توافر العناصر الصغرى؛ إذ تفوّقت المعاملة النانوية المشتركة للحديد والمولبيدنيوم Fe+Mo(N) معنوياً على جميع المعاملات، مسجلةً أعلى القيم والتي بلغت (2.14 مليون خلية/غ تربة جافة)، وبنسبة زيادة معنوية (87.7) % مقارنةً بالشاهد، ويأتي هذا الأداء المتآزر من الدور التكاملي لكلا العنصرين في الدعم الإنزيمي؛ حيث يدعم الحديد النانوي عمل إنزيمات سلسلة نقل الإلكترون مثلNADH Dehydrogenase و Cytochrome c Oxidase، والتي تعتمد في تركيبها على مركبات الحديد-الكبريت ومجموعات الهيم الحديدية (Madigan *et al*., 2018) مما يضمن تدفقاً إلكترونياً فعالاً وإنتاجاً رئيساً لـ ATP اللازم لعمليات النمو والانقسام وكذلك يدعم عمل الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل الكاتالاز والبيروكسيداز التي تعتمد في تركيبها على مجموعة الهيم الحديدية في مراكزها النشطة (Nelson and Cox, 2017)، وفي المقابل، وكما هو معروف يُعد المولبيدنيوم عنصراً حيوياً لا غنى عنه في تركيب النيتروجيناز(Nitrogenase) لدى السلالات القادرة على تثبيت النيتروجين الجوي، وكذلك في بعض إنزيمات الاستقلاب الثانوية (Schwarz *et al*., 2009)، وهذا التآزر الوظيفي يؤكده دراسة (Vigani *et al*., 2023) التي كشفت عن تأثير تبادلي في آلية الحفاظ على التوازن الداخلي للحديد والمولبيدنيوم؛ حيث يؤثر مستوى أحدهما على امتصاص وتوزّع الآخر داخل الأنسجة وعلى المستوى الميتوكوندري (المتقدرات)، مما يحسّن كفاءة المسارات الاستقلابية وخاصة تلك المتعلقة باستقلاب النيتروجين، إلى جانب أن الشكل النانوي للعناصر تحسّن التوافر الحيوي والاستهداف الدقيق (Gulaiya *et al*., 2025)، مما يخلق بيئةً مثاليةً لنمو جيد

لهذه المجموعة، وسجّلت المعاملة المنفردة للحديد النانوي Fe(N) ارتفاعاً في أعداد هذه المجموعة بلغ (1.50 مليون خلية /غ) بزيادة معنوية (31.6)% عن الشاهد، يليه في الأداء المولبيدنيوم المنفرد Mo(N) بقيم (1.30 مليون خلية /غ) بزيادة معنوية (14)% مقارنة بالشاهد، بينما كان أداء الزنك المنفرد Zn(N) متواضعاً وغير معنوي بقيمة (1.20 مليون خلية /غ) و بزيادة محدودة (5.2)%، أما المعاملة المشتركة الثنائية Zn+Fe(N) فقد سجلت أعداداً (1.32 مليون خلية/غ) بزيادة معنوية (15.8)% عن الشاهد، كما أظهرت المعاملة الثنائية Zn+Mo(N) أداءً مشابهاً (1.34 مليون خلية/غ) بزيادة معنوية (17.5)% بالمقارنة مع الشاهد، وبشكل عام السماد النانوي سواء بشكل منفرد أو مشترك ساهم في زيادة أعداد الأكتينومايستات، وهذا يتفق مع نتيجة Grün *et al* (2018) الذي أشار إلى أنه تم تحفيز الأكتينومايستات عند استخدام الأسمدة النانوية.

اللافت للانتباه حقاً هو الاستجابة المختلفة لهذه المجموعة للمعاملة الثلاثية Zn+Fe+Mo(N)؛ فبينما أحدث هذا الخليط تأثيراً مثبطاً على مجموعات بكتيريا النشدرة والبكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني والبكتيريا المتبوغة، بقيت أعداد الأكتينومايستات (1.17 مليون خلية/غ) لا تختلف معنوياً عن معاملة الشاهد، فما سر هذه المرونة والصمود حيث فشلت غيرها؟ يكمن التفسير في آليات الدفاع والتكيف المتطورة التي تمتلكها هذه الكائنات: أولاً، جدارها الخلوي السميك وشبكة الهيفات (Hyphae) الواسعة – خط دفاع أولي ضد الإجهاد البيئي (Barka *et al*., 2016)،التي قد تلعب دوراً في تقليل اختراق الأيونات السامة للخلايا الميكروبية، وثانياً، قدرتها على تكوين الأبواغ (Spores) التي تضمن بقاءها في ظروف الإجهاد (Flärdh and Buttner, 2009)، وثالثاً، مرونتها الاستقلابية التي تمكنها من إعادة برمجة مساراتها الاستقلابية للتكيف مع الإجهاد (Van der Heul *et al*., 2018) ، وهكذا قاومت الأكتينومايستات الضغط الناتج عن المعاملة الثلاثية، مستفيدةً من آلية التحرر المنظم

والمتحكم به للأشكال النانوية للعناصر المدروسة (Gulaiya *et al*., 2025)، والتي منحتها الوقت الكافي لتفعيل كل هذه الآليات الدفاعية المتطورة.

5-1-6- الفطريات:

كشفت تحليلات التباين (ANOVA) عن وجود اختلافات إحصائية بارزة ($P \leq 0.05$) (جدول 4) في استجابة الفطريات لمعاملات التسميد النانوي بالزنك والحديد والمولبيدنيوم؛ حيث تفوقت المعاملة النانوية المشتركة للحديد والمولبيدنيوم Fe+Mo(N) معنوياً على جميع المعاملات، مسجلةً أعلى القيم على الإطلاق والتي بلغت (32.95 ألف خلية/غ تربة جافة)، وبنسبة زيادة معنوية بلغت تقريباً 145% مقارنةً بالشاهد الذي كانت أعداد الفطريات عنده (13.40 ألف خلية/غ تربة جافة)، وهذا يتفق مع نتيجة Nibin *et al* (2019) الذي لاحظ زيادة في أعداد الفطريات عند استخدام سماد النانو، ويمكن أن يُفسر هذا الأداء التآزري إلى وجود آليات تحفيزية متكاملة تتلاءم مع الخصائص الفيزيولوجية للفطريات، إذ ساهم الحديد النانوي في تعزيز الكفاءة التنفسية داخل الميتوكوندريا عبر تنشيط إنزيمات سلسلة نقل الإلكترون (Cytochromes)، مما وفر كميات كبيرة من طاقة (ATP) الداعمة لعملية الانتشار والتحلل (Madigan *et al*., 2019)، بالمقابل عمل المولبيدنيوم على دعم التكاثر الخلوي من خلال مشاركته في تنشيط إنزيمات استقلاب البيورينات (مثل Xanthine Oxidase) والتي توفر اللبنات الأساسية لتخليق الحمض النووي (DNA/RNA) للانقسام الخلوي ودعم النمو العام للهيفات الفطرية (Schwarz *et al*., 2009)، وسجلت المعاملة المنفردة للمولبيدنيوم النانوي Mo(N) أعلى قيمة بين المعاملات المنفردة (26.46 ألف خلية/غ) بزيادة معنوية (97.5)% مقارنة بالشاهد، فيما حلّت المعاملة المنفردة للحديد النانوي Fe(N) في المرتبة التالية بأعداد (24.21 ألف خلية/غ) بزيادة معنوية (80.7)% مقارنة بالشاهد، وعلى النقيض، أظهرت المعاملة المنفردة للزنك النانوي Zn(N) تأثيراً مثبطاً طفيفاً وغير معنوي، حيث انخفضت الأعداد

إلى (12.35 ألف خلية/غ) بنسبة تغير (−7.8)% مقارنة بالشاهد، مما يشير إلى حساسية بعض السلالات الفطرية لتركيز أوكسيد الزنك النانوي، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه (2015) Elumalai *et al* حيث اكتشفوا نشاطاً مضاداً من قبلZnO للفطريات المسببة للأمراض الفطرية النباتية مثل *Aspergillus flavus* و*Aspergillus niger* ، أما بالنسبة لباقي المعاملات النانوية المشتركة، فقد سجلت أعداد فطريات المعاملة الثنائية Zn+Fe(N) قيماً متوسطة بلغت (13.39 ألف خلية/غ)، ولم تختلف هذه القيم معنوياً عن معاملة الشاهد، مما قد يشير إلى وجود تأثير متعادل أو تنافسي بين عنصري الزنك والحديد عند استخدامهما معاً بهذه الصيغة النانوية، وسجلت المعاملة الثنائية Zn+Mo(N) أعداداً متقاربة (13.83 ألف خلية/غ)، بدون فروق معنوية مقارنة بالشاهد، في حين أن المعاملة الثلاثية Zn+Fe+Mo(N) سجلت أعداداً (16.17 ألف خلية/غ)، وحققت زيادة طفيفة وغير معنوية عن الشاهد بنسبة (20.7) %، ويشير هذا إلى أن الفطريات تملك مرونة لمقاومة التأثير السلبي لهذه المعاملة الذي لوحظ على بعض المجموعات الميكروبية السابقة (بكتريا النشدرة، بكتريا المستخدمة للآزوت المعدني، بكتيريا المتبوغة)، ويعزى ذلك إلى أن الفطريات تمتلك جداراً خلوياً سميكاً(مكون من الكيتين والغلوكان) يشكل حاجزاً فيزيائياً فعالاً يحد من اختراق المواد الخارجية – ومنها الجسيمات النانوية في هذه الدراسة – والوصول إلى داخل الخلية (Gadd, 2006)، وبالإضافة لذلك تنتج بعض الفطريات مركبات طبيعية مخلبة مثل الأحماض العضوية (الأوكساليك، الستريك) والميلانين، التي ترتبط بالمعادن الثقيلة في الوسط المحيط بالخلايا، مما يشكل حاجزاً كيميائياً يحد من دخولها إلى السيتوبلازم ويقلل من سميتها (Bellion *et al.*, 2006)، وعلاوة على ذلك تمتلك الفطريات قدرة على تعديل مساراتها الاستقلابية من خلال زيادة إنتاج الجلوتاثيون والأحماض العضوية، وتفعيل أنظمة النقل الخلوية لطرد المعادن الزائدة إلى الفجوات أو خارج الخلية، مما يحافظ على التوازن الأيوني ويقلل من السمية الخلوية (Bellion

(*et al*., 2006، هذه الآليات المتكاملة تمنح الفطريات قدرة استثنائية على تحمل الإجهاد المعدني والتكيّف مع الظروف غير المثلى مقارنة بالمجموعات الميكروبية الأخرى.

5-1-7- البكتيريا المذيبة للفوسفور Phosphate solubilizing bacteria (PSB):

ازدادت أعداد البكتريا المذيبة للفوسفور عند استخدام أسمدة الزنك والحديد والمولبيدنيوم النانوية، إذ أظهرت النتائج وجود تأثير عالي المعنوية ($P \leq 0.05$) للمعاملات النانوية على أعداد هذه المجموعة الميكروبية (جدول-4)، حيث تفوقت معنوياً المعاملة المشتركة للحديد والمولبيدنيوم Fe+Mo(N) على جميع المعاملات، مسجلةً أعلى القيم (4.64 مليون خلية/غ)، بنسبة زيادة بلغت 111.9 % مقارنةً بالشاهد، ويمكن أن يعزى هذا التفوق إلى تآزر واضح بين العنصريين النانويين؛ حيث يدعم الحديد - بكونه مكوناً أساسياً في إنزيمات متنوعة - العمليات الاستقلابية العامة للميكروبات (Madigan *et al*., 2018)، فيما يلعب الموليبدينوم دوراً تمهيدياً حيوياً من خلال دخوله في العامل المساعد (Moco)، اللازم لنشاط إنزيمات حيوية مثل Nitrate reductase المسؤول عن تمثيل النيتروجين، وإنزيم Xanthine Oxidase المنظم لاستقلاب البيورينات (Kaiser *et al*., 2005)، مما يوفر اللبنات الأساسية والطاقة اللازمة لتخليق البروتينات والإنزيمات المحللة للفوسفات، ويعزز مع الحديد التدفق الاستقلابي الذي يدعم بدوره الإفراز الفعال للأحماض العضوية (مثل الغلوكونيك والكيتوغلوكونيك) التي تمثل الآلية المباشرة لإذابة الفوسفات غير الذائبة (Sharma *et al*., 2013)، أما المعاملة المنفردة للمولبيدنيوم النانوي Mo(N) جاءت في المرتبة الثانية بعدد بلغ (3.76 مليون خلية/غ)، بزيادة معنوية بنسبة 71.7 % عن الشاهد، بينما سجلت معاملة الحديد النانوي المنفردة Fe(N) أداءً قوياً أيضاً في أعداد هذه المجموعة الميكروبية، حيث بلغت (3.46 مليون خلية/غ) بزيادة معنوية نسبتها 58% مقارنة بالشاهد، وفي سياق متصل سجلت معاملة الزنك النانوي المنفرد

Zn(N) زيادة معنوية بلغت 36.1 %عن الشاهد، مسجلةً قيماً بلغت (2.98 مليون خلية/غ)، أما بالنسبة للمعاملات التي شملت الزنك، فقد سجلت المعاملة الثنائية Zn+Mo(N) أعداداً بلغت (3.40 مليون خلية/غ)، بزيادة معنوية نسبتها 55.3% مقارنة بالشاهد، في حين ارتفعت معنوياً أعداد هذه المجموعة الميكروبية مع المعاملة الثنائية Zn+Fe(N) وبنسبة 18.7% عن الشاهد، ويتفق هذا الأداء المحفز لأعداد البكتيريا المذيبة للفوسفور مع الآلية الوظيفية التي كشفت عنها دراسة Poorna Chandrika *et al* (2025)، حيث أشارت إلى أن جسيمات الحديد والزنك النانوية أدت إلى تحفيز معنوي في نشاط الفوسفاتاز الحمضي في التربة، وبالإضافة إلى ذلك، يمكن أن يُفسّر التفوق المعنوي للمعاملات السابقة إلى دور أيونات الزنك النانوية المزدوج: فأولاً، تعمل كعامل مساعد أساسي لإنزيمات الديهيدروجينيز (مثل مالات الديهيدروجينيز) في دورة حمض الستريك، مما قد يعزز إنتاج الطاقة (ATP) اللازمة لإفراز الأحماض العضوية (Broadley *et al*., 2007; Sharma *et al*., 2013) ، وثانياً، يشكل تحررها المنظم إشارة إجهاد معتدل يحفز الآليات الدفاعية للبكتيريا، التي تستجيب بتعزيز إفراز الأحماض العضوية (كالجلوكونيك والستريك) التي تعمل كمخلبات طبيعية تقلل سمية المعادن في الوسط (Sharma *et al*., 2013)، و هذا التوازن بين التغذية الطاقية وتخفيف الإجهاد يخلق بيئة مثلى لتعزيز كفاءة البكتيريا في إذابة الفوسفات، وهو ما يتوافق مع المبدأ العام الذي أكدته نتائج دراسة Dimkpa *et al* (2008) حيث أدى تخفيف الإجهاد المعدني بواسطة المواد المخلبية إلى تحسين الإنتاجية والحيوية في النظام الميكروبي المدروس، وفيما يتعلق بالمعاملة الثلاثية Zn+Fe+Mo(N)، فقد سجلت أعداداً بلغت (3.19 مليون خلية/غ) بزيادة معنوية واضحة بلغت تقريباً 45% عن الشاهد، مما يؤكد مرونة هذه البكتيريا في مقاومة التأثير السلبي الذي شوهد على مجموعات أخرى مثل بكتيريا النشدرة والبكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني والبكتيريا المتبوغة عند التعرض لنفس الخليط الثلاثي، وذلك بفضل آلية عملها

الأساسية القائمة على إفراز الأحماض العضوية التي ترتبط بالأيونات المعدنية وتقلل من سميتها (Sharma *et al*., 2013).

(جدول 4): تأثير التسميد بالزنك والحديد والمولبيدنيوم النانوي على (الأكتينومايستات– الفطريات– البكتيريا المذيبة للفوسفور)

المجاميع الميكروبية / المعاملات	الأكتينومايستات	الفطريات	البكتيريا المذيبة للفوسفور
	مليون / غ تربة جافة	ألف / غ تربة جافة	مليون / غ تربة جافة
c	1.14^{d}	13.40^{c}	2.19^{g}
Zn(N)	1.20^{d}	12.35^{c}	2.98^{e}
Fe(N)	1.50^{b}	24.21^{b}	3.46^{c}
Mo(N)	1.30^{c}	26.46^{b}	3.76^{b}
Zn+Fe(N)	1.32^{c}	13.39^{c}	2.60^{f}
Zn+Mo(N)	1.34^{c}	13.83^{c}	3.40^{c}
Fe+Mo(N)	2.14^{a}	32.95^{a}	4.64^{a}
Zn+Fe+Mo(N)	1.17^{d}	16.17^{c}	3.19^{d}
LSD_N 0.05	0.081	4.689	0.150

* تدل أحرف الدلالات الإحصائية على المعاملات المعنوية حسب الترتيب الأبجدي اعتماداً على قيم LSD

6- الاستنتاجات:

1- تباينت استجابة المجاميع الميكروبية في التربة للتسميد بالعناصر النانوية (الحديد- الزنك- الموليبدنيوم) بشكل واضح، وذلك حسب نوع العنصر وطريقة التطبيق (منفرداً أو مشتركاً).

2- أدت المعاملة المشتركة للحديد والموليبدنيوم النانويين Fe+Mo(N) إلى تحقيق أعلى زيادة في أعداد الأكتينوميسيتات والفطريات والبكتيريا المذيبة للفوسفور، مما يشير إلى وجود تأثير تآزري بين هذين العنصرين تجاه هذه المجموعات البكتيرية.

3- تفوقت المعاملة بالحديد النانوي (منفرداً أو مع الموليبدنيوم) في تحفيز نمو بكتيريا الآزوتوباكتر والبكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني، مسجلةً أعلى القيم مقارنة بباقي المعاملات.

4- أظهرت بكتيريا النشدرة والبكتيريا المستخدمة للآزوت المعدني حساسية ملحوظة تجاه التسميد المشترك بالزنك والموليبدنيوم النانويين، حيث انخفضت أعدادها انخفاضًا معنوياً تحت تأثير هذه المعاملة.

5- تميزت بكتيريا الآزوتوباكتر والأكتينوميسيتات والبكتيريا المذيبة للفوسفور بمقاومة أعلى للتسميد بالزنك النانوي مقارنة بالمجموعات الميكروبية الأخرى، وذلك بفضل آلياتها الدفاعية المتطورة.

7- مقترح

يجب أن يكون اختيار التسميد النانوي قراراً صحيحاً، يرتكز على نوع العنصر النانوي، وتفاعلاته (التآزرية أو التنافسية) مع العناصر الأخرى، ومع المجموعة الميكروبية المستهدفة في التربة، وذلك لضمان إدارة مستدامة وفعّالة للتربة.

المصادر والمراجع

1- المراجع العربية:

1. الجردي، أحمد. (1992). **فيزياء الأراضي** – الجزء العملي. قسم التربة واستصلاح الأراضي، كلية الزراعة، جامعة حلب.
2. عودة، محمود؛ وسمير شمشم. 2008. **خصوبة التربة وتغذية النبات**. منشورات جامعة حمص - كلية الهندسة الزراعية.
3. العيسى، عبد الله -علوش، ميساء(2006). **أساسيات علم الأحياء الدقيقة**،(الجزء العملي)،جامعة البعث، مديرية الكتب والمطبوعات.
4. العيسى، عبد الله (2007). ميكروبيولوجيا التربة. منشورات جامعة البعث- كلية الهندسة الزراعية.
5. راين، جون.اسطفان، جورج . والرشيد، عبد . (2003) .**دليل مخبري لتحليل التربة والنبات**، المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة ، الإصدار الأول بالغة العربية، حلب ، سورية، ص134 .-123

2- المراجع الأجنبية:

1. Andrews, S. C., Robinson, A. K., & Rodríguez-Quiñones, F. (2003). Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiology Reviews, 27*(2-3), 215–237. https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00055-X
2. Arp, D. J., Chain, P. S. G., & Klotz, M. G. (2007). The impact of genome analyses on our understanding of ammonia-oxidizing bacteria. *Annual Review of Microbiology, 61*, 503–528. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093449
3. Ayi, A. A., Anyama, C. A., & Khare, V. (2015). On the synthesis of molybdenum nanoparticles under reducing conditions in ionic liquids. *Journal of Materials, 2015*(1), Article 372716. https://doi.org/10.1155/2015/372716
4. Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80*(1), 1–43. https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15
5. Baruah, T.C., & Barthakur, H.P. (1997). *A text book of soil analysis*. Vikas Publishing House PVT LTD.
6. Bellion, M., Courbot, M., Jacob, C., Blaudez, D., & Chalot, M. (2006). Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Letters, 254*(2), 173–181. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2005.00044.x
7. Ben-Moshe, T., Frenk, S., Dror, I., Minz, D., & Berkowitz, B. (2013). Effects of metal oxide nanoparticles on soil properties. *Chemosphere, 90*(2), 640–646.
8. Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I., & Lux, A. (2007). Zinc in plants. *New Phytologist, 173*(4), 677–702.
9. Chai, H., Yao, J., Sun, J., Zhang, C., Liu, W., Zhu, M., & Ceccanti, B. (2015). The effect of metal oxide nanoparticles on functional bacteria and metabolic profiles in agricultural soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 94*(4), 490–495.

10. Charu, G., & Dhan, P. (2020). Effect of soil fertilizers on soil microflora. *Annals of Plant Sciences, 9*(5), 3846–3859.
11. Dimkpa, C. O., Merten, D., Svatoš, A., Büchel, G., & Kothe, E. (2009). Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores. *Soil Biology and Biochemistry, 41*(1), 154–162. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.10.010
12. Einsle, O., & Rees, D. C. (2020). Structural enzymology of nitrogenase enzymes. *Chemical Reviews, 120*(12), 4969–5004. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00067
13. Elumalai, K., Velmurugan, S., Ravi, S., Kathiravan, V., & Ashok Kumar, S. (2015). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Moringa oleifera leaf extract and evaluation of its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 143*, 158–164.
14. Flärdh, K., & Buttner, M. J. (2009). Streptomyces morphogenetics: Dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature Reviews Microbiology, 7*(1), 36–49. https://doi.org/10.1038/nrmicro1968
15. Frenk, S., Ben-Moshe, T., Dror, I., Berkowitz, B., & Minz, D. (2013). Effect of metal oxide nanoparticles on microbial community structure and function in two different soil types. *PLoS One, 8*(12), e84441. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084441
16. Gadd, G. M. (2006). Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycological Research, 111*(1), 3–49. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.12.001
17. González, P. J., Correia, C., Moura, I., Brondino, C. D., & Moura, J. J. G. (2006). Bacterial nitrate reductases: Molecular and biological aspects of nitrate reduction. *Journal of Inorganic Biochemistry, 100*(5-6), 1015–1023. https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.11.024
18. Grün, A. L., & Emmerling, C. (2018). Long-term effects of environmentally relevant concentrations of silver nanoparticles on

major soil bacterial phyla of a loamy soil. *Environmental Sciences Europe, 30*(1), 1–13.

19. Gulaiya, S., Manzoor, U., Singh, S., Yadav, K., Singh Yadav, A., Kumar, R., Ahmed, B., & Kumar, R. (2025). The intersection of nanotechnology and agriculture: Enhancing soil fertility and nutritional outcomes—A comprehensive review. *Journal of Pure and Applied Microbiology, 19*(2), 889–901. https://doi.org/10.22207/JPAM.19.2.50
20. He, S., Feng, Y., Ni, J., Sun, Y., Xue, L., Feng, Y., Yu, Y., Lin, X., & Yang, L. (2016). Different responses of soil microbial metabolic activity to silver and iron oxide nanoparticles. *Chemosphere, 147*, 195–202. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.055
21. Jiling, C., Youzhi, F., Xiangui, L., & Junhua, W. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate the negative effects of iron oxide nanoparticles on bacterial community in rhizospheric soils. *Frontiers in Environmental Science, 4*, 10.
22. Kaiser, B. N., Gridley, K. L., Brady, J. N., Phillips, T., & Tyerman, S. D. (2005). The role of molybdenum in agricultural plant production. *Annals of Botany, 96*(5), 745–754. https://doi.org/10.1093/aob/mci226
23. Kuypers, M. M. M., Marchant, H. K., & Kartal, B. (2018). The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology, 16*(5), 263–276. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9
24. Maclean, E. O. (1982). Soil pH and lime requirement. In A. L. Page (Ed.), *Methods of soil analysis, part 2: Chemical and microbiological properties* (2nd ed., pp. 199–244). American Society of Agronomy, Soil Science Society of America.
25. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2018). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson.
26. Murphy, L. S., & Walsh, L. M. (1972). Correction of micronutrient deficiencies with fertilizers. In J. J. Mortvedt, P. M.

Giordano, & W. L. Lindsay (Eds.), *Micronutrients in agriculture* (pp. 347–387). Soil Science Society of America.

27. Naja, G., & Volesky, B. (2011). The mechanism of metal cation and anion biosorption. In P. Kotrba, M. Mackova, & T. Macek (Eds.), *Microbial Biosorption of Metals* (pp. 39–62). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0443-5_3
28. Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Lehninger principles of biochemistry* (7th ed.). W.H. Freeman.
29. Nibin, P. M., Ushakumari, K., & Ishrath, P. K. (2019). Organic Nano NPK formulations on soil microbial and enzymatic activities on post harvest soil of Bhindi. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *8*(4), 1814–1819.
30. Patil, S. V., Mohite, B. V., Patil, C. D., Koli, S. H., Borase, H. P., & Patil, V. S. (2020). Azotobacter. In N. A. Y. (Ed.), *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 397–426). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00019-8
31. Poorna Chandrika, K. S. V., Prasad, R. D., Sing, A., & Gopalan, B. (2025). Fe and Zn citrate nanoparticles: Effect on soil enzyme activities and microbiome. *RSC Advances*, *15*(18), 24058–24073. https://doi.org/10.1039/d5ra02986d
32. Prosser, J. I., Hink, L., Gubry-Rangin, C., & Nicol, G. W. (2019). Nitrous oxide production by ammonia oxidisers: Physiological diversity, niche differentiation and potential mitigation strategies. *Global Change Biology*, *26*(1), 103–118. https://doi.org/10.1111/gcb.14877
33. Ribbe, M. W., Hu, Y., Hodgson, K. O., & Hedman, B. (2014). Biosynthesis of nitrogenase metalloclusters. *Chemical Reviews, 114*(8), 4063–4080. https://doi.org/10.1021/cr400463x
34. Richard, L. A. (1954). *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook No. 60.
35. Rutledge, H. L., & Tezcan, F. A. (2020). Electron transfer in nitrogenase. *Chemical Reviews, 120*(12), 5158–5193. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00663
36. Sasse, J., Martinoia, E., & Northen, T. (2018). Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome? *Trends in Plant*

Science, 23(1), 25–41. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.09.003
37. Schwarz, G., Mendel, R. R., & Ribbe, M. W. (2009). Molybdenum cofactors, enzymes and pathways. *Nature, 460*(7257), 839–847. https://doi.org/10.1038/nature08302
38. Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus, 2*, 587. https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587.
39. Shcherbakova, E. N., Shcherbakov, A. V., Andronov, E. E., Gonchar, L. N., Kalenskaya, S. M., & Chebotar, V. K. (2017). Combined pre-seed treatment with microbial inoculants and Mo nanoparticles changes composition of root exudates and rhizosphere microbiome structure of chickpea (Cicer arietinum L) plants. *Symbiosis, 73*(1), 57–69. https://doi.org/10.1007/s13199-016-0472-1
40. Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan, H., & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters, 7*(3), 219–242. https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x
41. Stein, L. Y. (2019). Insights into the physiology of ammonia-oxidizing microorganisms. *Current Opinion in Chemical Biology, 49*, 9–15. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.09.003
42. Suryanarayana, C., & Al-Aqeeli, N. (2013). Mechanically alloyed nanocomposites. *Progress in Materials Science, 58*(4), 383-502. https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2012.10.001
43. Van der Heul, H. U., Bilyk, B. L., McDowall, K. J., Seipke, R. F., & van Wezel, G. P. (2018). Regulation of antibiotic production in Actinobacteria: New perspectives from the post-genomic era. *Natural Product Reports, 35*(6), 575–604. https://doi.org/10.1039/c8np00012c
44. Vigani, G., Di Silvestre, D., Agresta, A. M., Donnini, S., Mauri, P., Gehl, C., Bittner, F., & Murgia, I. (2016). Molybdenum and

iron mutually impact their homeostasis in cucumber (Cucumis sativus) plants. *New Phytologist*, *213*(2), 563–574. https://doi.org/10.1111/nph.14214

45. Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, *37*(1), 29–38.
46. Xu, C., Peng, C., Sun, L., Zhang, S., Huang, H., Chen, Y., & Shi, J. (2015). Distinctive effects of TiO2 and CuO nanoparticles on soil microbes and their community structures in flooded paddy soil. *Soil Biology and Biochemistry*, *86*, 24–33.
47. Xu, J., Luo, X., Wang, Y., & Feng, Y. (2018). Evaluation of zinc oxide nanoparticles on lettuce (Lactuca sativa L.) growth and soil bacterial community. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(6), 6026–6035. https://doi.org/10.1007/s11356-017-0953-7
48. You, T., Liu, D., Chen, J., Yang, Z., Dou, R., Gao, X., & Wang, L. (2018). Effects of metal oxide nanoparticles on soil enzyme activities and bacterial communities in two different soil types. *Journal of Soils and Sediments*, *18*(1), 211–221.
49. Zhang, L., Zhu, Y., Zhang, J., Zeng, G., Dong, H., Cao, W., Fang, W., Cheng, Y., Wang, Y., & Ning, Q. (2019). Impacts of iron oxide nanoparticles on organic matter degradation and microbial enzyme activities during agricultural waste composting. *Waste Management*, *95*, 289–297. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.06.025
50. Zumft, W. G. (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *61*(4), 533–616. https://doi.org/10.1128/mmbr.61.4.533-616.1997