مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) جلد ۳۷، شماره ۳، ۱۴۰۳
مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵
DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

اثر نانو ذره سیلیکون در تعدیل‌کنندگی اثرات سیتوتوکسیک سرب در *Allium cepa* L.

فریبا محسن زاده*، بهاره خوش فطرت، آسیه حسینخانی هزاوه

ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۸

چکیده

به دلیل شهرنشینی و صنعتی شدن، فلزات سنگین به یک آلاینده زیست محیطی رایج در اغلب مناطق جهان تبدیل شده اند. مطالعات کروموزومی، یکی از ابزارهای مهم برای برآورد اثرات مضر احتمالی این فلزات بر ژنوم موجودات زنده می‌باشد. پژوهش حاضر به منظور تجزیه و تحلیل اثرات ژنوتوکسیک فلز سرب (Pb) بر مریستم انتهایی ریشچه‌های پیاز (*Allium cepa* L.) انجام شد. بذرهای پیاز تهیه و قبل از اعمال تیمار تنش فلزی، با سالیسیلیک اسید (SA) و نانوذره سیلیکون (Si) تیمار شدند؛ سپس در معرض تیمار با غلظت‌های مختلف سرب قرار گرفتند. پس از اعمال تیمار، برخی از شاخص های رشد و ویژگی‌های کاریوتیپی در گروه‌های شاهد و تحت تیمار مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش سرب منجر به کاهش رشد ریشچه‌ها، کاهش شاخص میتوزی (MI) و افزایش انحرافات کروموزومی می‌شود. بین شاخص میتوزی و طول ریشچه، همبستگی مثبت و بین انحرافات کروموزومی با شاخص میتوزی و طول ریشچه، همبستگی منفی مشاهده شد. در میان این ناهنجاری ها، C-mitosis (کروموزم‌های بزرگ شده)، پل کروموزومی و چسبندگی کروموزوم، شایع ترین انحرافات مورد مشاهده بودند. علاوه بر این، مشاهده شد که پرایمینگ بذر با اسیدسالیسیلیک و نانوذره سیلیکون، طول ریشچه و MI را در گیاهان تحت تیمار با سرب بهبود بخشید. همچنین کاهش ناهنجاری‌های کروموزومی در مقایسه با گروه تحت تنش فلز با سرب، به تنهایی مشاهده گردید. در مقایسه عملکرد نانوذره سلیکون با سالیسیلیک اسید، می توان نتیجه گرفت که اثرات ضد تنشی نانوذره از سالیسیلیک اسید بیشتر است.

واژه های کلیدی: انحرافات کروموزومی، سرب، شاخص میتوزی، نانوذره سیلیکون

* نویسنده مسئول، تلفن:۰۸۱۳۴۳۷۳۵۸۸ ، پست الکترونیکی: f.mohsenzadeh@basu.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر، آلودگی خاک، آب و هوا با فلزات سنگین، به دلیل شهرنشینی و رشد سریع صنعتی شدن، به یک موضوع جهانی تبدیل شده است (۴۵). غلظت بالای این فلزات در خاک‌های کشاورزی، خواص بیولوژیکی خاک را تغییر می‌دهد (۶).گیاهان، یون‌های ضروری و غیر ضروری را از خاک جمع می‌کنند (۱۱)؛ بنابراین ممکن است فلزات سنگین در بافت‌های مختلف گیاهی انباشت شوند (۶). گیاهان اهمیت زیادی در چرخه غذایی دارند و مسیر اصلی انتقال عناصر سمی از خاک به جانوران و انسان هستند (۹). آلودگی خاک، آب و هوا باعث تجمع فلزات سنگین در شبکه غذایی می‌شود که خطری برای هر موجود زنده‌ای است. بنابراین تجزیه و تحلیل مسائل زیست محیطی در سیستم‌های گیاهی الزامی است (۴۳). تجمع فلزات سنگین می‌تواند بر بسیاری از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان اثر بگذارد و مواد ژنتیکی را در طول چرخه سلولی تغییر دهد (۱۹). سرب (Pb)، یک فلز سنگین بدون عملکرد بیولوژیکی شناخته شده‌است که به دلیل توزیع گسترده و خطر آن برای محیط زیست، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌است. آلودگی خاک با سرب باعث کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵
DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

خاک و زوال حاصلخیزی خاک می‌شود (۳۳). سرب در فرآیندهای فیزیوژیک گیاهان هیچ نقشی ندارد اما به علت شباهت ساختاری با عناصر ضروری امکان جذب این عنصر برای گیاه وجود دارد. یکی از پیامدهای اصلی تنش غیرزیستی و زیستی در گیاهان، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است (۳۹). ROS منجر به اکسیداسیون پروتئین‌ها، لیپیدهای غشاء و آسیب به DNA می‌شود (۳). سرب از طریق زنجیره غذایی در بدن انسان انباشته شده (۳۰) و سبب آسیب به سیستم عصبی، کبد، کلیه و تاخیر در رشد می‌شود. همچنین خطر ابتلا به چندین سرطان به ویژه سرطان منتژیوم، مغز و کلیه را افزایش می‌دهد (۲۹).

مطالعه بر روی ریشه گیاهان برای ارزیابی اثرات سمی فلزات مهم است؛ زیرا ابتدا ریشه‌ها در معرض این مواد سمی در خاک قرار می‌گیرند (۴۳). کاهش شاخص میتوزی و افزایش انحرافات کروموزومی می‌تواند به عنوان پارامترهایی برای محاسبه سمیت ژنتیکی در گیاهان استفاده شود (۳۶). مریستم ریشه گیاهان عالی اغلب برای ارزیابی آسیب کروموزوم در اثر فلزات سنگین در سلول‌های میتوزی استفاده می‌شود (۱۸). تجزیه و تحلیل سیتولوژیک گیاه *Lycopersicum esculentum* و *Capsicum annum* تحت تنش فلزات سنگین Cr، Cd، Fe، Pb و Ni نشان داد که شاخص میتوزی به تدریج با قرار گرفتن در معرض فلز کاهش می‌یابد و انواع مختلفی از ناهنجاری‌های کروموزومی شامل پل‌های کروموزومی، عقب ماندگی، چسبندگی، سلول‌های دو هسته‌ای، ضایعات هسته‌ای، سلول‌های غول‌پیکر و میتوز نامتعادل ایجاد می‌شود. (۴۲).

یکی از راه‌های مقابله با تنش سرب، استفاده از ترکیبات اصلاح‌کننده با کارایی بالا و مقرون به صرفه است (۳۴). سالیسیلیک اسید یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد است که در القای واکنش گیاهان به بسیاری از تنش‌های غیرزنده مانند فلزات سنگین نقش مهمی دارد (۴۱). سالیسیلیک اسید با جلوگیری از تجمع رادیکال‌های آزاد توانایی کاهش استرس فلزات را دارد (۴۰). اثر مثبت تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه، در طی تنش سرب و جیوه در برنج گزارش شده‌است (۳۵). مطالعات نشان داده‌است که کاربرد اسید سالیسیلیک و بیوچار بطور قابل ملاحظه‌ای اثرات تنش سرب بر ویژگی‌های رشدی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) را کاهش می‌دهد (۱۶). تمام غلظت‌های مورد استفاده سالیسیلیک اسید، باعث افزایش شاخص میتوزی در مریستم ریشه گیاه *Nigella sativa* تحت تنش $CdCl_2$ شد (۱۳). گزارش شده است که کاربرد سالیسیلیک اسید اثرات سمی سرب را در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L)کاهش داده‌است (۵۰).

سیلیکون (Si) یک عنصر مفید برای اکثر گونه‌های گیاهی است که برای کاهش تنش‌های زیستی و غیرزیستی، از جمله تنش فلزات سنگین شناخته شده است (۸). استفاده از کود سیلیکون روشی مقرون به صرفه و کاربردی برای جلوگیری از اثرات نامطلوب فلزات سنگین است (۲۸). مطالعات نشان داده‌است که کاربرد OSiF باعث کاهش تجمع کادمیوم و سرب در گندم و افزایش رشد دانه شده-است (۲۳). Wei و همکاران (۵۲) گزارش کردند که سیلیکون باعث کاهش محتوای کادمیوم و سرب در برگ‌ها و دانه‌های برنج می‌شود.

پیاز (*Allium cepa*) به دلیل داشتن کروموزوم‌های با تعداد کم و نسبتاً بزرگ که به راحتی با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده هستند و به دلیل حساسیت به آلاینده،ها، در این پژوهش برای مطالعات کروموزومی انتخاب شده‌است. سلول های مریستم راسی ریشه*A. cepa* توسط برنامه بین المللی سنجش زیستی گیاهی(IPPB) برای پایش یا آزمایش آلاینده های محیطی پذیرفته شده است (۴۸). با توجه به توسعه آلودگی با فلزات سنگین به ویژه سرب در سال‌های اخیر، پژوهش حاضر به منظور ارزیابی و درک بیشتر اثرات سیتوتوکسیک این فلز طراحی شده است.

DOI: 10.22034/JPR.2024.2419 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵

مواد و روشها

مواد گیاهی و تیمارها: بذرهای گیاه پیاز زرد (*Allium cepa*) از شرکت پاکان بذر خریداری شد. بذرهای سالم و یکنواخت انتخاب گردید. به منظور استریل کردن، بذرها به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۲٪ قرار گرفتند؛ سپس ۲ تا ۳ بار با آب مقطر سترون شده به مدت ۱ تا ۲ دقیقه شستشو دادهشدند. بعد از مرحلهی سترون سازی، بذرها در پلیت‌های آزمایشگاهی کشت داده شدند و تیمار استات سرب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در سه تکرار (هر تکرار حاوی ۲۰ بذر) به مدت ۴۸ ساعت انجام گرفت. تیمار به صورت محلول آبی انجام گرفت. به این منظور محلولهای با غلظت‌های فوق تهیه و بذرها در محلول‌ها خیسانده شدند تا جوانه زنی انجام شود.

مطالعات ریختی: پس از رویش بذرها طول ریشچه‌ها در گروههای مختلف تیماری اندازه گیری و مورد مقایسه قرار گرفت.

مطالعات میکروسکوپی: زمانی که طول هر ریشچه به ۱/۵ الی ۲ سانتی‌متر رسید، یک سانتی متر راسی با تیغ قطع شد و در محلول کارنوی به مدت ۲۴ ساعت تثبیت و تا زمان استفاده در الکل ۷۰ درصد در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند؛ سپس نوک ریشه‌ها در اسید کلریدریک یک نرمال (HCl) در دمای۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ تا ۱۸ دقیقه هیدرولیز شدند. ریشه‌ها پس از هیدرولیز از اسید کلریدریک خارج شده و با آب مقطر شستشو داده شدند. به منظور رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول استوکارمن ۱٪ قرار داده شد و برای رنگ‌پذیری بهتر بافت‌ها، ظرف (شیشه ساعت) حاوی استوکارمن و نمونه به صورت غیر مستقیم حرارت داده شد. پس از رنگ‌آمیزی، نوک ریشه با تیغ جدا و بر روی لام قرار داده شد و بافت مریستمی آن Squash گردید. مراحل و انحرافات میتوزی به کمک فتومیکروسکوپ ZEISS مدل Axiostar Plus (Germany) مجهز به دوربین Canon مدل G11 (Japan) مشاهده و عکسبرداری شد.

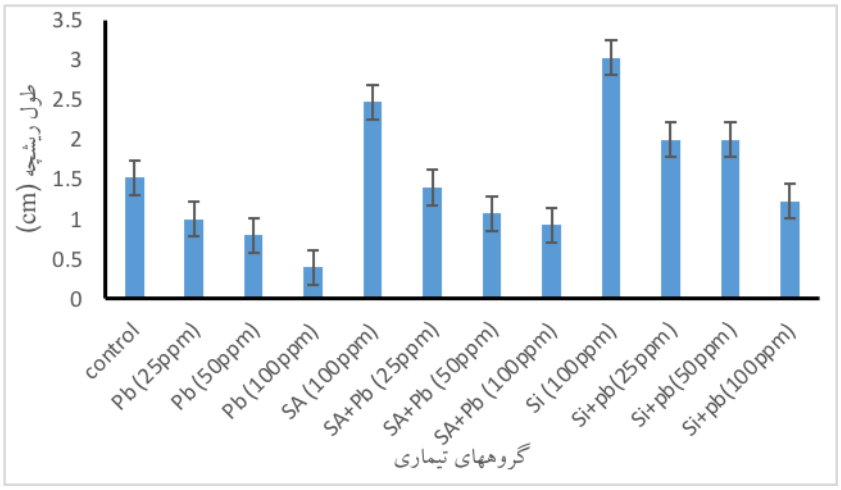
اثر هر غلظت تیماری استات سرب به تنهایی و در حضور تعدیل کننده اسید سالیسیلیک و نانوذره سیلیکون در طرح آماری فاکتوریل کاملا تصادفی بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل دادههای حاصل، از آزمون تجزیه دادههای یک طرفه (ANOVA test) با استفاده از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین ها با آزمون t-Test انجام و نمودارها با نرم افزار Excell رسم گردید.

نتایج

نتایج ریختی: تحت تیمار سه غلظت مختلف استات سرب، بین طول ریشچه‌های پیاز تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵٪ وجود داشت. به طوریکه در غلظت ۲۵ میلی-گرم در لیتر طول ریشچه‌ها کمترین کاهش طول و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین کاهش طول را نسبت به شاهد نشان دادند. زمانیکه قبل از جوانه‌زنی، بذرها با اسیدسالیسیلیک و نانوذره سیلیکون تیمار شدند، طول ریشچه‌ها نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد البته اثر نانوذره سیلیکون بیشتر از اسیدسالیسیلیک بود و بذرهای تیمار شده با آن طول ریشچه بیشتری نسبت به بذرهای تیمار شده با اسیدسالیسلیک داشتند. با قرار گرفتن بذرهای تیمار شده با اسید سالیسیلیک و نانوذره سیلیکون تحت تیمار غلظت‌های مختلف سرب، مشاهده شد که طول ریشچه‌ها نسبت به تنش مستقیم سرب بهبود یافت. نتایج نشان داد اثر تعدیل‌کنندگی نانوذره سیلیکون بیشتر از اسید سالیسیلیک بود به طوریکه طول ریشچه‌های بذرها تیمار شده با نانوذره سیلیکون در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم سرب نسبت به شاهد تنها ۰/۲۵ سانتی‌متر کاهش یافت (شکل ۱).

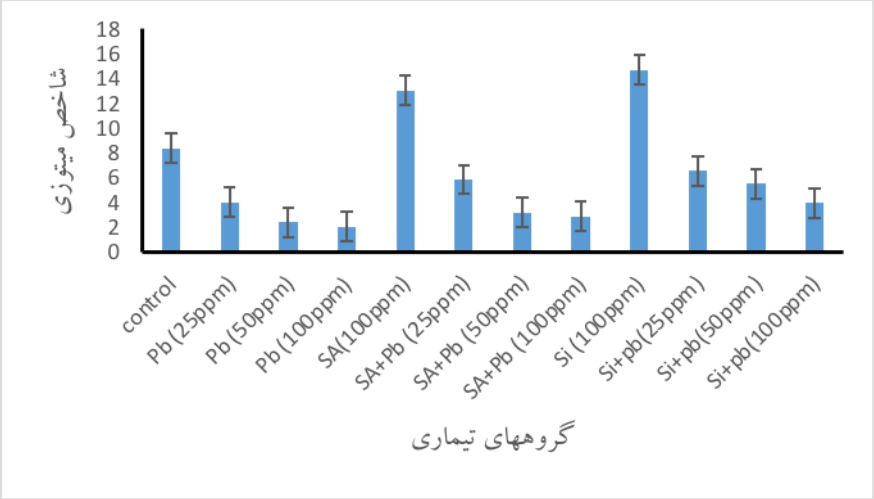
شاخص میتوزی: در نتایج به‌دست آمده، مشاهده شد که شاخص میتوزی (MI) با افزایش غلظت فلز سرب، کاهش می‌یابد ($P\leq0.05$) .

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵
DOI: 10.22034/JPR.2024.2419



شکل ۱- نمودار مقایسه میانگین طول ریشه پیاز (*Allium cepa*) تحت تیمار غلظت‌های مختلف استات سرب (Pb) به تنهایی و در حضور اسید سالسلیک (SA) و نانو ذره سیلیکون (Si). ($P\leq0.05$). هر ستون معرف میانگین ± انحراف معیار ۱۰-۲۰ داده است.

بیشترین کاهش MI در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم سرب بود که نسبت به شاهد چهار برابر کمتر بود. بذرهایی که قبل از جوانه‌زنی با اسیدسالیسیلک و نانوذره سیلیکون تیمار شده‌بودند، بیشترین MI را نشان دادند (شکل ۲). نتایج ما همچنین نشان داد تیمار بذرها با نانوذره سیلیکون و اسید-سالیسیلک اثرات سمی سرب را بهبود بخشید؛ به‌طوریکه در بذرهایی که قبل از جوانه زنی تیمار شده‌بودند و سپس تحت تنش فلز سرب قرار گرفتند، MI بالاتری نسبت به بذرهای تیمار نشده داشتند (شکل ۲).

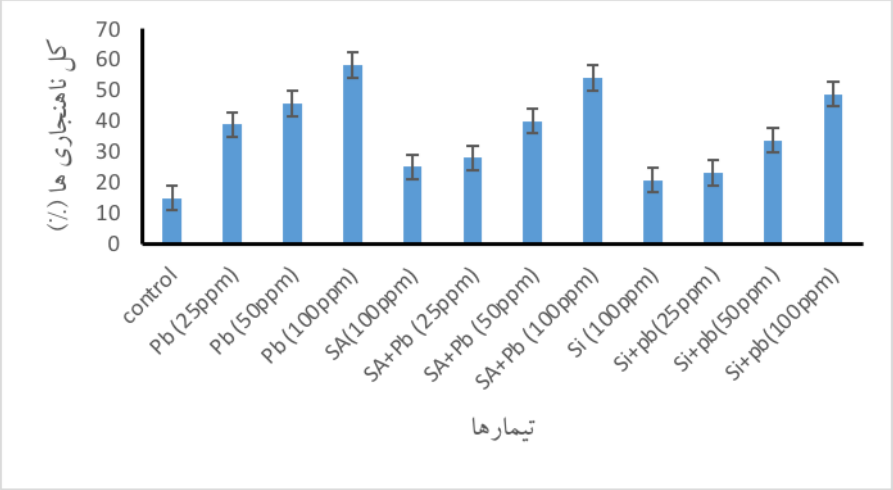


شکل ۲- میانگین شاخص میتوزی ریشچه پیاز (*Allium cepa*) در غلظت‌های مختلف استات سرب (Pb) به تنهایی و در حضور اسید سالسلیک (SA) و نانوذره سیلیکون (Si). ($P\leq0.05$) . هر ستون معرف میانگین ± انحراف معیار ۱۰-۲۰ داده است.

انحرافات کروموزومی: در طول جوانه‌زنی و رشد، سلول‌ها با ورود به پروفاز، متافاز، آنافاز و تلوفاز در نهایت به دو سلول دختر تقسیم می‌شوند؛ با این حال، این چرخه سلولی طبیعی با قرار گرفتن در معرض تنش‌های غیرزیستی مختلف مانند فلزات سنگین مختل می‌شود و ممکن است منجر به انحراف کروموزومی شود. نتایج

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵
DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

نشان داد تیمار سرب موجب القای اختلال در روند نرمال تقسیم سلولی می‌شود. بیشترین انحرافات در گروه تیماری ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر استات سرب (۵۸/۲ ٪) مشاهده شد (شکل۳)؛ اما زمانی که بذرها قبل از اعمال تنش، با نانوذره سیلیکون و اسیدسالیسیلیک تحت تیمار قرار گرفتند، انحرافات کل ناشی از اثرات تنشی استات سرب کاهش پیدا کرد و اثر کاهشی نانوذره سیلیکون بیشتر از اسیدسالیسیلیک بود و انحرافات کل به ۴۴/۸ ٪ کاهش یافت (شکل۳). تجزیه و تحلیل سیتولوژیک نشان داد که تنش فلزی استات سرب باعث انواع مختلفی از ناهنجاری‌ها مانند پل‌های کروموزومی (Bridges)، چسبندگی (Stickiness)، آنافازهای تاخیری و کروموزوم‌های عقب افتاده (Laggards) و سلول‌های غول‌پیکر (C-mitosis) می‌شود (جدول ۱). جدول ۱ نشان می‌دهد که یک همبستگی معنی دار بین طول گیاهچه و MI وجود دارد، در حالی که یک همبستگی منفی بین طول گیاهچه و انحرافات وجود دارد و این تاثیر تنش استات سرب بر ویژگیهای سیتوژنتیکی در پیاز را نشان می‌دهد. تعداد ناهنجاری‌های کروموزومی با افزایش غلظت فلز استات سرب افزایش یافت.



شکل ۳- میانگین کل انحرافات در پیاز (*Allium cepa*) در تیمار غلظت‌های مختلف استات سرب (Pb) به تنهایی و در حضور اسید سالسلیک (SA) و نانوذره سیلیکون (Si). ($P\leq0.05$) . هر ستون معرف میانگین ± انحراف معیار ۱۰-۲۰ داده است.

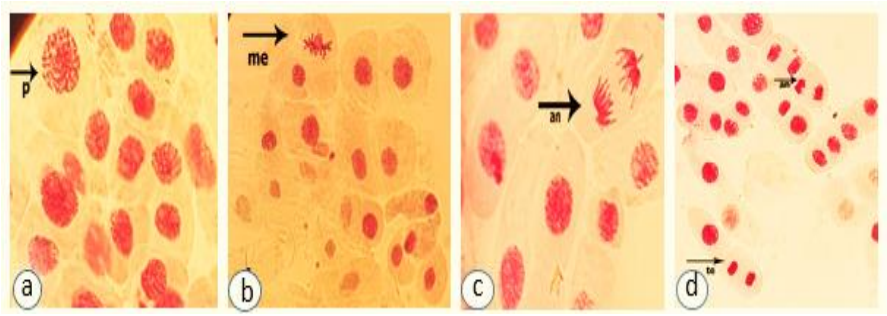
جدول ۱- میانگین طول ریشچه، شاخص میتوزی و ناهنجاری‌های کروموزومی روی سلول‌های مریستمی ریشه پیاز (*Allium cepa*) در غلظت‌های مختلف استات سرب به تنهایی و در حضور سالسلیک اسید و نانو ذره سیلیکون. ($P\leq0.05$) . هر داده معرف میانگین ± انحراف معیار ۱۰-۲۰ داده است.

تیمارها		Prophase	Metaphase		Ana-telophase		میانگین طول ریشچه
	MI±S.E.	Sticky	C-meta	Sticky	Lagging	Bridge	
Control	8.39±2.98	0.00	0.24	0.00	0.00	0.16	1.52±0.104
Pb (25)	4.02±0.68	0.12	0.12	0.19	0.06	0.06	1.00±0.100
Pb (50)	2.44±0.56	0.12	0.12	0.18	0.06	0.07	0.80±0.050
Pb (100)	2.07±0.55	0.14	0.15	0.22	0.08	0.30	0.40±0.050
SA	13.05±1.83	0.14	0.12	0.08	0.08	0.08	2.47±0.208
SA+Pb (25)	5.87±1.42	0.10	0.08	0.08	0.47	0.23	1.40±0.100

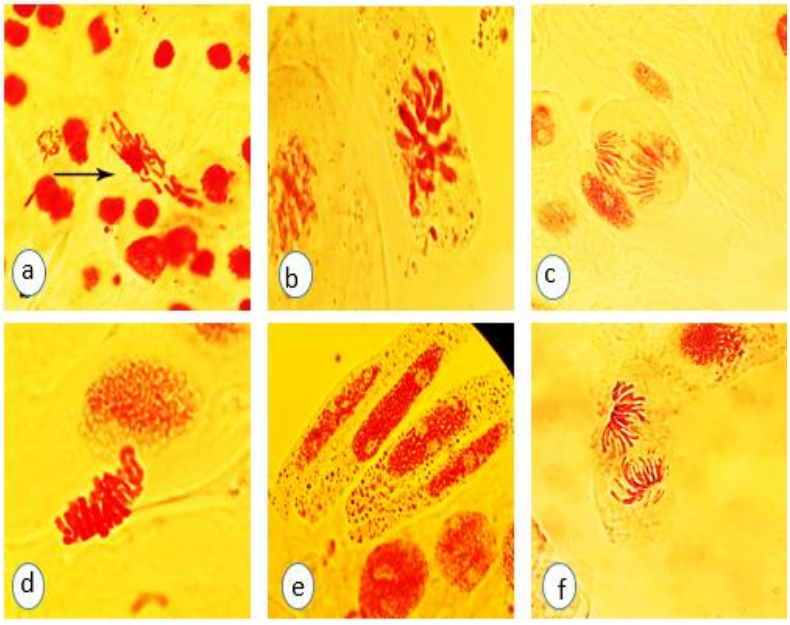
مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵
DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

SA+Pb (50)	3.20±0.29	0.10	0.08	0.16	0.32	.016	1.07±0.115
SA+Pb (100)	2.88±0.44	0.14	0.16	0.00	0.00	0.00	0.93±0.153
Si	14.72±3.38	0.27	0.09	0.09	0.18	0.18	3.03±0.208
Si+Pb (25)	6.56±1.88	0.19	0.00	0.10	0.10	0.10	2.00±0.300
Si+Pb (50)	5.52±2.97	0.29	0.010	0.00	0.10	0.10	2.00±0.100
Si+Pb (100)	4.00±0.1	0.31	0.010	0.00	0.21	0.10	1.23±0.153

برخی از مشاهدات سیتولوژیکی مختلف در شکل ۴ و ۵ نشان داده شده است. شکل ۴ مراحل طبیعی تقسیم میتوزی را نشان می‌دهد. شکل ۵ انواع مختلفی از انحرافات کروموزومی مشاهده شده در سلول‌های نوک ریشه پیاز پس از قرار گرفتن در معرض غلظت‌های مختلف استات سرب را نشان می‌دهد. برخی از اختلالات مشاهده شده عبارتند از: C-mitosis ، پل کروموزومی، چسبیدگی کروموزوم‌ها به هم، آنافاز نامتقارن از نظر توزیع کروموزوم‌ها.



شکل ۴- مراحل مختلف تقسیم میتوز در سلول‌های مریستم نوک ریشه پیاز (*Allium cepa*). a) مرحله پروفاز تقسیم میتوز b) مرحله متافاز تقسیم میتوز c) مرحله آنافاز تقسیم میتوز d) مرحله تلوفاز تقسیم میتوز. X400



شکل ۵- تقسیمات غیر طبیعی در سلول‌های مریستم نوک ریشه تیمار شده با غلظت‌های مختلف استات سرب. a)C-mitosis (کروموزم‌های بزرگ شده). b) C .choromosome) پل کروموزومی. d) چسبندگی کروموزوم. e) سلول‌های غیرعادی با کروموزوم‌های همانندسازی کرده که وارد تقسیم نشده است. f) آنافاز نا متقارن و کروموزوم‌های سرگردان. X400

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵
DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

بحث

سمیت فلزات سنگین در گیاهان، باعث توقف رشد و تغییر در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های کلیدی مسیرهای متابولیکی مختلف می‌شود (۴). کاهش رشد گیاه در طول تنش به دلیل پتانسیل کم آب، اختلال در جذب عناصر غذایی و تنش اکسیداتیو است؛ علاوه بر این، فلزات سنگین می‌توانند سازمان میکروتوبول‌ها را در سلول های مریستمی مختل کنند (۱۵). بر اساس نتایج، غلظت‌های مختلف سرب به طور قابل توجهی طول ریشچه‌های پیاز را کاهش داد. به طور مشابه Sudhakar و همکاران نشان دادند که تنش تیمار با فلزات با ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی باعث کاهش طول ریشه و ساقه، در نتیجه باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شوند (۴۹). همچنین John و همکاران مشاهده کردند که غلظت‌های مختلف کادمیوم و سرب در گیاه *Brassica juncea* تأثیر بیشتری بر رشد ریشه در مقایسه با اندام هوایی دارند و منجر به کاهش بیشتر در طول و وزن تر آن می‌شوند (۲۴). بر اساس نتایج ، نانوذره سیلیکون و سالیسیلیک اسید اثرات سوء تنش استات سرب بر طول ریشچه‌ها را بهبود بخشیدند. مطالعات قبلی نشان داده است که SA اگزوژن می‌تواند تحمل آلودگی با سرب یا کادمیوم را در طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی افزایش دهد (۲۱). نتایج مطالعه Kohli و همکاران نشان داد که تیمار نهال‌ها با اپی براسینوئید و سالیسیلیک اسید به طور قابل توجهی محتوای سرب در ریشه و اندام هوایی را کاهش داد (۲۶). در سال‌های اخیر، اثرات مفید نانوذره سیلیکون (Si) بر رشد و نمو بسیاری از گونه‌های گیاهی مشخص شده‌است (۷). نانوذرات به دلیل اندازه کوچک و سطح فعال بالای خود به راحتی می‌توانند وارد سلول‌های گیاهی شده و تحمل به تنش‌های محیطی را بهبود بخشند (۱). در مطالعه حاضر اثر بهبودی نانوذره سیلیکون بر طول ریشچه در هر دو شرایط بدون تنش و تحت تنش سرب، بیشتر از اسید سالسیلیک بود.

نتایج این پژوهش با گزارش‌های Bharwana و همکاران همسو بود؛ که نشان دادند Si به طور قابل توجهی اثرات ناشی از سرب را بر روی رشد و پارامترهای فتوسنتزی در گیاه پنبه بهبود بخشید (۷). به طور مشابه، بسیاری از محققان اثرات مفید سیلیکون را در بسیاری از محصولات مانند پنبه، برنج و نیشکر گزارش کردند (۱۴). گزارش شده است که سیلیکون می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در تجمع فلزات در بافت‌های گیاهی را تنظیم کند (۱۰)؛ همچنین تحمل فلزات سمی را از طریق کاهش جذب و جابجایی آن‌ها افزایش دهد (۲۲). مکانیسم‌های ممکن برای مهار انتقال فلز در گیاهان توسط سیلیکون از دو طریق می‌باشد. (۱): سیلیکون باعث رسوب لیگنین در دیواره‌های سلولی می‌شود و یون‌های فلزی را به دیواره سلولی متصل و انتقال آن‌ها را از ریشه به اندام‌های هوایی کاهش می‌دهد (۳۲). گزارش شده است که افزایش تحمل تنش منگنز در *Cucumis sativus* توسط سیلیکون نتیجه اتصال قوی‌تر منگنز به دیواره سلولی و کاهش محتوای منگنز در سیمپلاست است (۵۳). (۲): سیلیکون با یون-های فلزی سمی تشکیل کمپلکس می‌دهد (۴۶). Liu و همکاران گزارش کردندکه سیلیکون می‌تواند سمیت آلومینیوم (Al) را در سورگوم از طریق تشکیل کمپلکس پیچیده با Al از نفوذ آن به قشر ریشه جلوگیری کند (۳۰). در مطالعه حاضر، مهار جذب و کاهش اثرات سمی سرب (Pb) توسط نانوذره سیلیکون در گیاه پیاز نیز مشاهده شد. بنابراین، می‌توان فرض کرد که نانوذره سیلیکون همچنین ممکن است توانایی کمپلکس شدن با سرب یا رسوب سرب در دیواره های سلولی را داشته باشد؛ بنابراین سمیت سرب را در گیاه پیاز کاهش می‌دهد؛ در نتیجه، سیلیکون برای رشد و نمو بسیاری از گونه های گیاهی در معرض انواع مختلف تنش های غیرزیستی و زیستی بسیار مهم و مفید است.

نتایج نشان داد که شاخص میتوزی (MI) در ریشچه‌های تحت تنش سرب کاهش یافته است و این کاهش وابسته

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵
DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

به غلظت فلز سرب بود. کاهش MI نشان می‌دهد که که سرب می‌تواند از رفتن سلول‌ها به تقسیم سلولی جلوگیری کند. مشاهدات مشابهی در مورد فلزات سنگین گزارش شده است. Aidid and Okamoto (۲) گزارش کردند که فلزات سنگین مختلف از ازدیاد سلول‌های گیاهی از طریق مهار میتوز جلوگیری می‌کنند و در نتیجه، رشد گیاه کاهش می‌یابد. مطالعات نشان داده‌است که شاخص میتوزی در گوجه فرنگی و فلفل قرمز در اثر تنش فلزات سنگین کاهش می‌یابد (۳۹). همچنین Hani و همکاران بیان کردند که کاهش معنی داری در MI در نتیجه تنش فلزی (Cd، Ni، Hg، Pb و Cu) به صورت وابسته به غلظت مشاهده شد (۲۰). که نتایج این گزارشات با نتایج مطالعه حاضر همسو بود.

نتایج همچنین نشان داد که تیمار بذرها با نانوذره سیلیکون و اسیدسالیسیلک قبل از تنش فلزی شاخص میتوزی را بهبود می‌بخشد؛ ولی اثر نانوذره سیلیکون بیشتر از اسید سالیسیک بود به‌طوریکه بالاترین MI به ترتیب در گروه تیمار شده با نانوذره سیلیکون و سپس در اسید-سالیسیلک ثبت شد. نتایج El-Ghamery and Mousa نشان داد که تمام غلظت‌های اسیدسالیسیلک باعث افزایش MI در گیاهان *Nigella sativa* تحت تنش کادمیوم شد (۱۳). همچنین نشان داده شده است که SA اثرات مضر کادمیوم را در گیاهان ذرت، سویا و نخود کاهش می‌دهد (۲۷، ۴۰ و ۱۲). اسیدسالیسیلک احتمالاً با کوتاه کردن فازهای G_2 و پروفاز یا تسهیل تشکیل دوک، شاخص میتوزی را افزایش می‌دهد (۲۵).

تاکنون مطالعه‌ای بروی کاهش اثرات سمی سرب و بهبود شاخص میتوزی در اثر نانوذره سیلیکون گزارش نشده است.

در زمان رشد، سلول‌ها با تقسیم میتوز به دو سلول دختر تقسیم می‌شوند. با این حال، این چرخه سلولی طبیعی با قرار گرفتن در معرض تنش‌های غیرزیستی مختلف مانند فلزات سنگین مختل می‌شود و ممکن است منجر به انحراف کروموزومی شود. نتایج نشان داد تنش سرب تقسیم سلولی را مختل می‌کند و باعث انواع مختلفی از ناهنجاری‌ها مانند پل‌های کروموزومی (Bridges)، چسبندگی (Stickiness)، آنافازهای تاخیری، کروموزوم‌های عقب افتاده (Laggards) و سلول‌های غول‌پیکر (C-mitosis) می‌شود. گزارش شده است که سرب سنتز DNA را در فاز G_2 چرخه سلولی مختل می‌کند؛ بنابراین سلول‌ها را برای ورود به میتوز محدود می‌کند (۱۵). مطالعه سیتولوژیک در گیاه *Stachys inflata* نشان داد که میزان ناهنجاری‌های میوزی در گیاهان رشد یافته در مناطق آلوده بیشتر از نمونه‌های شاهد بود و فلزات سنگین مانند سرب و روی به عنوان یک عامل جهش زای قوی در گیاهان عمل می‌کنند (۱۹). سی میتوز معمولاً با اختلال در عملکرد دوک (۴۴)، کروموزوم های عقب مانده با اختلال در دوک یا سانترومر (۱۷) و پل‌های کروموزومی به دلیل شکست در جداسازی کروموزومی، جابجایی نابرابر یا وارونگی کروماتیدها ایجاد می‌شوند (۴۷). در این پژوهش، زمانی که بذرها قبل از اعمال تنش با نانوذره سیلیکون و اسیدسالیسیلک تحت تیمار قرار گرفتند انحرافات ناشی از تنش استات سرب کاهش پیدا کرد و اثر کاهشی نانوذره سیلیکون بیشتر از اسیدسالیسیلیک بود. این نتایج مطابق با گزارش‌های قبلی است که گزارش کردند تیمار با اسیدسالیسیلیک درصد سلول‌های دارای ناهنجاری کروموزومی در گیاه *Nigella sativa* L تحت تنش کلریدکادمیوم را کاهش می‌دهد (۱۳). همچنین پاسخ حفاظتی اسیدسالیسیلیک از DNA در برابر عوامل آسیب‌رسان در نتایج Bautz و Freese (۵) و Patra و همکاران (۳۸) بیان شده‌است. گزارشی در زمینه کاهش ناهنجاری‌های کروموزومی در گیاهان تحت تنش فلزی در اثر نانوذره سیلیکون گزارش نشده است.

نتیجه‌گیری کلی

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵
DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

در مطالعه حاضر، تنش تیمار با سرب باعث ایجاد تغییرات مورفولوژیک و سیتولوژیکی در گیاهان حتی در غلظت‌های پایین شد؛ به طوریکه تنش سرب باعث کاهش طول ریشچه‌ها، شاخص میتوزی و ایجاد ناهنجاری‌های کروموزومی در سلول‌های راس ریشه پیاز شد. وجود ناهنجاری‌ها نشان دهنده ایجاد تداخل در رشد طبیعی گیاهان در معرض فلزات سنگین (سرب) است. گیاهانی که دارای چنین ناهنجاری‌هایی هستند ممکن است ساختار ژنتیکی تغییر یافته را نه تنها به نسل بعد خود بلکه مواد مضری را به انسان نیز در هنگام مصرف به عنوان غذا منتقل کنند و در نتیجه باعث ایجاد عوارض بیشتر شوند. تیمار SA و Si در ریشچه‌های در معرض سرب منجر به افزایش طول‌ریشچه‌ها، افزایش شاخص میتوزی و کاهش انحرافات کروموزومی شد و بر اساس نتایج مشاهده شد که اثر نانوذره سیلیکون در کاهش اثرات فلز سنگین سرب موثرتر می‌باشد. بنابراین در مطالعه حاضر استفاده از نانوذره سیلیکون را در خاک‌های آلوده به فلز به منظور افزایش سلامت و عملکرد محصول پیشنهاد می‌کند.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر با استفاده از امکانات آزمایشگاهی و حمایت مالی دانشگاه بوعلی سینا انجام شده است.

منابع

1-Afshari, M., Pazok, A., Sadeghipour, O. (2021). Foliar-applied silicon and its nanoparticles stimulate physio-chemical changes to improve growth, yield and active constituents of coriander (*Coriandrum Sativum* L.) essential oil under different irrigation regimes. *Silicon* 13:4177–4188.

2- Aidid, S. B. and Okamoto, H. (1992). Effect of lead, cadmium and zinc on the electric membrane potential at the xylem/symplast interface and cell elongation of *Impatiens balsamina. Environ. Exp. Bot.* 32: 439–448.

3- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922.

4- Arduini, I., Godbold, D.L., Onnis, A. (1996). Cadmium and copper uptake and distribution in Mediterranean tree seedlings. *Physiol. Plant* 97, 111-117.

5- Bautz, E. and Freese, E. (1960) *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.* 46, 1585.

6- Beyersmann, D., & Hartwig, A. (2008). Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Archives of toxicology*, 82, 493-512.

7- Bharwana, S. A., Ali, S., Farooq, M. A., Iqbal, N., Abbas, F., & Ahmad, M. S. A. (2013). Alleviation of lead toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton. *J. Bioremed. Biodeg*, *4* (4), 10-4172.

8- Bhat, J. A., Shivaraj, S. M., Singh, P., Navadagi, D. B., Tripathi, D. K., Dash, P. K., ... & Deshmukh, R. (2019). Role of silicon in mitigation of heavy metal stresses in crop plants. *Plants*, 8(3), 71.

9- Chen, Q., Zhang, X., Liu, Y., Wei, J., Shen, W., Shen, Z., & Cui, J. (2017). Hemin-mediated alleviation of zinc, lead and chromium toxicity is associated with elevated photosynthesis, antioxidative capacity; suppressed metal uptake and oxidative stress in rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 81, 253-264.

10- Cui, J., Liu, T., Li, F., Yi, J., Liu, C., Yu, H. (2017). Silica nanoparticles alleviate cadmium toxicity in rice cells: mechanisms and size effects. *Environ Pollut* 228:363–369.

11- Djingova, R., & Kuleff, I. (2000). Instrumental techniques for trace analysis. In Trace metals in the Environment (Vol. 4, pp. 137-185). Elsevier.

12- Drazic, G. and Mihailovic, N. (2005). Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. *Plant Sci.*, 168, 511-517.

13- El-Ghamery, A., & Mousa, M. (2018). Salicylic acid triggers adaptation cadmium cytogenetic toxicity in roots of *Nigella sativa* L. *Egyptian Journal of Botany*, *58*(2), 297-310.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵ DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

14- Epstein, E. (1994). The anomaly of silicon in plant biology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91, 11-17.

15- Eun, S. O., Shik Youn, H., & Lee, Y. (2000). Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*. *Physiologia plantarum*, 110(3), 357-365.

16- Feyzi, K., Amirinejad, A. A., & Ghobadi, M. (2021). The effects of biochar and salicylic acid on reducing Pb-induced stress in basil crop (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Journal of Soil and Water Research*, *52*(2), 539-547.

17- Fiskesjo, G. (1997). Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. *Plants for environmental studies*, 11, 307-333.

18- Hajmoradi, F., & Kakaei, M. (2021). Genotoxic effects of heavy metals on mitotic chromosomes of *Trigonella foenum-graecum* L. *Journal of Genetic Resources*, 7(2), 265-271.

19- Hajmoradi, F., & Taleb Beydokhti, A. (2019). Effect of heavy metals on meiosis cell division in *Stachys inflata* Benth. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 17(4), 363-373.

20- Hani, U., Mansoor, S., Hassan, M., & Farheen, J. (2020). Genotoxicity of heavy metals on mung bean (*Vigna radiata*) seedlings and its alleviation by priming with their lower concentrations. *Cytologia*, *85*(3), 239-244.

21- Horvath, E., Szalai, G., & Janda, T. (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation*, *26*, 290-300.

22- Hossain, M. T., Mori, R., Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S., Fujii, S., ... & Hoson, T. (2002). Growth promotion and an increase in cell wall extensibility by silicon in rice and some other Poaceae seedlings. *Journal of Plant Research*, *115*, 0023-0027.

23- Huang, H., Rizwan, M., Li, M., Song, F., Zhou, S., He, X., ... & Tu, S. (2019). Comparative efficacy of organic and inorganic silicon fertilizers on antioxidant response, Cd/Pb accumulation and health risk assessment in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental Pollution*, 255, 113146.

24- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., & Sharma, S. (2009). Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*, 3(3), 65-76.

25- Jun-yu, H. E., Yan-fang, R. E. N., Cheng, Z. H. U., & De-an, J. I. A. N. G. (2008). Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth, and amylase activities in rice. *Chinese Journal of Rice Science*, *22*(4), 399.

26- Kohli, S. K., Handa, N., Sharma, A., Gautam, V., Arora, S., Bhardwaj, R., ... & Ahmad, P. (2018). Combined effect of 24-epibrassinolide and salicylic acid mitigates lead (Pb) toxicity by modulating various metabolites in *Brassica juncea* L. seedlings. *Protoplasma*, *255*, 11-24.

27- Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G. and Popova, L. (2008). Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *J. Plant Physiol.* 165, 920-931.

28- Li, X. (2019). Technical solutions for the safe utilization of heavy metal-contaminated farmland in China: A critical review. *Land Degradation & Development*, 30(15), 1773-1784.

29- Liao, L. M., Friesen, M. C., Xiang, Y. B., Cai, H., Koh, D. H., Ji, B. T., ... & Purdue, M. P. (2016). Occupational lead exposure and associations with selected cancers: the shanghai Men's and Women's health study cohorts. *Environmental health perspectives*, 124(1), 97-103.

30- Liu, J., Li, K., Xu, J., Zhang, Z., Ma, T., Lu, X., ... & Zhu, Q. (2003). Lead toxicity, uptake, and translocation in different rice cultivars. *Plant Science*, *165*(4), 793-802.

31- Llugany, M., Martin, S. R., Barceló, J., & Poschenrieder, C. (2013). Endogenous jasmonic and salicylic acids levels in the Cd-hyperaccumulator *Noccaea* (*Thlaspi*) *praecox* exposed to fungal infection and/or mechanical stress. *Plant cell reports*, 32, 1243-1249.

32- Ma, J. F., Miyake, Y., & Takahashi, E. (2001). Silicon as a beneficial element for crop plants. *Studies in plant Science*, *8*, 17-39.

33- Majer, B. J., Tscherko, D., Paschke, A., Wennrich, R., Kundi, M., Kandeler, E., & Knasmüller, S. (2002). Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. Mutation Research/Genetic *Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 515(1-2), 111-124.

34- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., & Dietz, K. J. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant physiology*, *132*(1), 272-281.

35- Mishra, A., & Choudhuri, M. A. (1997). Ameliorating effects of salicylic acid on lead and mercury-induced inhibition of germination and

DOI: 10.22034/JPR.2024.2419 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵

early seedling growth of two rice cultivars. *Seed Science and Technology (Switzerland), 25*(2).

36- Muneer, S., Qadri, T. N., & Siddiqi, T. O. (2011). Cytogenetic and biochemical investigations to study the response of *Vigna radiata* to cadmium stress. *African Journal of Plant Science*, 5(3), 183-192.

37- Nefic, H., Musanovic, J., Metovic, A., Kurteshi, K. (2013). Chromosomal and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* L. induced by alprazolam. Med. Arch. 67, 388.

38- Patra, J., Sahoo, M.K. and Panda, B.B. (2005) Salicylic acid triggers genotoxic adaptation to methyl mercuric chloride and ethyl methane sulfonate but, not to malice hydrazide in root meristem cells of *Allium cepa* L. *Mutat Res.*, 581, 173-180.

39- Polle, A., Pfirrmann, T., Chakrabarti, S., & Rennenberg, H. (1993). The effects of enhanced ozone and enhanced carbon dioxide concentrations on biomass, pigments and antioxidative enzymes in spruce needles (*Picea abies* L.). *Plant, Cell & Environment*, 16(3), 311-316.

40- Popova, L. P., Maslenkova, L. T., Yordanova, R. Y., Ivanova, A. P., Krantev, A. P., Szalai, G., & Janda, T. (2009). Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(3), 224-231.

41- Rady, M. M., & Mohamed, G. F. (2015). Modulation of salt stress effects on the growth, physio-chemical attributes and yields of *Phaseolus vulgaris* L. plants by the combined application of salicylic acid and Moringa oleifera leaf extract. *Scientia Horticulturae, 193, 105-113.*

42- Sabeen, M., Mahmood, Q., Bhatti, Z. A., Irshad, M., Bilal, M., Hayat, M. T., ... & Shahid, N. (2020). *Allium cepa* assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation. *Saudi journal of biological sciences*, 27(5), 1368-1374.

43- Samuel, O. B., Osuala, F. I., & Odeigah, P. G. (2010). Cytogenotoxicity evaluation of two industrial effluents using *Allium cepa* assay. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 4(1), 21-27.

44- Shahin, S. A., & El-Amoodi, K. H. (1991). Induction of numerical chromosomal aberrations during DNA synthesis using the fungicides nimrod and rubigan-4 in root tips of Vicia faba L. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 261(3), 169-176.

45- Sharma, P., Bihari, V., Agarwal, S. K., Verma, V., Kesavachandran, C. N., Pangtey, B. S., ... & Goel, S. K. (2012). Groundwater contaminated with hexavalent chromium [Cr (VI)]: a health survey and clinical examination of community inhabitants (Kanpur, India). *PloS one*, 7(10), e47877.

46- Shi, G., Cai, Q., Liu, C., & Wu, L. (2010). Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes. *Plant Growth Regulation*, *61*, 45-52.

47- Siddiqui, S. (2012). Lead induced genotoxicity in *Vigna mungo* var. HD-94. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(2), 107-112.

48- Stoyanov, I. Y., Vasileva, P. L., Popova, T. P., & Slavova, B. N. (2018). The Effects of Lead and Cadmium on Cell Division and Chromosomal Structure in *Allium cepa* Test System In Vivo. *Ecologia Balkanica*, 10(2).

49- Sudhakar, C., Syamalabai, L., & Veeranjaneyulu, K. (1992). Lead tolerance of certain legume species grown on lead ore tailings. *Agriculture, ecosystems & environment*, 41(3-4), 253-261.

50- Teiymouri, A., Amirinejad, A. A., & Ghobadi, M. (2021). The effects of biochar and salicylic acid on alleviation of Pb stress in salvia (*Salvia afficinalis* L.). *Journal of Soil and Plant Interactions-Isfahan University of Technology*, *12*(1), 95-108.

51- Upreti, K.K., Sharma, M. (2016). Role of Plant Growth Regulators in Abiotic Stress Tolerance. In: Rao, N., Shivashankara, K., Laxman, R. (eds) Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops. Springer, New Delhi.

52- Wei, X., Liu, Y., Zhan, Q., Zhang, P., Zhao, D., Xu, B., ... & Matichenkov, V. (2018). Effect of Si soil amendments on As, Cd, and Pb bioavailability in contaminated paddy soils. *Paddy and water environment*, 16, 173-181.

53- Wierzbicka, M., & Obidzińska, J. (1998). The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. *Plant science*, *137*(2), 155-171.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۵۸-۲۴۵ DOI: 10.22034/JPR.2024.2419

Modulating effect of Silicon nanoparticles on Cytotoxic effect of Pb in *Allium cepa L.*

Mohsenzadeh F., Khosh fetrat B. and Hoseinkhani hazaveh A.

Biology Dept., Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

Abstract

Due to urbanization and industrialization, heavy metals have become a common environmental pollutant in most regions worldwide. Chromosome studies are one of the important tools for estimating the possible harmful effects of metals on the genome of living organisms. The present study was conducted to analyze the genotoxic effects of lead metal (Pb) on terminal meristematic cells of onion (*Allium cepa* L.). Onion seeds were prepared and treated with salicylic acid (SA) and silicon nanoparticle (Si) before metal stress treatment, then they were exposed to different concentrations of lead. After applying the treatment, some growth factors and characteristics were compared in the control and Pb-treated groups. The results showed that lead stress causes a decrease in the growth of roots, a decrease in the mitotic index (MI), and an increase in chromosomal aberrations. A positive correlation was observed between mitotic index and root length, and a negative correlation was observed between chromosomal aberrations and mitotic index with root length. Among the abnormalities, C-mitosis (enlarged chromosomes), chromosomal bridge, and chromosome adhesiveness were the most common ones observed. In addition, it was also observed that seed priming with salicylic acid and silicon nanoparticle improved the root length and MI in plants exposed to Pb. Also, the reduction of chromosomal abnormalities was observed compared to the group under the Pb stress. Comparing the performance of silicon nanoparticle with salicylic acid, it can be concluded that the anti-stress effects of the nanoparticles are more effective than salicylic acid.

Keywords: Chromosomal abbreviation, Pb, Mitotic index, Silicon nanoparticles