



ORIGINAL RESEARCH PAPER

Molecular identification of dominant species in zebra fish (*Danio rerio*) and Light microscopic study of balbiani body.

Shokouh Sadeghinia¹, SolmazShirali^{2*}, Bita Archangi³, Faedeh Amini⁴

1- Ms.c student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, IRAN

2- Assistant professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, IRAN

3- Associated professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, IRAN

4- Assistant professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, IRAN

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2022/08/26

Revised: 2023/08/1

Accepted: 2023/06/5

Keywords:

Histology

Ovary

Oogenesis

Previtellogenesis

Zebra fish

Molecular identification

ABSTRACT

Background and Objectives: The primary oocyte of almost all animals contains a transitory complex called Balbiani bodies. The establishment of oocyte asymmetry is a key prerequisite for successful development across the animal kingdom, and a structure of the oocyte thought to be responsible for determining cytoplasmic polarity is the so-called Balbiani body. Due to the scarcity of published information and the great variation in appearance, ultrastructure, and functional homology between species, the molecular structure of Balbiani bodies remains a mystery.

Methods: The purpose of the present study is to accurately identify the 6 different colors of zebrafish and record its genomic information in the gene bank, as well as to examine the details of the species in the samples by optical microscopy. For this purpose, first the species were identified genetically and then the ovaries were examined histologically and histometrically after tissue passage.

Findings: The findings showed that all 6 studied samples are *Danio rerio* (Hamilton, 1822). Balbiani bodies were observed in all the studied samples in the previtellogenic stage.

Conclusion: Balbiani body in all samples were very similar in terms of appearance, position and size. In the oocyte of sample number 5, two Balbiani bodies were observed, with the difference that all other 5 samples contained one parietal body.

*Corresponding author:

✉ solmazshirali@kmsu.ac.ir

Orcid: 0000-0001-6233-3802

doi: 10.52547/joc.14.53.8

dor:20.1001.1.15621057.1402.14.53.8.2



NUMBER OF TABLES

1



NUMBER OF FIGURES

2



NUMBER OF REFERENCES

21

شناسایی مولکولی گونه های غالب ماهی زبرا *Danio rerio* و بررسی میکروسکوپی اجسام بالبیانی (Balbiani body) در آنها

شکوه صادقی نیا^۱، سلماز شیرعلی^{۲*}، بیتا ارچنگی^۲، فائده امینی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

۲- استادیار دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

۳- دانشیار دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

۴- استادیار دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۴ تاریخ بازبینی: ۱۴۰۲/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۱۵</p>	<p>پیشینه و اهداف: اووسیت اولیه تقریباً تمام حیوانات شامل مجموعه گذرای می باشد که اجسام بالبیانی نامیده می شود. ایجاد عدم تقارن تخمک یک پیش نیاز کلیدی برای توسعه موفقیت آمیز در سراسر قلمرو جانوران است و ساختاری از تخمک که تصور می شود مسئول تعیین قطبیت سیتوپلاسمی است به اصطلاح اجسام بالبیانی نامیده می شود. به دلیل کمیاب بودن اطلاعات منتشر شده و تنوع بسیار زیاد در ظاهر، فراساختار و عملکرد همسانی بین گونه ای، ساختار مولکولی اجسام بالبیانی مثل یک راز باقی مانده است.</p>
<p>واژگان کلیدی: بافت شناسی تخمدان تخمک زایی پیش زرده سازی زیرافیش شناسایی مولکولی</p>	<p>روش ها: هدف از مطالعه حاضر، شناسایی دقیق مولکولی ۶ رنگ مختلف از ماهی زبرا و ثبت اطلاعات ژنومی آن در بانک ژن و همچنین بررسی میکروسکوپ نوری جزئیات گونه (اجسام بالبیانی) در نمونه های مورد نظر می باشد. به این منظور ابتدا گونه ها شناسایی ژنتیکی شده و سپس تخمدان ها پس از مراحل پارساژ بافتی مورد بررسی هیستولوژیک و هیستومتریک قرار گرفتند.</p>
<p>*نویسنده مسئول ✉✉ solmazshirali@kmsu.ac.ir</p> <p>Orcid: 0000-0001-6233-3802 doi: 10.52547/joc.14.53.8 dor:20.1001.1.15621057.1402.14.53.8.2</p>	<p>یافته ها: یافته ها نشان داد که هر ۶ نمونه مورد مطالعه گونه (<i>Danio rerio</i> (Hamilton, 1822) می باشند. در تمامی نمونه های مورد مطالعه اجسام بالبیانی در مرحله پیش زرده سازی مشاهده گردید.</p>
	<p>نتیجه گیری: این اجسام در همه نمونه ها از نظر شکل ظاهری، موقعیت قرارگیری و اندازه دارای شباهت بسیار بودند. در اووسیت نمونه شماره ۵ دو عدد جسم بالبیانی مشاهده شد با این تفاوت که هر ۵ نمونه دیگر حاوی یک عدد جسم بالبیانی بودند.</p>

مقدمه

تغییرات پویایی آن می تواند با آسیب شناسی تخمدان، به ویژه در انسان همراه باشد [۶]. بررسی میکروسکوپی اجسام بالبیانی در ماهی شانک زردباله، ماهی کیور معمولی، ماهی بنی و بیاح نشان داده است که اجسام بالبیانی در فولیکول های پیش زرده سازی ماهی بنی، کیور و شانک زردباله وجود دارد. قطر اجسام بالبیانی در ماهی بنی که واجد اووسیت های پیش زرده سازی بزرگتری می باشد نسبت به کیور معمولی و شانک زردباله بیشتر است. نتایج این بررسی نشان داد که اجسام بالبیانی در اووسیت های ماهی بیاح مشاهده نشد که می تواند نشان دهنده تفاوت های بین گونه ای در روند تخمک زایی باشد [۱۱]. مطالعه نقش اجسام بالبیانی در انتخاب میتوکندری در سلول های زایای زنان نشان داده است که میتوکندری های ناکارآمد (حاوی mtDNA جهش یافته) از اجسام بالبیانی جدا شده و از طریق آپوپتوز از بین می روند و میتوکندری های سالم به نسل بعد منتقل می شوند [۱]. در مطالعه اووسیت حشره ترموبیا اجسام بالبیانی عامل حذف میتوکندری ناکارآمد در طی اووژنیز عنوان شده اند [۱۸]. مطالعه حاضر با هدف شناسایی مولکولی گونه های غالب (۶ رنگ مختلف شامل: صورتی با خطوط سرمه ای، سبز با خطوط سرمه ای، نارنجی با خطوط سفید، زرد با خطوط سفید، نقره ای با خطوط سرمه ای و سرمه ای با خطوط نقره ای) ماهی زبرا *Danio rerio* و بررسی میکروسکوپ نوری اجسام بالبیانی در آنها صورت گرفت.

روش پژوهش

نمونه گیری هر ۶ مدل ماهی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی انجام شد. از هر گونه ماهی به تعداد حداقل ۵ ماهی ماده به ظاهر سالم صید و به طور زنده به آزمایشگاه بافت شناسی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شدند. ابتدا گونه های مورد مطالعه جهت شناسایی مولکولی با استفاده از کلید های شناسایی معتبر از لحاظ ویژگی های مورفولوژیک شناسایی شدند. سپس توسط پودر گل میخک بی هوش، و بیومتری که شامل اندازه گیری وزن ماهی به وسیله ترازو و طول کل (اندازه از نوک پوزه تا انتهای باله دم) و طول استاندارد (اندازه از نوک پوزه تا ابتدای باله دم) است به وسیله تخته بیومتری انجام گرفت. جهت مطالعات مولکولی قسمتی از بافت عضله و باله دم نمونه ها برداشته در الکل ۷۰ درصد فیکس و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی منتقل شد. به منظور استخراج DNA از بافت عضله و باله دم که در الکل ۷۰ درصد فیکس شده بودند از پروتکل فنل - کلروفرم استفاده شد. پس از استخراج DNA به منظور

تخمک ها تقریباً تمام میتوکندری های زیگوت را در زمان لقاح فراهم می کنند. قابلیت حیات و سرزندگی جنین به اجزای سلولی و عملکردی تخمک بستگی دارد. بررسی میتوکندری ها در طول اووژنز نشان می دهد که فرآیندهایی غیر از رشد ساده و تکثیر ممکن است برای رفع این نیازها وجود داشته باشد. به خصوص میتوکندری ها، اجسام گلژی، شبکه آندوپلاسمی و سایر اندامک ها، توده ها یا (ابرها) را در سلول های زایای پیش فولیکولی تشکیل می دهند و سپس در یک ساختار بزرگ به نام اجسام بالبیانی (Balbiani body) در سیتوپلاسم تخمک اولیه بسیاری از گونه ها جمع می شوند [۱]. دلیل ایجاد عدم تقارن تخمک یک پیش نیاز کلیدی برای توسعه موفقیت آمیز در سراسر قلمرو جانوران است و ساختاری از تخمک که به نظر می رسد مسئول تعیین قطبیت سیتوپلاسمی است اجسام بالبیانی می باشد [۱۳].

اجسام بالبیانی عموماً یک واحد منفردی است که در یک طرف هسته قرار دارد و در مراحل اولیه اووژنیز مشاهده می شود و قبل از بلوغ تخمک از هم گسیخته می شوند. اجسام بالبیانی در طیف وسیعی از موجودات زنده وجود دارد، اما به طور مداوم به همان شکل موجود نیست [۱۲]. با وجود این تنوع، جسم بالبیانی همیشه شامل دو عنصر اساسی است: تعدادی خوشه ای محکم میتوکندریایی، مواد فیبریلا - گرانولار متراکم از الکترون که nuage نامیده می شود. همچنین ممکن است شامل سانتیریول، کمپلکس گلژی و عناصر خشن (پوشیده با ریبوزوم) و یا صاف (بدون ریبوزوم) مربوط به شبکه آندوپلاسمیک رتیкулوم باشد [۱۴، ۱۸]. بهترین مطالعات کاربردی اجسام بالبیانی در ماهی و قورباغه ها انجام شده است. تخمک های گورخر ماهی و قورباغه آفریقایی از اجسام بالبیانی برای حمل جرم پلاسم^۱ و mRNA مادرزادی به قشر نباتی اووسیت استفاده می کنند و در تعیین قطبیت تخمک کمک می کنند [۱۳].

مارلو و مولینز (۲۰۰۸) با بررسی های انجام شده بر اووسیت زبرافیش ژن Bucky ball را عامل تجمع اجسام بالبیانی و تعیین کننده قطب نباتی - جانوری در این گونه معرفی کردند [۱۵]. کلاک و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی مقایسه ای مورفولوژی، ترکیب مولکولی و فعالیت اجسام بالبیانی در گونه های مختلف بندپایان و گونه های مدل مهره دار نشان دادند که اجسام بالبیانی گونه های مختلف متفاوت هستند [۱۴]. هدزینشوا و همکاران (۲۰۱۵) عنوان کردند که تخمک های فولیکول های ابتدایی پستانداران، یک خوشه ارگانل نامتقارن را که به عنوان اجسام بالبیانی شناخته می شود، نشان می دهند و برخی از

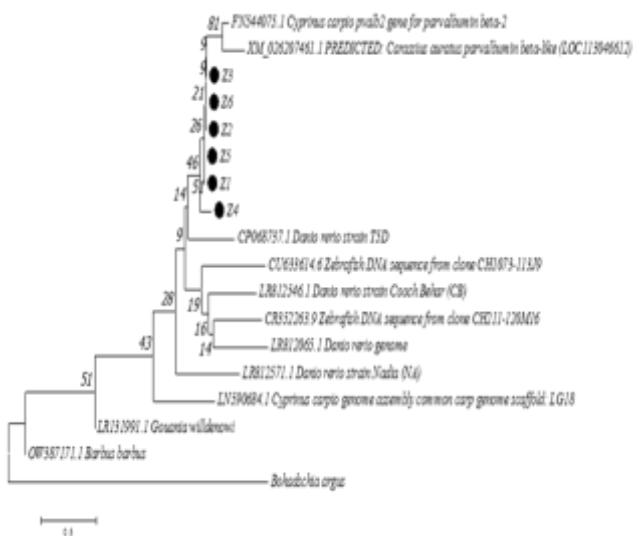
جهت مطالعه هیستولوژیک و هیستومتریک از میکروسکوپ نوری مدل Olympus مجهز به لنز Dino lite و سیستم کامپیوتری مجهز به نرم افزار Dino Capture2 استفاده شد در این بررسی، تمامی اووسیت های واجد اجسام بالیبانی مورد بررسی قرار گرفتند و ساختار مورفولوژیکی اجسام بالیبانی، موقعیت آن در سیتوپلاسم و تفاوت و شباهت های گونه ای مشاهده شده مورد مطالعه قرار گرفتند و قطر اجسام بالیبانی و اووسیت های حاوی اجسام بالیبانی در گونه مورد مطالعه اندازه گیری، محاسبه و مقایسه شد.

جهت بررسی آماری، ابتدا نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت تا از نرمال بودن داده ها اطمینان حاصل گردد. به منظور مقایسه پارامترهای اندازه گیری شده در انواع مختلف گونه از آنالیز واریانس یک طرفه در سطح خطای ۰/۰۵ استفاده گردید. همچنین از آزمون تعقیبی LSD جهت معنی دار بودن تفاوت متغیرها استفاده گردید. نتایج به صورت خطای معیار \pm میانگین گزارش گردید. آنالیزها با نرم افزار SPSS 22 انجام شد.

بررسی کیفیت ژنوم از روش ژل الکتروفورز استفاده شد، سپس با استفاده از دستگاه بایوفتومتر یا نانودراپ کمیت DNA استخراجی مورد بررسی قرار گرفت، در مرحله بعد با استفاده از پرایمرهای IFF232, IFF233a, IFF233b (amplicon size : ~220bp) IFF232: 5'-GAC AAG AGC GGC TTC ATT GAG G-3' IFF 233a: 5'-TCA ATA CCG ATC TTG CCA TCA CCG T-3' IFF 233b: 5'-TCA ACT CCG ATC ATG CCA TCA CCA T-3' تکثیر قطعات ژنومی و PCR انجام شد. شرایط PCR و برنامه حرارتی طبق رفرنس [۱۷] انجام گرفت. سپس کیفیت قطعات تکثیرشده شده نمونه‌های مورد مطالعه با استفاده از ژل الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفت، نمونه هایی که دارای کیفیت مناسب بودند جهت انجام توالی یابی به شرکت فزاپژوه ارسال شد، پس از دریافت نتایج توالی ها، با استفاده از نرم افزارهای مولکولی کروماتس ابتدا توالی ها ویرایش شده و سپس با برنامه ی بلاست در بانک ژن مشابهت و تمایز ژنتیکی نمونه ها با گونه‌های ثبت شده در NCBI مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تعیین جایگاه گونه‌های شناسایی شده بر روی درخت فیلوژنیک از نرم افزار مگا ۱۰ استفاده شد.

جهت مشاهده و نمونه گیری از تخمدان‌ها، یک برش بر سطح شکمی بدن ماهی از سوراخ مخرجی تا ناحیه جلوی باله سینه ای به وسیله قیچی ایجاد شد. تخمدان ها از محوطه شکمی خارج و وزن گردیدند. سپس از تخمدان‌ها برش هایی کوچک تهیه شد. جهت پایدار کردن بافت و نگهداری در وضعیت طبیعی و نیز جلوگیری از اتولیز و اثرات ناشی از تجزیه باکتریایی بافت، نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند.

به منظور مطالعات بافت شناسی، پس از اطمینان از تثبیت، نمونه ها درون بسکت به مدت ۲۴ ساعت (یک شب) در زیر آب جاری شستشو شدند. در ادامه، کلیه مراحل پاساژ بافتی به صورت اتوماتیک و با استفاده از دستگاه هیستوکینت (اتوتکنیکون) موجود در آزمایشگاه بافت شناسی انجام شد. پس از اتمام پاساژ بافتی، از قالب های لوکهارت جهت قالب‌گیری استفاده شد. از قالب های تریم شده به وسیله دستگاه میکروتوم برش هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه گردید. برش های حاصل در داخل حمام آب گرم (بن ماری) با دمای ۵۰ درجه قرار گرفته و سپس بر روی لام ها منتقل شدند. برای رنگ آمیزی مقاطع بافتی تهیه شده از روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) استفاده شد. سپس لام ها توسط لامل و چسب مونتلان مانت شدند.



شکل ۱- درخت فیلوژنیک نمونه های مورد مطالعه اوت گروه

Neighbor-Joining بوت استرپ: ۱۰۰۰ متد: *Bohadtschia argus*

نتایج و بحث

پاروالومین پروتئین‌هایی از خانواده کالمادولین‌ها هستند که بیشتر در بافت‌های عضلانی مهره‌داران یافت می‌شوند و همچنین به عنوان آلرژن‌های اصلی ماهی در نظر گرفته می‌شوند. به‌عنوان به مثالی از

بستگی به محورهای گیاهی و حیوانی قبلی دارد که به خودی خود منجر به محور قدامی - خلفی می‌شود که همچنین اولین محور شکل گیری است و مشخصه قطب گیاهی - جانوری آن این است که به مقدار کمتری از سایر محورها قابل درک است و استقرار آن در اوونزیز به شدت مورد توجه قرار گرفته است و برای دستکاری تجربی کمتر قابل دسترس است. در قورباغه و ماهی محور گیاهی - جانوری در اووسیت اولیه آشکار می‌شود. در موش این محور در طی بلوغ تخمک دیده می‌شود هر چند در اووسیت آغازی عدم تقارن وجود دارد با این حال رابطه بین قطب‌های اووسیت و محورهای جنینی زیگوت کاملاً معلوم نیست و همچنان یک بخش فعال برای مطالعه است [۱۶]. اولین عدم تقارن در تخمک‌های مهره‌داران در مجموع ارگان‌هایی که حاوی شبکه اندوپلاسمی، گلژی و میتوکندری هستند مشهود است که به آن اجسام بالبیانی یا ابر میتوکندریایی گفته می‌شود [۱۵]. شکل‌گیری اجسام بالبیانی تقارن سیتوپلاسم اووسیت را از بین می‌برد و منجر به جدایی واضح آن در قطب جانوری (که شامل هسته اووسیتی) و گیاهی (که شامل اجسام بالبیانی) است، و یک محور گیاهی - جانوری در آینده جنین ایجاد می‌کند [۱۸]. در طول پیش زرده‌سازی و زرده‌سازی اجسام بالبیانی بین هسته و قطب گیاهی تخمک منبسط می‌شوند و میتوکندری‌ها، گرانول‌های ژرمنال و RNA را به قشر تخمک می‌رساند و سپس قطعه قطعه شده و در قشر گیاهی پراکنده می‌شود [۱۹]. در بررسی‌های انجام گرفته بر روی تخمدان‌های ۶ رنگ مختلف از ماهی زبرا، اجسام بالبیانی در مرحله پره ویتلوزنیک (پیش زرده‌سازی) مشاهده گردیدند. در مطالعاتی که پیش از این [۲، ۵، ۸ و ۱۶] بر روی اجسام بالبیانی مگس‌های میوه، قورباغه‌ها، تعدادی ماهی، موش و انسان انجام شده است، این اجسام را در اووسیت این جانوران مشاهده شده‌اند. همچنین بیان داشته‌اند که جسم بالبیانی به عنوان یک ساختار گذرا تنها در اووسیت‌های غیرفعال وجود دارد و زمانی که اووسیت فعال می‌شود پراکنده (ناپدید) می‌شود.

در بررسی میکروسکوپی اجسام بالبیانی در مطالعه حاضر، این اجسام به شکل ساختارهایی غالباً کروی و گاهی کشیده و تخم مرغی شکل با حاشیه‌های نامنظم مشاهده شد که در میانگین اندازه اجسام بالبیانی در هر ۶ نمونه مورد مطالعه اختلاف ناچیز وجود داشت. اووسیت تمامی نمونه‌ها به جز نمونه شماره ۵ (زبرای نقره ای با خطوط سورمه ای) حاوی یک جسم بالبیانی بودند در صورتی که در اووسیت ماهی شماره ۵ دو جسم بالبیانی مشاهده شد

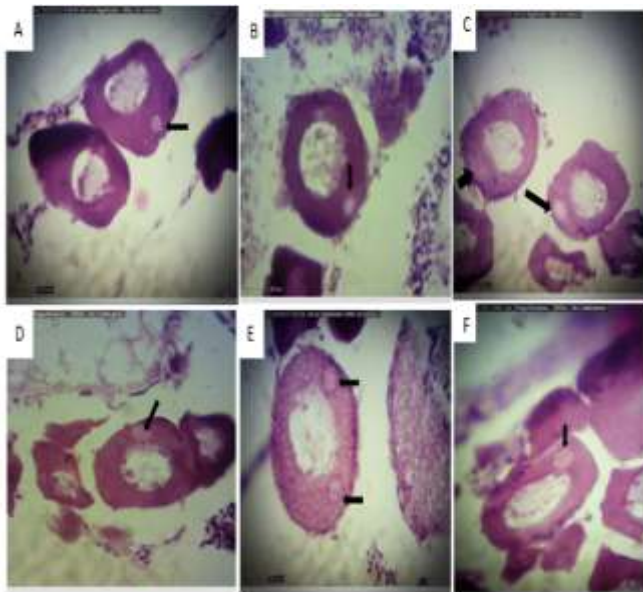
مطالعات نشان داده‌اند که اجسام بالبیانی در بین بی‌مهرگان، مورفولوژی‌های مختلفی دارند. در تخمک‌های سوسک ببر، جوجه تیغی دریایی و جیرجیرک سیاه یک توده گرد و منفرد، در

خانواده‌های ژنی متنوع، ژن‌های پاروالبومین که (pvalb) گفته می‌شود، همچنین دارای رگه‌هایی از آثار تکراری ژنومی باستانی در یوکاریوت‌ها، مهره‌داران و ماهیان استخوانی هستند. در عین حال، ژن پاروالبومین (از جمله اینترون آن) نشانگر جالبی است که برای شناسایی گونه‌های ماهی یا مطالعات فیلوژنتیکی استفاده می‌شود [۱۵]. در مطالعه حاضر با استفاده از پرایمرهای IFF232، IFF233a و IFF233b ژن پاروالبومین موجود در DNA ژنومی جدا شده از ماهی‌ها جهت شناسایی مولکولی گونه تکثیر شد. در این تحقیق با مشاهده باند DNA با استفاده از دستگاه ترانس لومیناتور (ژل داگ) و با مقایسه با مارکر bp ۱۰۰ بر روی ژل آگارز، باند اختصاصی حدود bp ۲۲۰ مشاهده شد. پس از بررسی کیفیت آن جهت انجام خدمات تعیین توالی به شرکت فزایژه ارسال شد پس از بررسی و ویرایش نتایج با استفاده از نرم افزارهای مربوطه، مشاهده شد که نمونه‌های ۱، ۳، ۵، ۶ با توالی گونه *Danio rerio* (Hamilton, 1822) دارای ۱۰۰٪ تشابه و همچنین نمونه هاس شماره ۲ و ۴ به ترتیب با توالی گونه *Danio rerio* (Hamilton, 1822) ۹۸٪ و ۹۷٪ تشابه دارند، که پراکنش این گونه در پاکستان، هند، بنگلادش، نپال و میانمار می‌باشد. توالی نمونه‌های مورد مطالعه با توالی ثبت شده از *Danio kyathit* (Fang, 1998) ۹۸٪ تشابه دارند که این گونه از ماهیان پرتو باله از خانواده دانیوها می‌باشند که در معرض خطر انقراض قرار دارند و در زیستگاه‌های آب شیرین در شمال میانمار زندگی می‌کنند. همچنین بین توالی نمونه‌های مورد مطالعه با توالی ثبت شده از *Danio aesculapii* (Kullander & Fang, 2009) که گونه ای جدید از دانیوها در جنوب غربی میانمار می‌باشد، ۹۸٪ شباهت وجود داشت.

همانطور که در مطالعاتی که پیش از این توسط Rehbein and Bogerd (2007) انجام شد، با استفاده از پرایمرهای IFF232.IFF233a.IFF233b (amplicon size 220bp) ژن پاروالبومین DNA ژنومی جدا شده از زبرا فیش وحشی را تکثیر کردند و از آن به عنوان الگوی کنترل شناسایی زبرا فیش ترا ریخته که حاوی ژن (dsred) استفاده کردند.

در مطالعه حاضر درخت فیلوژنی به روش پیوند همجواری (NJ) برای هر ۶ نمونه مورد مطالعه بر اساس ژن Parvalbumin رسم گردید و از *Bohadschia argus* به عنوان برون گروه استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که ماهی شماره ۱ تا ۶ با گونه‌های ثبت شده در یک کلاد قرار دارند و در مجموع هر ۶ گونه مورد مطالعه، *Danio rerio* (Hamilton, 1822) می‌باشند.

طرح جسمانی پیچیده جنین مهره‌دار با ایجاد محورهای جنینی آغاز می‌شود. تشکیل هر دو محور پشتی و شکمی و چپ و راست



شکل ۲- اجسام بالبیانی در هر ۶ نمونه مورد مطالعه. پیکان سیاه اجسام بالبیانی را در تخمک زرده سازی نشان می دهد. شکل A اجسام بالبیانی در قطب سلول در نمونه شماره ۱. شکل B- اجسام بالبیانی در فاصله بین هسته و دیواره سلول در نمونه شماره ۲. شکل C - اجسام بالبیانی در فاصله بین هسته و سلول در نمونه شماره ۳. شکل D اجسام بالبیانی در مجاورت هسته در نمونه شماره ۴. شکل E مشاهده دو جسم بالبیانی در نزدیکی هسته در نمونه شماره ۵ - شکل F اجسام بالبیانی در مجاورت هسته در نمونه شماره ۶

نتیجه گیری

بررسی مولکولی نمونه های مورد مطالعه نشان داد که هر ۶ گونه مورد بررسی (Danio rerio (Hamilton, 1822 می باشند. با بررسی تخمدان های هر ۶ رنگ ماهی زبرا *Danio rerio* شامل (زبرای صورتی با خطوط سرمه ای، سبز با خطوط سرمه ای، نارنجی با خطوط سفید، زرد با خطوط سفید، سورمه ای با خطوط نقره ای و سرمه ای با خطوط نقره ای) در تمامی نمونه های مورد مطالعه اجسام بالبیانی مشاهده گردید. که این اجسام در همه نمونه ها از نظر شکل ظاهری، موقعیت قرارگیری و اندازه دارای شباهت بسیار بودند. در اووسیت نمونه شماره ۵ دو عدد جسم بالبیانی مشاهده شد با این تفاوت که هر ۵ نمونه دیگر حاوی یک عدد جسم بالبیانی بودند.

مشارکت نویسندگان

در نگارش این مقاله نویسندگان سهم یکسانی داشتند. تمرکز اصلی نویسنده دوم (سلماز شیرعلی) که نویسنده مسئول مقاله است، تهیه نمونه و آماده سازی و بررسی مقاطع بافتی و نظارت بر انطباق مقاله با فرمت مجله بوده است. تمرکز نویسنده اول (شکوه صادقی نیا) انجام

عنکبوت دخمه، هلالی شکل و درگانه های مختلفی از جیرجیرکها به نظر می رسد که دو جسم بالبیانی مشاهده می شود [۷، ۸ و ۱۰]. در تخمک دروزفیلا شناسایی یک بالبیانی منسجم منفرد دشوار است [۵]. همچنین در مهره داران غیرپستاندار، اجسام بالبیانی و یا ساختارهای مشابه مشاهده شده است. جسم بالبیانی در ماهی خاویاری مشاهده نشده است، اما تخمک های آنها ممکن است دارای ساختار موازی باشند. حلقه متراکم از سیتوپلاسم مملو از اندامک هایی به نام سیتوپلاسم بالبیانی یا اوپلاسم دانه دار، مجزا از سیتوپلاسم آزاد اطراف غشای اندامکها، هسته تخمک را احاطه می کند. همچنین در انسان جسم بالبیانی از نظر مورفولوژی مشابه اجسام بالبیانی در ماهی گورخری و قورباغه می باشد [۴، ۹، ۱۲ و ۲۰].

در مطالعه حاضر با بررسی میکروسکوپ نوری اجسام بالبیانی در هر ۶ نمونه مورد مطالعه از نظر موقعیت قرارگیری معمولاً در نزدیک هسته و یا در فاصله از آن در یک قطب سلول که همان قطب گیاهی آینده سلول می باشد قرار داشتند و گاهی اوقات بین هسته و دیواره سلول مشاهده شدند و سپس با بلوغ اووسیت این اجسام ناپدید شدند. همان طور که مطالعات پیشین نشان داده اند که در طول پیش زرده سازی و زرده سازی اجسام بالبیانی بین هسته و قطب گیاهی تخمک منبسط می شوند و میتوکندریها، گرانول های ژرمنال و RNA را به قشر تخمک می رساند و سپس قطعه قطعه شده و در قشر گیاهی پراکنده می شود. اجسام بالبیانی ساختارهای گذرای هستند، آنها با دریافت سیگنال بلوغ ناپدید می شوند [۳ و ۱۹].

به دلیل کمیاب بودن اطلاعات منتشر شده و تنوع بسیار زیاد در ظاهر، فراساختار ترکیب و عملکرد همسانی بین گونه ای، ساختار مولکولی اجسام بالبیانی مثل یک راز باقی مانده است [۲۱].

جدول ۱- بررسی مقایسه ای قطر اووسیت های حاوی اجسام بالبیانی و اجسام بالبیانی در گونه های مورد مطالعه

نمونه زبرا مورد مطالعه	قطر اووسیت های حاوی اجسام بالبیانی Mean ± SEM	قطر اجسام بالبیانی Mean ± SEM
صورتی با خطوط سورمه ای	65.1 ± 5.8	7.9 ± 1.2
سبز با خطوط ابی تیره	63.5 ± 7.8	7.5 ± 2.1
نارنجی با خطوط سفید	62.9 ± 12.6	6.9 ± 1.6
زرد با خطوط سفید	74.6 ± 12.2	9.3 ± 2.0
نقره ای با خطوط سرمه ای	61.1 ± 14.4	8.1 ± 1.2
سرمه ای با خطوط نقره ای	60.1 ± 7.6	8.5 ± 1.3

- anthropologica. 22: 159-162(4 Pages).
<http://www.iempam.bas.bg/journals/acta/arhiv/acta22/159-162.pdf>
- [7] Heasman, J.; Quarmby, J. and Wylie, C. J. D. b.(1984). The mitochondrial cloud of *Xenopus* oocytes: the source of germinal granule material. *Developmental biology* 105(2): 458-469(12 Pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0012160684903038>
- [8] Jaglarz, M. K.; Nowak, Z.; & Bilinski, S. M. (2003). The Balbiani body and generation early asymmetry in the oocyte of a tiger beetle. *Differentiation*, 71(2), 142–151(10 Pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301468109602747>
- [9] Jamieson-Lucy, A.; Mullins, M. C. (2019). Isolation of Zebrafish Balbiani Bodies for Proteomic Analysis. In *Vertebrate Embryogenesis Humana*, New York, NY. (pp.295-302).
https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-4939-9009-2_17
- [10] Jędrzejowska, I., & Kubrakiewicz, J. (2007). The Balbiani body in the oocytes of a commoncellar spider, *Pholcus phalangioides*(Araneae:Pholcidae).*Arthropod Structure & Development*,36(3), 317–326(9 Pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1467803907000060>
- [11] khodabakhshian, M.; Shirali, S.; Abdi, R., (2021). Microscopic survey of Balbiani bodies in Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*), Abu Mullet (Planiliza abu), Common carp (*Cyprinus carpio*) and Benni (*Barbus sharpeyi*). *Iranian Journal of Biology*.,34(4): 375-389(14 pages).
https://animal.ijbio.ir/article_2033.html
- [12] Kloc, M.; Dougherty, M. T.; Bilinski, S.; Chan, A. P.; Brey, E.; King, M. L.; Patrick Jr, C. W. and Etkin, L. D. J. D. b. (2002). Three-dimensional ultrastructural analysis of RNA distribution within germinal granules of *Xenopus*. 241: 79-93(15 Pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0012160684903038>
- فعالیت های آزمایشگاهی بافت شناسی، شناسایی مولکولی، نگارش و جمع آوری مطالب، ترجمه و ویراستاری مقالات و هماهنگی محتوایی مقاله را نیز بر عهده داشته است. نویسنده سوم (بیبا ارچنگی) راهنمایی بخش تحقیقات مولکولی را به عهده داشته است. نویسنده چهارم (فانده امینی) مشاوره تحقیق را به عهده داشته است.
- تشکر و قدردانی تعارض منافع**
- «هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.»
- منابع**
- [1] Bilinski, SM.; Kloc, M.; Tworzydło, W., (2017) . Selection of mitochondria in female germline cells : is Balbiani body implicated in this process ? *J Assist Reprod Genet* 34 : 1405 – 1412(7 Pages).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5699987/>
- [2] Billett, F.; Adam, E. J. D.(1976). The structure of the mitochondrial cloud of *Xenopus laevis* oocytes. 36: 697-710(13 Pages).
<https://journals.biologists.com/dev/article-pdf/36/3/697/1198850/36-3-697.pdf>
- [3] Boke, E.; Mitchison, T. J. J. C. C. (2017). The balbiani body and the concept of physiological amyloids. 16(2): 153-154
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5283817/>
- [4] Cakici, O. (2017). Oocyte development in *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) (Orthoptera: Gryllidae): Presence of Balbiani body. *Turkish Journal of Zoology*, 41,203–208(6 Pages).
<https://journals.tubitak.gov.tr/zoology/vol41/iss2/1/>
- [5] Cox, R. T.; Spradling, A. C. J. D.(2003). A Balbiani body and the fusome mediate mitochondrial inheritance during *Drosophila* oogenesis. 130: 1579-1590(12 Pages).
<https://journals.biologists.com/dev/article-abstract/130/8/1579/18449>
- [6] Hadzhinesheva, V.; Nikolova, V.; Chakarova, I.; Delimitreva, S.; Markova, M.; Zhivkova, R. (2015). Mammalian Balbiani Body As a sign of Ancestral Oocyte Asymetry. *Acta Morphologica et*

- [18] Tworzydło, W.; Kisiel, E.; Jankowska, W.; Witwicka, A.; Bilinski, S. M. (2016). Exclusion of dysfunctional mitochondria from Balbiani body during early oogenesis of *Thermobia*. *Cell Tissue Res.* 366 : 191 – 201(11 Pages).
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00441-016-2414-x>
- [19] Wilk, K.; Bilinski, S.; Dougherty, M. T. and Kloc, M. J. I. J. o. D. B. (2003). Delivery of germinal granules and localized RNAs via the messenger transport organizer pathway to the vegetal cortex of *Xenopus* oocytes occurs through directional expansion of the mitochondrial cloud. 49: 17-21(5 Pages).
<http://www.ijdb.ehu.es/web/paper.php?doi=041906kw>
- [20] Yakovlev, K. V. (2016). Localization of germ plasm-related structures during sea urchin oogenesis. *Developmental Dynamics*, 245(1), 56–66(11 Pages).
<https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dvdy.24348>
- [21] Zelazowska, M.; Kilarski, W.; Bilinski, S. M.; Podder, D. D.; Kloc, M. J. C. and research, t. (2007). Balbiani cytoplasm in oocytes of a primitive fish, the sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii*, and its potential homology to the Balbiani body (mitochondrial cloud) of *Xenopus laevis* oocytes. 329: 137-145(9 Pages).
https://www.academia.edu/16363392/Balbiani_cytoplasm_in_oocytes_of_a_primitive_fish_the_sturgeon_Acipenser_gueldenstaedtii_and_its_potential_homology_to_the_Balbiani_body_mitochondrial_cloud_of_Xenopus_laevis_oocyte
- 2160601904889
- [13] Kloc, M.; Jedrzejowska, I.; Tworzydło, W.; Bilinski, S. M. (2013). Balbiani body nuage and sponge bodies – The germ plasm pathway. *Press*. 1- 8(8 PAGES).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1467803913001084>
- [14] Marlow, F. L.; Mullins, M. C. J. D. b. (2008). Bucky ball functions in Balbiani body assembly and animal–vegetal polarity in the oocyte and follicle cell layer in zebrafish. 321: 40-50(11 Pages).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0012160608009160>
- [15] Mukherjee, S.; Bartoš, O.; Zdeňková, K.; Hanák, P.; Horká, P., & Musilova, Z. (2021). Evolution of the Parvalbumin Genes in Teleost Fishes after the Whole-Genome Duplication. *Fishes*, 6(4), 70
<https://www.mdpi.com/2410-3888/6/4/70/pdf>
- [16] Pepling, M. E.; Wilhelm, J. E.; O'Hara, A. L.; Gephardt, G. W. and Spradling, A. C. J. P. o. t. N. A. o. S. (2007). Mouse oocytes within germ cell cysts and primordial follicles contain a Balbiani body. 104: 187-192(5 Pages).
<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0609923104>
- [17] Rehbein, H.; Bogerd, J. (2007). Identification of Genetically modified Zebrafish (*Danio rerio*) by protein- and DNA-Analysis. *verbr. Lebensm.* 2 : 122 – 125(4 Pages).
https://www.academia.edu/download/42577048/J_Verbr_Lebensm_2_2007_122-125_-_Glofish_paper_2007_Rehbein_Bogerd.pdf

AUTHOR(S) BIOSKETCHES

Sadeghinia. Sh ., Ms.c student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, IRAN



Shirali, S, Assistant professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, IRAN

✉ solmazshirali@kmsu.ac.ir

0000-0001-6233-3802

Archangi,B., Associated professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, IRAN



.....

Amini. F., Assistant professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, IRAN

این قسمت توسط نشریه تکمیل می گردد:

HOW TO CITE THIS ARTICLE



<http://doi.org/10.52547/joc.14.53.8>



<http://joc.inio.ac.ir/article-1-1731-fa.html>



<https://orcid.org/0000-0001-6233-3802>

COPYRIGHTS



©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.