مطالعه مورفولوژی و هیستوشیمی دستگاه تولیدمثل جکوی انگشت برگی ورنر *Asaccus elisae* (Werner, 1895) نر و ارتباط آن با فصول مختلف سال

پریا پرتو[1*]، نصرالله رستگارپویانی[1]، آذر خالصه[1]، فریبا نوری[1]، شهرام میرآقایی[2] و نسیم خزاعی[1]

[1] کرمانشاه، دانشگاه رازی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

[2] کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات علوم پزشکی

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۴

چکیده

سیکل تولیدمثل سالیانه‌ی۳۰ نمونه *Asaccus elisae* (جکوی انگشت برگی ورنر) مطالعه شد. مرفولوژی و هیستوشیمی دستگاه تناسلی نر در بهار، تابستان و پاییز بررسی شد. پس از جمع‌آوری جکوها، وزن بدن و(Snout-vent length) SVL در هر فصل اندازه‌گیری شد. پس‌ازآن با اتر بیهوش شدند. پس از باز شدن شکم و خارج کردن دستگاه تولیدمثل آنها، وزن بیضه اندازه‌گیری و اندکس گونادوسوماتیک محاسبه شد. دستگاه تولیدمثل نر در بافر فرمالین ۱۰٪ فیکس و مراحل روتین بافت‌شناسی انجام گردید. لامها بارنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین -HE و آلسین بلو – PAS رنگ‌آمیزی شد. نتایج نشان داد که بیضه در *A. elisae* دارای لوله‌های سمینی فروس است که در بهار و پاییز آشکار بود اما در تابستان بصورت تحلیل رفته مشاهده شد. در بهار و پاییز اسپرماتوزآ در اپیدیدیم وجود داشت و قطر اپیدیدیم در این دو فصل بیشتر بود همچنین قطعه جنسی کلیه در بهار و پاییز کاملاً آشکار بود. به نوعی برای آب‌وهوای معتدل غرب ایران سیکل تولیدمثل *A. elisae* از نوع فصلی است و به‌شدت به درجه حرارت وابسته است.

واژه‌های کلیدی: بافت‌شناسی، چرخه تولیدمثلی، *Asaccus elisae* نر.

نویسنده مسئول، تلفن ۰۸۳۳-۴۲۷۴۵۴۵، پست الکترونیک: pariaparto@gmail.com

مقدمه

Asaccus elisae یا جکوی انگشت برگی ورنر از خانواده جکونیده است که درسال ۱۸۹۵ توسط ورنر نامگذاری شد. خانواده‌ی جکونیده یک خانواده‌ی جهانی و یکی از بزرگترین خانواده‌ها با بیش از ۱۰۰۰ گونه از سوسمارهاست (۱۷). این خانواده در سراسر مناطق معتدله، مناطق گرم استوایی ازجمله آمریکای مرکزی و جنوبی و آفریقا ماداگاسکار، جنوب اروپا، آسیا، هند و استرالیا، مجمع‌الجزایر گینه، استرالیا و اقیانوسیه پراکنش دارد (۵).

سه نوع عمده چرخه‌های تولیدمثلی شناسایی‌شده است، چرخه‌های قبل از آمیزش یا وابسته (prenuptial)، بعد از آمیزش یا غیروابسته(postnuptial) و سیکل پایدار یا مداوم (constant) (۲۳). درسیکل تولیدمثل قبل از آمیزش استروئیدهای جنسی و گامتوژنز پیش از جفت‌گیری رخ می‌دهد، در حالیکه در سیکل تولیدمثلی بعد از آمیزش، پس از آمیزش رخ می‌دهد و در سیکل تولیدمثلی پایدار فعالیت گنادها تقریباً در تمام طول سال نزدیک به سطح ماکزیمم نگه‌داشته می‌شود. چرخه‌های تولیدمثلی وابسته و غیروابسته باوجود یک‌فصل جفت‌گیری ناپیوسته مشخص می‌شوند. سیکل تولیدمثلی وابسته در گونه‌هایی رایج است که در یک محیط قابل پیش‌بینی در مناطق معتدله و یا در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری زندگی می‌کنند (۸،۱۸، ۱۹، ۳۵ و ۳۶).

همه خزندگان نر یک جفت بیضه متراکم در حفره‌ی شکمی دارند (۳۵). بیضه‌ها شامل لوله‌های پیچیدی سمینی فروس، اپیتلیال زاینده‌ی دائمی و سلول‌های سرتولی است. سلول‌های لیدیگ در بافت بین لوله‌های اسپرم‌ساز که توسط بافت همبند، خون و فضاهای لنف احاطه‌شده، یافت می‌شوند (۱۰، ۱۱، ۳۱، ۳۰، ۳۲ و ۳۷). مراحل تکوین سلولهای جنسی و میزان فعالیت و سوخت‌وساز بافت‌های بینابینی متغیر است (۳۸،۲۸ ،۳۹). ظاهراً تغییرات در سلولهای لیدیگ با دوره‌های تولید سلول‌های زایا معکوس و متفاوت است (۴ و۱۳). مطالعات بر روی چرخه‌ی بیضه گونه‌های مختلف سوسماران نشان داد که الگوهای اسپرماتوژنز اختصاصی است (۱۱و ۲۹).

اپیدیدیم را می‌توان ازلحاظ مورفولوژیکی به مناطق مختلف تقسیم کرد. بسته به گونه، در طول آن تنوع قابل‌توجهی در ارتفاع سلول‌های پوششی و قطر مجرا وجود دارد. در خزندگان اپیدیدیم در بالغ شدن اسپرم دخالت دارد. اسپرم متحرک می‌شود و پس از عبور از اپیدیدیم برای لقاح با تخمک‌ها توانا می‌شود. اپیدیدیم سوسمار یک عضو ترشحی است که توسط هورمون‌های استروئیدی کنترل می‌شود (۶ و ۹). اپیدیدیم گرانول‌های بزرگ ترشحی تولید می‌کند که با اسپرم در مایع اپیدیدیم مخلوط می‌شود. گرانول‌های ترشحی شامل پروتئین‌های مخصوص هستند که قادرند با سر اسپرم اتصال پیدا کنند (۳۰ و ۶).

گسترش مجرای ولف در خزندگان مجرای دفران را تشکیل می‌دهد. منطقه تناسلی از مجرای ولف که طول آن توسط یک‌لایه از سلول‌های پوشیده شده است (۳۵). مجاری دفران در سوسمار یک ساختار ساده متشکل از لوله‌ای پیچیده با قطر متفاوت است که اسپرم را از اپیدیدیم حمل می‌کند. آناتومی مجرای دفران برای *Calotes versicolor*، توصیف‌شده است. به نظر می‌رسد در طی فصل جفت‌گیری قسمت انتهایی دفران متورم شده و با آمپول مجرای پستانداران قابل‌مقایسه است. در طی فاز ساکن نمی‌توان مجرای دفران را به‌عنوان یک مجرا و آمپول تشخیص داد (۱۸ و۳).

در بیشتر سوسمارها قسمت جنسی کلیه Renal Sexual Segment (RSS)، عمدتاً شامل لوله‌ی پیچیده‌ی دور و در برخی بخش عمده آن لوله‌ی جمع کننده است (۳۳). در سال ۲۰۰۵، سیور و هاپکینز تنوع فصلی RSS در سوسمار خاک‌زی *Scincella lateralis* از Scincidae را با میکروسکوپ نوری و الکترونی مطالعه کردند، آنها گزارشی از اطلاعات سوسمارهای جمع‌آوری‌شده در سراسر سال ارائه دادند و دریافتند که مانند اکثر مارها RSS در *S. lateralis*، در طول فصل غیرفعال (ازنظر جنسی) از دیگر لوله‌های نفریک قابل‌تشخیص است (۳۴). هدف از این مطالعه بررسی مورفولوژیکی و هیستولوژیکی سیستم تناسلی نر در فصول مختلف بهار، تابستان و پاییز می‌باشد.

مواد و روشها

۳۰ نمونه سوسمار نر *A. elisae* (اندازه بدن نرها کوچکتراز ماده‌ها و برجستگی قائده دم در نرها بزرگتر از ماده‌هاست) در فصول بهار تابستان و پاییز از نفت شهر و سرپل ذهاب جمع‌آوری‌شده و به آزمایشگاه جانورشناسی دانشگاه رازی منتقل گردید. پس از بیهوش کردن نمونه با استفاده از اتر، نمونه‌ها در بافر فرمالین ۱۰٪ نگهداری و پایدارسازی شدند.

مطالعه ماکروسکوپی نمونه‌ها: ابتدا بوسیله کولیس اندازه SVL(طول پوزه تا مخرج)و طول بدن (از پوزه تا انتهای دم) اندازه‌گیری شد و با استفاده از ترازوی دیجیتال ۱۰۰ گرمی با دقت ۰/۰۱ گرم، وزن نمونه‌ها به دست آمد. سپس یک برش بر روی دیواره شکمی نمونه‌ها زده شد و پس از کنار زدن روده و دستگاه گوارش، دستگاه تولیدمثل آنها مشاهده شد. سپس از هریک از آن‌ها با استفاده از دوربین DinoCapture 2X متصل به میکروسکوپ عکس‌برداری صورت گرفت و با قلم نوری دیاگرام دستگاه تولیدمثل نر

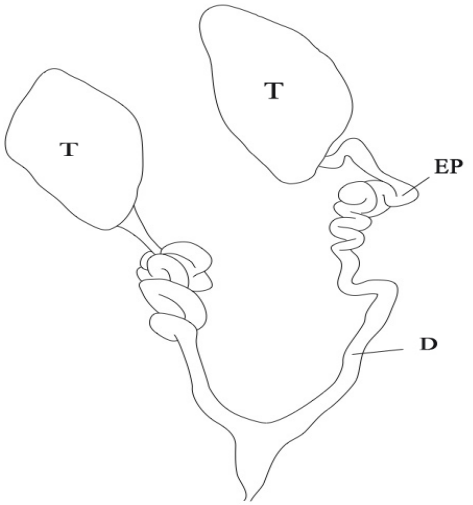
ترسیم شد. دستگاه تولیدمثل از بدن جانور جداشده و وزن آن اندازه‌گیری گردید. پس از تعیین وزن بدن و بیضه شاخص گنادو سوماتیک (GI) محاسبه شد. سپس دستگاه تولیدمثلی سوسمار جدا و در بافر ۱۰٪ پایدارسازی صورت گرفت. سپس برای آماده‌سازی، بافت‌ها در دستگاه اتوتکنیکون قرارگرفته، توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین و PAS–آلسین بلو رنگ‌آمیزی و در دمای آزمایشگاه خشک شدند.

در این مطالعه جهت بررسی آماری از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹استفاده‌شده است. برای این مطالعه از تست آماری توکی استفاده شد(Tukey.P≤0.05). رابطه معنی‌داری بین فصول مختلف برای هریک از متغیرها محاسبه شد. (۰/۰۰۰تا ≥۰/۰۵ معناداری را و اعداد بزرگتر از ۰/۰۵ عدم معناداری را نشان می‌دهد) نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ رسم شدند.

نتایج

تغییرات محیطی بر روی سیکل بیضه: مشاهدات مربوط به فعالیت جنسی*A. elisae* نشان داد که این سوسمار در فاصله زمانی بین آذر تا اوایل اسفند که متوسط درجه هوا بین۱۱/۳-۸/۲ درجه سلسیوس بود، کمترین فعالیت را از خود نشان می‌داد. و در دو فاصله زمانی یکی در اواخر بهار (اردیبهشت تا خرداد) و دیگری در اوایل پاییز (اواخر شهریور تا اوایل آبان) بیشترین فعالیت را نشان می‌دهد. بقیه فاکتورهای محیطی مانند طول روز، رطوبت و میزان بارندگی نیز احتمالاً بر روی سیستم تولیدمثلی مؤثر هستند.

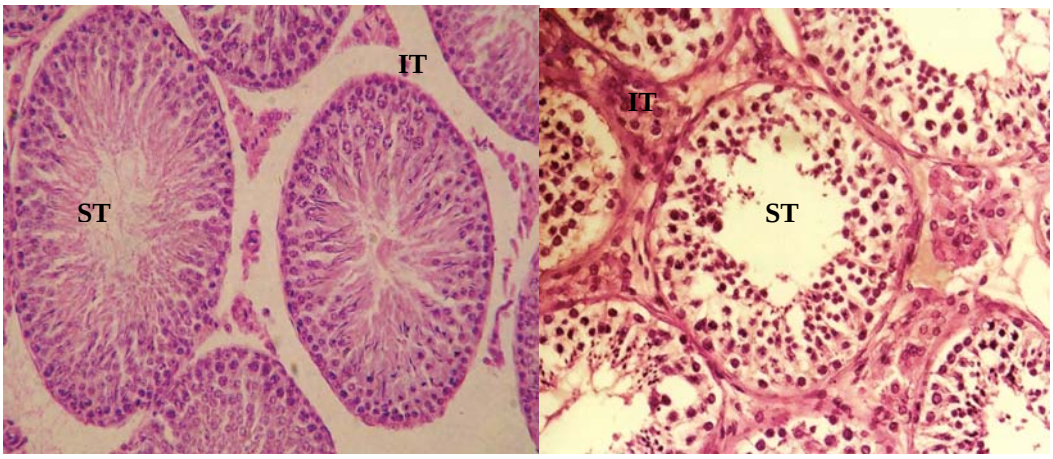
آناتومی و بافت‌شناسی دستگاه‌های تولیدمثلی نر در *A.elisae*: دستگاه تناسلی *A.elisae* نر شامل دو بیضه است که بیضه راست کمی جلوتر از بیضه چپ است هر بیضه به یک لوله‌ی پرپیچ‌وخم (اپیدیدیم) متصل می‌شود. بعد از اپیدیدیم مجرای دفران قراردارد. مجاری دفران راست و چپ به کلوآک ختم می‌شود (شکل۱).



شکل ۱- دیاگرام نمای پشتی دستگاه تناسلی نر در *A.elisae*: بیضه (T)، اپیدیدیم (EP)، مجرای دفران (D)

بیضه‌ها: دستگاه تولیدمثلی نر در این سوسمار شامل یک جفت بیضه است که در محوطه شکمی قراردارد که توسط تونیکا آلبوژینا یا کپسول بیضه احاطه‌شده است (شکل۲). این کپسول از جنس بافت همبند فیبروالاستیک می‌باشد. تیغه‌های کپسول، لوبول‌هایی را ایجاد می‌کنند که حاوی لوله‌های سمینی فروس و بافت همبند تونیکا پروپریا شامل سلولهای بینابینی (لیدیگ)، عروق خونی و عروق لنفاوی آنها را احاطه می‌کند. ساختار مورفولوژیکی بیضه‌ها ولوله‌های سمینی فروس در مراحل مختلف سیکل تولیدمثلی در ماههای مختلف سال متفاوت است. در زمان‌هایی که بیضه‌ها ازنظر جنسی فعال هستند، تمام مراحل اسپرماتوژنز قابل‌مشاهده است (شکل۲). این سلولها به ترتیب از غشای پایه به داخل لومن در لایه‌هایی پشت سرهم مرتب‌شده‌اند، به گونه‌ایی که دم اسپرماتید در فضای داخلی لومن قابل‌مشاهده است. سلول‌های رده‌ی اسپرماتوژنز و سلولهای اپیتلیایی غیرزایا یا سلول‌های سرتولی (پرستار) قراردارد که هسته سلول‌های سرتولی مثلثی شکل و تیره است و نزدیک به غشای پایه لوله‌های سمینی فروس قرارمی‌گیرد. سلولهای لیدیگ در بافت همبند بینابینی بین لوله‌های سمینی فروس بصورت تکی یا

گروهی قرار می‌گیرند. در جدول شماره ۱ تغییرات طول بدن، وزن بدن، قطر لوله‌های سمینی فروس و ارتفاع اپی تلیوم لوله‌های سمینی فروس و اندکس گونادو سوماتیک در فصول مختلف سال مورد بررسی قرارگرفته است. در جدول شماره ۲ قطر بخش سری و بدنه‌ی اپیدیدیم در ماه‌های مورد مطالعه مورد بررسی و محاسبه‌شده است.



A B

شکل۲- فتومیکروگراف بیضه *A. elisae*، A در فاز فعالیت جنسی در اوایل فصل بهار، B در فصل پاییز (HE-۱۰۰×) در این تصاویر سلولهای رده اسپرماتوژنز و اسپرماتیدهای تولید شده قابل مشاهد است. لوله‌های سمینی فروس (ST)، بافت بینابینی (IT).

جدول۱- تغییرات (میانگین ± انحراف معیار) طول پوزه تا مخرج (SVL)، وزن بدن، وزن بیضه، قطر لوله‌های سمینی فروس (STD)، ارتفاع سلولهای اپی تلیوم، لوله‌های سمینی فروس (EPH) و اندکس گنادوسوماتیک (GI) در فصول بهار، تابستان و پاییز در *A. elisae*

پارامتر	بهار	تابستان	پاییز	معناداری
تعداد نمونه	۱۰	۱۰	۱۰	۰/۰۰۰
SVL(µm)	۴۸/۶۳±۲/۷۷ ^{a}	۵۱/۷۵±۲/۵۷ ^{a}	۵۷/۲۴±۲/۹۷^{a}	۰/۰۰۰
وزن بدن(گرم)	۱۱/۵۲±۱/۵۸^{b}	۱۰/۰۷±۱/۷۷^{a}	۱۲/۶۰±۱/۷۵^{c}	۰/۰۵۹
وزن بیضه(گرم)	۰۰/۰۸۳±۰/۰۲۴^{a}	۰۰/۰۱۹±۰/۰۰ ^{a}	۰۰/۰۵±۰/۰۱۷^{a}	۰/۰۰۰
STD(µm)	۳۴/۹۲±۴/۳۳^{a}	۱۰/۹۲±۱۰/۶۴^{a}	۲۳/۰۰±۵/۴۳^{a}	۰/۰۰۰
EPH(µm)	۷۰/۶۷±۱/۲۶^{a}	۱۷/۰۹±۲/۳۰ ^{a}	۲۸/۱۲±۴/۴۴^{a}	۰/۰۰۰
GI	۰۰/۷۳±۰/۲۱^{a}	۰۰/۱۸±۰/۰۷^{a}	۰۰/۴۶±۰/۱۷^{a}	۰/۰۰۰

در زمان استراحت جنسی ارتفاع سلولها کم شده و تقریباً به فرم مکعب در می‌آیند (شکل۴).

abc: مقادیر با نماهای مختلف دارای اختلاف معنادار هستند.

جدول ۲- قطر قسمت سر (A) و بدنه(M) لوله اپیدیدیم برحسب میکرومتر در *A. elisae*

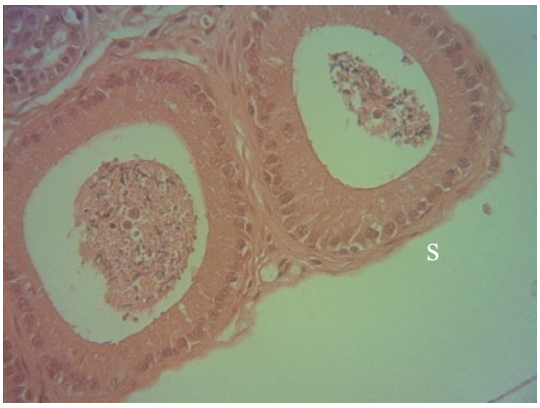
پارامتر	بهار	تابستان	پاییز	معناداری
ELD(A)(µm)	۱۰۹/۱۷±۱۹/۵۶^{a}	۳۷/۶۵±۱۰/۲۶^{b}	۵۵/۲۱±۸/۷۳^{c}	≤۰/۰۵
ELD(M)(µm)	۱۴۵/۶۰±۲۴/۲۷^{a}	۵۰/۰,۶±۴/۲۴^{b}	۸۸/۷۶±۷/۹۹^{c}	≤۰/۰۵

abc: مقادیر با نماهای مختلف دارای اختلاف معنادار هستند.

نحوه‌ی محاسبه GI index به این صورت است:
GonadosomaticIndex = Testis mass/Body mass×100

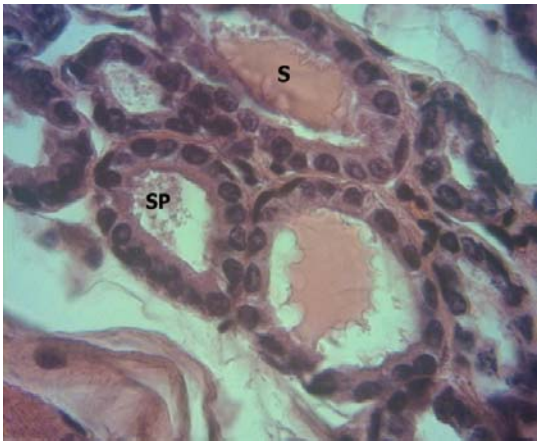
اندازه بیضه‌ها در بهار به علت افزایش اسپرماتوژنز، افزایش می‌یابد و در اوایل تابستان کمی کاهش را نشان می‌دهد و مجدداً در پاییز به علت افزایش مجدد اسپرماتوژنز افزایش کمی را نشان می‌دهد. بیشترین اندازه این اندکس در بهار و کمترین اندازه در تابستان بود.

اپیدیدیم: شامل لوله‌های کوچک و پیچ‌خورده است که در تمام طول خود توسط بافت پوششی شبه مطبق استوانه‌ای پوشیده می‌شود که شامل سلولهای استوانه‌ای ترشحی و سلولهای پایه می‌باشد. که سلولهای ترشحی در زمان فعالیت جنسی دارای ترشح هستند و طول آنها کشیده است. هسته قاعده‌ای دارند و در رأس آنها مقدار زیادی گرانولهای ترشحی اسیدوفیل دیده می‌شود (شکل۳).

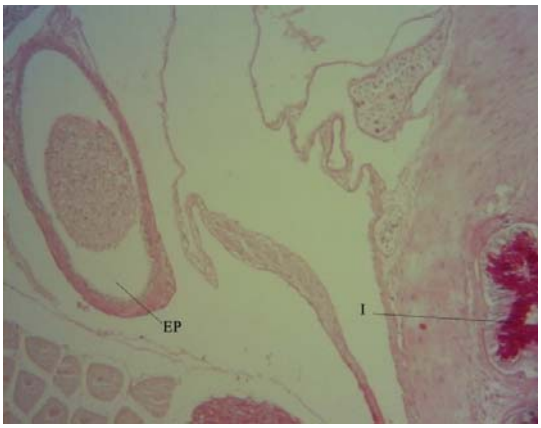


شکل ۳- فتومیکروگراف اپیدیدیم *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی. بافت پوششی شبه مطبق استوانه‌ای کاذب مژکدر است ولوله‌ها توسط اسپرم(S) پر می‌شود(HE-۲۵۰×)

در رأس سلولها، استروسیلیا (مژه ثابت) دیده می‌شود. در زمان فعالیت جنسی، بافت پوششی بیشترین حجم لوله اپیدیدیم را به خود اختصاص می‌دهد. سلولهای اصلی ترشحی بلند و استوانه‌ای با هسته قاعده‌ای و سیتوپلاسم رأسی مملو از گرانولهای ترشحی می‌باشند. واکنش این گرانولهای ترشحی به رنگ‌آمیزی PAS منفی است. (شکل۵)

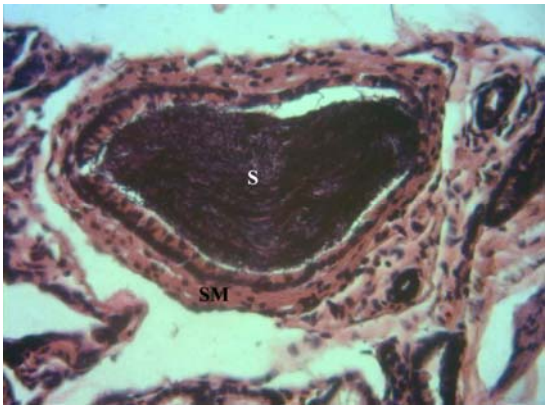


شکل ۴- فتومیکروگراف اپیدیدیم *A. elisae* در فاز استراحت جنسی. در این فاز بافت پوششی لوله توسط اپیتلیوم مکعبی ساده غیر مژه‌دار پوشیده می‌شود. برخی مقاطع حاوی ترشحات (SP) و برخی حاوی اسپرماتوزآ (S) می‌باشد (HE، ۲۵۰×).



شکل۵- فتومیکروگراف اپیدیدیم *A. elisae* در فصل فعالیت جنسی (بهار و پاییز). واکنش سلولهای بافت پوششی نسبت به رنگ‌آمیزی PAS منفی است. اپیدیدیم (EP)، روده (I). (PAS، ۴۰ ×).

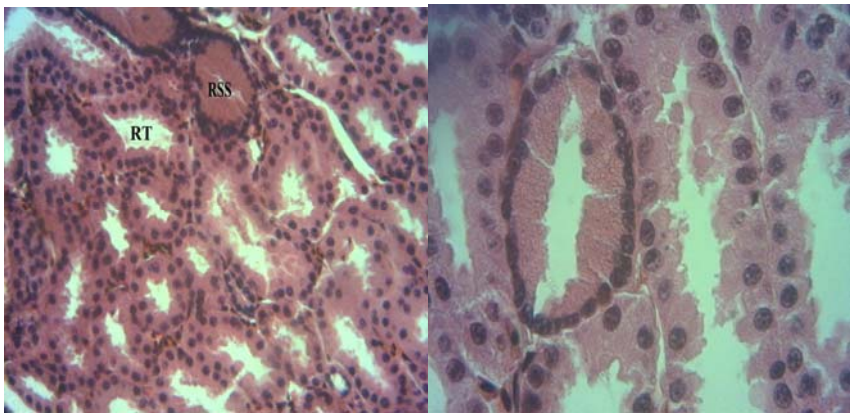
مجرای دفران: مجرای دفران لوله‌پیچ خورده‌ای است که اسپرم را از اپیدیدیم به سمت همی‌پنیس هدایت می‌کند. این لوله ماهیچه‌ای در *A. elisae* شامل بافت پوششی استوانه‌ای شبه مطبق است، ماهیچه مخاطی وجود ندارد و لایه پارین – زیر مخاط شامل بافت همبند نسبتاً متراکم می‌باشد. یک‌لایه ماهیچه صاف حلقوی تحت عنوان لایه ماهیچه‌ای در اطراف لومن قرار می‌گیرد و در انتها لایه سروزی قابل‌مشاهده است (شکل۶).



شکل۶- فتومیکروگراف مجرای دفران *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی. این لوله پیچیده توسط اسپرماتوزوآ پر می‌شود (S). مجرای دفران حاوی یک‌لایه ماهیچه صاف حلقوی (SM) است و لومن آن توسط بافت پوششی شبه مطبق استوانه‌ای مژه‌دار پوشیده می‌شود (HE، ۲۵۰×).

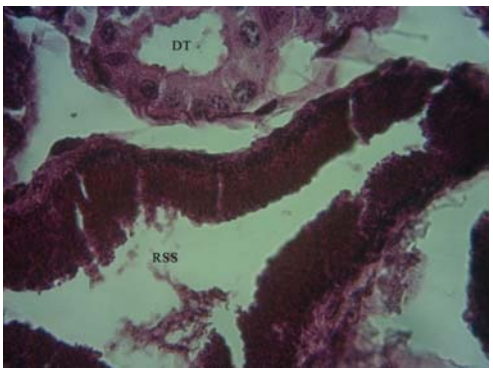
در فاز فعالیت جنسی(بهار و پاییز) و فاز فعالیت کم جنسی (تابستان)، تفاوتی در ساختار مجرای دفران مشاهده نشد و تنها تفاوت عدم حضور اسپرماتوزوآ در این مجرا در زمان فعالیت کم جنسی(تابستان)، بود.

کلیه: در کلیه *A. elisae* در زمان فعالیت جنسی علاوه برجسمک کلیوی، لوله‌های پیچ‌خورده نزدیک، لوله بینابینی، لوله‌های پیچ‌خورده دور ولوله‌های جمع کننده، قطعه جنسی کلیوی (RSS) نیز قابل‌مشاهده است. لوله‌های نفرونی عمدتاً دارای اپی تلیوم مکعبی با هسته‌های مرکزی هستند، درحالی‌که قطعه جنسی کلیه دارای سلولهای هیپروتروفی شده استوانه‌ای با هسته‌های قاعده‌ای و تعداد زیادی گرانول ترشحی اسیدوفیل رأسی می‌باشد، که در ناحیه مدولا قرار می‌گیرند (شکل۷). این گرانولهای ترشحی دارای واکنش مثبت به رنگ PAS می‌باشند (شکل۸).



A B

شکل۷- فتومیکروگراف کلیه *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی. A) در این مقطع لوله‌های کلیوی (RT) و قطعه جنسی (RSS) قابل‌مشاهده است (HE، ۱۰۰×). B) قطعه جنسی دارای اپیتلیوم استوانه‌ای بلند ساده است که در قسمت رأسی سلولها گرانولهای اسیدوفیل زیادی قابل‌مشاهده است (HE، ۲۵۰×).



شکل۸- فتومیکروگراف RSS در *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی. که نسبت به رنگ‌آمیزی PAS واکنش مثبت نشان می‌دهد. (RSS)، لوله دیستال کلیه (DT) (PAS، ۲۵۰ ×).

بحث و نتیجه‌گیری

نواحی قدامی و میانی اپیدیدیم در *A. elisae* همانند سایر خزندگان در آماده‌سازی و بلوغ اسپرمی نقش دارد و برای این منظور پروتئین‌هایی ترشح می‌کند که در مراحل بلوغ اسپرمی مؤثر هستند و همچنین گلیکوپروتئین‌هایی را ترشح می‌کند که در بلوغ فیزیولوژیکی اسپرم نقش دارند. در سایر خزندگان، نواحی قدامی، گلیکوپروتئین‌هایی که در بلوغ فیزیولوژیکی اسپرم شرکت دارند ترشح می‌کنند (۷،۶، ۲۴، ۲۵، ۲۶ و ۲۷). ناحیه خلفی همانند سایر خزندگان در ذخیره اسپرم نقش دارد (۱۶). در فصل فعالیت جنسی افزایش حجم قطعه جنسی کلیه (RSS) در *A. elisae* نشان‌دهنده دخالت آن در آمیزش، تولید منی و تغذیه اسپرم است. RSS همانند سایر خزندگان PAS مثبت بوده و ترشحاتی دارد که شامل فسفولیپیدها، پروتئین‌ها و آمینواسیدهایی است که به‌عنوان وابسته به آندروژن شناخته‌شده و ممکن است به‌عنوان منبع انرژی برای بقای اسپرم در اویداکت باشد. ماهیت ترشحات RSS فعال بصورت گسترده توسط Sever و همکارانش بررسی شده است. دیگر مطالعات نشان داده که گرانول‌های ترشحی رأس سلول‌های RSS ممکن است شامل یک کمپلکس از لیپیدها، گلیکوژن، موکوپلی ساکارید و موکوپروتئین باشد که این ترکیب ممکن است در طول فصل فعالیت تغییر کند (۲۲). در بهار و پاییز اندازه بیضه‌ها افزایش داشت که این نشان‌دهنده افزایش فعالیت اسپرماتوژنز است. همچنین در این دو فصل سلول‌های رده اسپرماتوژنز و اسپرماتید در لوله‌های سمینی فروس دیده شد. سوسمار *Sceloporus formosus* در مکزیک در بهار تولیدمثل می‌کند (۱۴). اگر درجه حرارت بالا و یک دوره نوری طولانی که مهمترین فاکتورهای محیطی در تولیدمثل هستند در نظر گرفته شوند پس سیکل‌های تولیدمثلی سوسمار در کشورهای گرمسیری کاملاً متنوع است. همچنین بارندگی می‌تواند به‌عنوان یک عامل مهم مطرح باشد (۱ و۱۵). سیکل تولیدمثل ایگوانای سبز نر از Pantanal برزیل که مجموعه‌ای از سازش‌های فیزیولوژیکی در محیط‌های غیرمعمول را منعکس می‌کند نشان داده است (۱۰). جفت‌گیری در فصل خشک و تخمگذاری در تابستان رخ می‌دهد بنابراین شرایط مناسب را برای تکوین جنین فراهم می‌کند (۲۰،۲،۱۲ و۲۱). در *A. elisae* در بهار و پاییز نواحی قدامی و میانی مجرای اپیدیدیم حاوی مقدار زیادی اسپرم بود. اما در تابستان اندازه بیضه‌ها کاهش‌یافته و فقط اسپرماتوگونی A وB در اپی‌تلیم ژرمینال وجود داشت که این نشان‌دهنده‌ی سرعت‌پایین تقسیم میتوز است. لوله‌های اپیدیدیم و دفران در تابستان از لوله‌های نفریدی غیرقابل تشخیص بود. فاز فعالیت جنسی *A. elisae* بهار و پاییز و فاز استراحت جنسی آن تابستان است و دوبار در سال (بهار و پاییز) تخم‌گذاری می‌کند. در نتیجه براساس ارتباط زمانی بین بلوغ گامت و دوره‌های آمیزش، در نر و ماده سیکل تولیدمثلی *A. elisae* بعنوان سیکل‌های پیش آمیزشی (وابسته) دسته‌بندی‌شده و الگوهای تخمک‌زایی و اسپرم-زایی به‌طورمعمول سیکل‌های تولیدمثل پیش آمیزش هستند.

منابع

۱- بهنیانفر، ر.، حجتی، و.، شیروی، ع.، و کشاورز، م.، ۱۳۹۵. بررسی چرخه اسپرماتوژنز سوسمار سبز خزری در استان مازندران، مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران)، شماره ۲، صفحات ۲۶۸-۲۷۹.

۲- آذرنیا، م.، قاسمیان، ف.، و بهادری، م.، ۱۳۹۳. ارتباط بین نوع اسپرم و مورفولوژی زایگوت‌های پیش‌هسته‌ای در چرخه‌های تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران)، شماره ۴، صفحات ۴۳۰-۴۳۷.

3- Akbarsha, M.A., and Meeran, M.M., 1995. Occurrence of ampulla in the ductus deferens of *Calotes versicolor* (Daudin), Journal of Morphology, 225, PP: 261-268.

4- Censky, E.J., 1995. Reproduction in two lesser antillean populations of Ameiva plei (Teiidae), Journal of Herpetology, 29, PP: 553-560.

5- Cogger, H.G., 2003. Reptiles in Biological Systematics, In 'Encyclopedia of Life Support Systems, (Eds. G Contrafatto and A Minelli). (Eolss Publishers: Oxford, UK).

6- Depeiges, A., and Dufaure, J.P., 1981. Major proteins secreted by the epididymis of *Lacerta vivipara.* Identification by electrophoresis of soluble proteins, Biochemica Biophysica Acta 667, PP: 206- 266.

7- Depeiges, A., and Dufaure, J.P., 1983. Binding to spermatozoa of a major soluble protein secreted by the epididymis of the lizard Lacerta uzuzparu. Gamete Research 4, PP: 401-406.

8- Diaz, J.A., Alonso-Gómez, A.L, and Delgado, M.J., 1994. Seasonal variation of gonadal development, sexual steroids, and lipid reserves in a population of the lizard *Psammodromus algirus*, Journal of Herpetology 28, PP: 199-205.

9- Dufaure, J.P, and Saint-Girons, H., 1984. Histologie comparée de l'epididyme et de ses secretions

10- Ferreira, A., Laura, I.A., and Dolder, H., 2002. Reproductive cycle of male green iguanas, *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria: Iguanidae), In the Pantanal Region of Brazil. Brazilian Journal of Morphological Sciences 19, PP: 23-28.

11- Ferreira, A., Silva, D.N., van Sluys, M., and Dolder, H., 2009. Seasonal changes in testicular and epididymal histology of the tropical lizard, *Tropidurus itambere* (Rodrigues,1987) ,during itsreproductive cycle.Brazilian journal of Biology 69, PP:429-435.

12- Fitch, H.S., 1970. Reproductive cycles of lizards and snakes.Misc, Publ. Univ. Kansas Mus. Nat. Hist. 52, PP: 1-127.

13- Goldberg, S.R., and Lowe, C.R., .1966. The reproductive cycle of the western whiptail lizard *Cnemidophorus tigris* in southern Arizona, Journal of Morphology 118, PP: 543-548.

14- Guillette, L.J., and Sullivan, W.P., 1985. The reproductive and fatbody cycles of the lizard, *Sceloporus formosus*, J. Herpetol.19, PP: 474-480.

15- Guillette, L.J., Jr, and Casas-Andreu, G., 1987. The reproductive biology of the high elevation Mexican lizard, *Barisiaim bricata*, Herpetologica 43, PP: 29-38.

16- Haider, S., and Rai, U., 1987. Epididymis of the Indian wall lizard *Hemidactylus flaviviridis* during the sexual cycle and in response to mammalian pituitary gonadotropins and testosterone, Journal of Morphology 191, PP: 151-160.

17- Han, D., Zhou, K., and Bauer, A.M., 2004. Phylogenetic relationships among gekkotan lizards inferred from c-mos nuclear DNA sequences and a new classification of the Gekkota. Biological Journal of the Linnean Society 83, PP: 353-368.

18- Huang, W.S., 1997. Reproductive cycle of the oviparious lizard *Japalura brevipes* (Agamidae: Reptilia) in Taiwan, Republic of China, Journal of Herpetology 31, PP: 22-29.

19- Ikeuchi, I., 2004. Male and female reproductive cycles of the Japanese gecko, *Gekko japonicus*, in Kyoto, Japan. Journal of Herpetology 38, PP: 269-274.

20- Jones, R.C., 2002. Evolution of the vertebrate epididymis, In 'The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice.' (Eds. B Robaire and BT Hinton) (Kluwer Academic/ Plenum Publishers: New York). PP: 11-33.

21- Klein, E.H., 1982. Reproduction of the green iguana (Iguanaiguana L) in the tropical dry forest of southern Honduras.Brenesia 19/20, PP: 301-310.

22- Krohmer, R.W., 2004. Variation in seasonal ultrastructure of sexual granules in the renal sexual segment of the northern water snake, *Nerodia sipedon sipedon*, Journal of Morphology, 261, PP: 70–80.

23- Lance, V.A., 1998. Reptilian reproductive cycles, In 'Encyclopedia of Reproduction, (Eds. E Knobil and J Neill) PP: 260-265. (Academic Press: New York).

24- Morel, L., Depeiges, A., and Dufaure, J.P., 1991. Molecular cloning and characterization of a cDNA encoding for the mature form of a specific androgen-dependent epididymal protein, Cellular and Molecular Biology 37, PP: 757-764.

25- Morel, L., Dufaure, J.P., and Depeiges, A., 1993, LESP, an androgenregulated lizard epididymal secretory protein family identified as a new member of the lipocalin superfamily. Journal of Biological Chemistry 268, PP: 10274-10281.

26- Morel, L., Dufaure, J.P., and Depeiges, A., 2000. The lipocalin sperm coating lizard epididymal secretory protein family: mRNA structural analysis and sequential expression during the

annual cycle of the lizard, Lacerta vivipara. Journal of Molecular Endocrinology 24, PP: 127-133.

27- Nirmal, B.K., and Rai, U., 1997. Epididymal influence on acquisition of sperm motility in the gekkonid lizard *Hemidactylus flaviviridis*, Archives of Andrology 39, PP: 105-110.

28- Nirmal, B.K., and Rai, U., 2000. Epididymal protein secretion and its androgenic control in wall lizard *Hemidactylus flaviviridis* (Rüppell), Indian Journal of Experimental Biology 38, PP: 720-726.

29- Noriega, T., Ibáñez, M.A., Bru, E., and Manes, M.E., 2002. The testicular cycle of the captive Tupimabis merianae lizards in temperate environment, Cuadernos de Herpetología 16, PP: 119-127.

30- Rheubert, J.L., McHugh, H.H., Collier, M.H., Sever, D.M., and Gribbins, K.M., 2009. Temporal germ cell development strategy during spermatogenesis within the testis of the Ground Skink, Scincella lateralis (Sauria: Scincidae). Theriogenology 72, PP: 54-61.

31- Rheubert, J.L., Siegel, D.S., Venable, K.J., Sever, D.M., and Gribbins, K.M., 2011. Ultrastructural description of spermiogenesis within the Mediterranean Gecko, *Hemidactylus turcicus* (Squamata: Gekkonidae). Micron 42, PP: 680-690.

32- Röll, B., and Von Düring, M.U., 2008. Sexual characteristics and spermatogenesis in males of the parthenogenetic gecko *Lepidodactylus lugubris* (Reptilia, Gekkonidae), Zoology 111, PP: 385-400.

33- Sever, D.M., and Hopkins, W.A., 2005. Renal Sexual Segment of the Ground Skink, *Scincella laterale* (Reptilia, Squamata, Scincidae), Journal of Morphology 266, PP: 46-59.

34- Sever, D.M., Steven, R.A., Ryan, T.J., and Hamlett, W.C., 2002. Ultrastructure of the reproductive system of the Black Swamp snake (*Seminatrix pygaea*), III.Sexual segment of the male kidney, Journal of morphology 252, PP: 238-254.

35- Shanbhag, B.A., 2003. Reproductive strategies in the lizard, *Calotes versicolor*, Current Science 84, PP: 646-652.

36- Shanbhag, B.A., and Prasad, B.S.K., 1993. Follicular dynamics and germinal bed activity during the annual ovarian cycle in the lizard, *Calotes versicolor* (Daud.), Journal of Morphology 215, PP: 1-7.

37- Vieira, G.H.C., Wiederhecker, H.C., Colli, G.R., and Báo, S.N., 2001. Spermiogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) in the Cerrado of central Brazil, Amphibia-Reptilia 22, PP: 217-233.

38- Wilhoft, D.C., 1963. Gonadal histology and seasonal changes in the tropical Australian lizard *Leiolopisma rhomboidalis*, Journal of Morphology 113, PP: 185-204.

39- Wilhoft, D.C., and Quay, W.B., 1961. Testicular histology and seasonal changes in the lizard, *Sceloporus occidentalis*, Journal of Morphology 108, PP: 95-106.

Morphological and histochemical study of reproductive system in Leaf-toed Gecko, *Asaccus elisae* (Werner, 1895) and its relationship to different seasons

Parto P.[1], Rastegar-pouyani N.[1], Khaleseh A.[1], Noori F.[1], Mir-Aghaee Sh.[2] and Khazaee N.[1]

[1] **Biology Dept., Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, I.R. of Iran**

[2] **Medical Biology Research Center, University of Medical Science, Kermanshah, I.R. of Iran**

Abstract

Annual reproductive cycle of 17 *Asaccus elisae* (Leaf-toed Gecko) was studied. Morphology and histochemistry of male genital system was surveyed in spring, summer and fall. After collecting geckoes, they were weighted and SVL (Snout-vent length) were measured. After opening abdominal cavity, the genital system was exposed. Then testicular weight was measured and Gonadosomatic Index was calculated. Then, the genital system was fixed in 10% buffer neutral formalin and routine process of histology was done. The slides were stained with H&E, PAS and PAS-Alcian blue. Results revealed that, testis is active in spring and fall with significant seminiferous tubules enlargement. The epididymis is filled with sperms and the sexual segments in kidney are visible and significant. For the moderate climate in west of Iran, the reproductive cycle of *A. elisae* is seasonal and it depends on the temperature.

Key words: histology, reproductive cycle, male *Asaccus elisae.*