

The Study of Monthly Changes in Spermatogenesis Process of Lizard *Laudakia nupta* Inhabiting Zagros Mountains

مطالعه تغییرات ماهیانه در فرایند اسپرماتوزنز سوسمار *Laudakia nupta* ساکن منطقه زاگرس

A. Gharzi^{1*}, N. Heydari²

1. Ph. D. Student, Department of Biology, Faculty of
Science, University of Lorestan, Khoram Abad,
Lorestan, Iran

2. M. Sc. Student, Department of Biology, Faculty of
Science, University of Lorestan, Khoram Abad,
Lorestan, Iran

(Received: May 28, 2013; Accepted: Sep. 14, 2014)

احمد قارزی^{۱*}، نسرین حیدری^۲

۱. دانشجوی دکترا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان،
خرم‌آباد

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم،

دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

(تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۷، تاریخ تصویب: ۹۳/۶/۲۳)

Abstract

In this survey anatomical and histological aspects of testes and seminiferous tubules during post-hibernation period in *Laudakia nupta* inhabiting the north of Lorestan province in Zagros Mountains were investigated. To execute this task male lizard's samples were collected from the study area during April to September for two consecutive years. In the laboratory gonads were removed and passed through fixation, dehydration, clearing, infiltration and embedding stages. By means of a rotary microtome serial sections were cut and stained by Haematoxylin-Eosin. Using light microscopy, quantitative and qualitative examinations were then performed on the sections. The results revealed that during April to September the diameter of seminiferous tubules and the thickness of germinal epithelium constantly decrease. In addition, during the April and May the germinal cells are undergoing the meiosis or maturing process but no spermatozoid is found in the tubules yet. During June and July, the spermatogenesis process reaches to its maximum peak and mature spermatozoa are constantly released into the tubules lumen. During August to September, the production of sperm ceases and the tubules begin a reduction process. In general, the results displayed that the type of spermatogenesis in this taxon is classified as associated and spermatogenic activity peaks when there are high temperatures and long photoperiod which coincides with June and July.

Keywords: Histology, Lizard, Reproductive cycle, Seasonal variations, Testis.

چکیده

در این بررسی، ویژگی‌های تشریحی و بافت‌شناسی بیضه و لوله‌های منی‌ساز در دوره پس از زمستان خوابی در سوسمار لوداکیا نوپتا ساکن شمال استان لرستان در رشته کوه زاگرس مورد تحقیق قرار گرفت. برای این منظور نمونه‌های سوسمار نر در طول ماه‌های فروردین تا شهریور برای مدت دو سال متوالی از منطقه مطالعاتی جمع‌آوری و در آزمایشگاه، غدد تناسلی از نمونه‌ها خارج و برای مطالعات بافت‌شناسی از مراحل تثبیت، آنگیری، شفاف‌سازی، آغشته‌سازی و قالب‌گیری عبور داده شدند. با کمک میکروتوم دوار برش‌های سریالی تهیه و با روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی گردیدند. مقاطع تهیه شده در نهایت بوسیله میکروسکوپ نوری مورد بررسی‌های کمی و کیفی قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد که در طول ماه‌های فروردین تا شهریور قطر لوله‌های منی‌ساز و ضخامت اپی‌تلیوم زایای این لوله‌ها کاهش پیدا می‌کند. به علاوه در فاصله ماه‌های فروردین تا اردیبهشت سلول‌های تناسلی در حال پشت سر گذراندن مرحله میوز یا بالغ شدن هستند و هنوز اسپرماتوزوئیدی در لوله‌ها مشاهده نمی‌شود. در طول ماه‌های خرداد و تیر اوج فعالیت اسپرماتوزونیک اتفاق می‌افتد و اسپرماتوزوئیدهای بالغ به داخل لومن لوله‌ها آزاد می‌شوند. در طی ماه‌های مرداد تا شهریور تولید اسپرم متوقف و روند کاهشی در لوله‌ها شروع می‌گردد. به طور کلی این تحقیق مشخص کرد که در این گونه اسپرماتوزنز از نوع وابسته بوده و اوج فعالیت اسپرماتوزونیک زمانی است که طول روزها بلند و درجه حرارت محیط بالا است و در منطقه مطالعاتی این اوج با ماه‌های خرداد و تیر مصادف می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: سوسمار، بیضه، بافت‌شناسی، چرخه تولیدمثل، تغییرات فصلی.

مقدمه

اسپرمتوزن در سوسماران یک پدیده پیچیده‌ای است و تغییرات ساختاری که در اپی‌تلیوم زایای غده جنسی (بیضه) در طی چرخه تولیدمثلی اتفاق می‌افتد به شدت تحت تأثیر شرایط محیطی، نظیر درجه حرارت و فتوپریود (Dominguez *et al.*, 2010; Goldberg, 2008) یا دسترسی به مواد غذایی و ذخایر چربی (Galdino *et al.*, 2003) قرار می‌گیرد. در نتیجه این تأثیرپذیری، سوسماران نر به طور کلی سه تیپ تولیدمثلی را به نمایش می‌گذارند: پیوسته (continuous)، گسسته یا غیروابسته (dissociated) و وابسته (associated) (Pough, 1998). چرخه تولیدمثلی پیوسته معمولاً در سوسماران ساکن مناطق گرمسیری است؛ جایی که در آنها اعمال جفت‌گیری و اسپرماتوزن تقریباً در سراسر سال اتفاق می‌افتد (Jenssen & Nunez, 1994). تیپ تولیدمثلی غیروابسته در سوسماران نواحی معتدل مشاهده می‌شود. در این گونه‌ها، فصل جفت‌گیری کوتاه بوده و اسپرم تا هنگام مناسب بودن زمان لقاح در مجاری تناسلی ماده یا نر ذخیره می‌گردد (Mendez *et al.*, 1998). در این تیپ، فرایندهای اسپرماتوزن و اووژن همزمان با هم اتفاق نمی‌افتد و لذا بین عمل جفت‌گیری و لقاح/ تخم‌گذاری یک فاصله زمانی چند ماهه یا حتی چندساله به وجود می‌آید (Yamamoto, 2006; Torki, 2007). در چرخه تولیدمثلی وابسته، از نظر زمانی بین وقایع جفت‌گیری و گامتوزن ارتباط تنگاتنگی وجود دارد. در این تیپ، اسپرماتوزن در نر و اووژن در ماده همزمان با هم صورت گرفته و بلافاصله بعد از جفت‌گیری لقاح انجام شده و سوسمار ماده، تخم‌های تلقیح یافته را در مکان مناسب آزاد می‌کند (Taylor, 2004). این الگو در گونه‌های ساکن محیط‌هایی با شرایط آب‌وهوایی معتدل و نواحی گرمسیری فصلی دیده می‌شود (Vieira *et al.*, 2001). در سوسماران مناطق معتدل با چرخه تولیدمثلی وابسته، بافت بیضه در طی سال یکسری تغییرات چرخه‌ای را پشت سر می‌گذارد که به آن چرخه بیضه‌ای (testicular cycle) گفته می‌شود. در این سوسماران این چرخه به دو فاز معین

تقسیم می‌گردد: فاز کاهشی یا تحلیل رونده (degenerative phase) که در بهار و تابستان رخ می‌دهد و با تولید پیوسته اسپرم مشخص می‌گردد و دیگری فاز ترمیمی (degenerative phase) یا احیاءکننده که در اواخر تابستان و با آغاز زمستان خوابی شروع می‌شود که در این فاز یک توقفی در تولید اسپرم مشاهده می‌گردد (Van Wyk, 1995; Castilla & Bauwens, 1990).

افزون بر عوامل بیرونی و درونی، پیشنهاد شده که فشارهای فیلوژنتیکی نیز می‌تواند در شکل‌دهی ویژگی‌های تولیدمثلی سوسماران نقش مهمی بازی کند (Dunham & Miles, 1985). اگر این موضوع صحت داشته باشد، می‌تواند برای مطالعه تغییرات چرخه تولیدمثلی گونه‌هایی که در داخل یک تبار گسترده و با پراکنش وسیع قرار می‌گیرند مفید باشد. جنس لوداکیا (Laudakia Gray, 1845) شامل ۲۰ گونه است (Baig *et al.*, 2012) که از یونان و مصر در غرب تا مغولستان و چین در شرق پراکندگی دارد. منشاء این جنس، آسیای مرکزی است (Rastegar-Pouyani, 1999). این جنس در کشور ایران با ۵ گونه معرفی می‌گردد (Rastegar-Pouyani & Nilsom, 2002). گونه آگامای صخره‌زی فلس درشت یا *Laudakia nupta* De Filippi, 1843) سوسمار نسبتاً بزرگی (طول پوزه تا انتهای دم ۵۰-۴۰ سانتی‌متر) است که از افغانستان و پاکستان به طرف ایران و شمال شرق و شرق عراق پراکنش دارد. گونه مذکور در ایران از پراکندگی وسیعی برخوردار است؛ به طوری که در تمام نواحی نیمه جنوبی کشور یافت می‌شود. این سوسمار در نواحی کوهستانی و در میان صخره‌های بزرگ آهکی، چینه‌های دارای شکاف‌های عمیق و اطراف محل سکونت انسان یافت می‌شود (Rastegar-Pouyani *et al.*, 2006). با وجود مطالعاتی که بر روی مورفولوژی، جغرافیای زیستی و اکولوژی این گونه صورت گرفته، اطلاعات اندکی در باره بیولوژی تولیدمثل این گونه انجام شده است. نظر به نزدیکی این گونه به جوامع انسانی، در این

نهایت در زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در این مرحله از هر مقطع بافتی تعداد ۵ لوله منی‌ساز به‌طور تصادفی انتخاب و با استفاده از گراتیکول مدرجی که بر روی عدسی چشمی میکروسکوپ نصب شده بود دو پارامتر ضخامت لایه زاینده و قطر لوله‌های منی‌ساز اندازه‌گیری شد. سپس اطلاعات کمی به دست آمده با استفاده از آزمون‌های آمار توصیفی، آنالیز واریانس و تفکیک توابع متعارف Canonical Discriminant Functions Analysis (DFA) یا (Tokarz *et al.*, 1998). همزمان با بررسی‌های کمی، مطالعات کیفی شامل ویژگی کلی بافت بیضه، لوله‌های منی‌ساز، سلول‌های اسپرمانوژنیک دیواره لوله‌ها و حضور یا فقدان اسپرمانوژنید در لومن لوله‌های منی‌ساز نیز روی مقاطع تهیه شده انجام گرفت.

نتایج

ساختار تشریحی دستگاه تناسلی سوسمار نر
دستگاه تناسلی نر در گونه لوداکیا نوپتا شامل یک جفت بیضه شیری رنگ و بیضوی، (شکل ۱A)، یک جفت اسپرمیدوکت (شکل ۱B) و یک جفت همی‌پنیس (شکل ۱C) می‌باشد. در مشاهدات صورت گرفته، بیضه سمت چپ، بالاتر از بیضه سمت راست قرار دارد. بیضه در نمونه‌های جوان خیلی کوچک و در نمونه‌های بالغ در فصول مختلف حجم آن متفاوت می‌باشد. هر بیضه به‌طور جداگانه به وسیله اسپرمیداکت به ناحیه کلواک راه می‌یابد و در آنجا به همی‌پنیس متصل می‌شود. در لوداکیا نوپتا، همی‌پنیس سیاه رنگ و به صورت یک بافت اسفنجی دیده می‌شود. انتهای همی‌پنیس حالت غنچه‌ای شکفته متشکل از دو نیمه می‌باشد. همی‌پنیس نیز مانند بیضه در طول فعالیت زیستی، تغییراتی را نشان می‌دهد به طوری که در اوایل بهار براحتی قابل بیرون آورده شدن بوده، در حالی که در اواخر تابستان انجام این امر دشوار می‌باشد.

مطالعه بر مبنای مطالعات بافت‌شناسی و میکروسکوپی به این جنبه از زیست‌شناسی گونه لوداکیا نوپتا پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

در طی یک دوره دو ساله و در هر سال در دو فصل و ۶ ماه مختلف (فروردین تا شهریور) تعداد ۲۱ نمونه از سوسمار لوداکیا نوپتای بالغ (با توجه به طول نوک پوزه تا مخرج ۱۶۸ میلی‌متر در بالغین) از اطراف شهرستان نورآباد جمع‌آوری گردیدند. نمونه‌ها با استفاده از تفنگ بادی کالیبر ۴/۵ یا با تعقیب و گرفتن با دست شکار می‌شدند. دلیل عدم تداوم نمونه‌گیری در سایر ماه‌های سال، شروع خواب زمستانی گونه مذکور و عدم دسترسی به آن است. تعداد نمونه‌های گرفته شده در هر بار مراجعه به منطقه مطالعاتی ۳-۵ نمونه بود. نمونه‌های گرفته شده برای تثبیت شدن بلافاصله به ظروف پلاستیکی محتوی فرمالین ۱۰٪ وارد و سپس به آزمایشگاه منتقل گردیدند. در آزمایشگاه، بیضه‌ها از بدن خارج و بعد از زدودن بافت‌های اطراف برای به دست آوردن حجم بیضه در زیر لوپ و با کمک یک کولیس دیجیتالی طول (قطر بزرگ) و ارتفاع بیضه (قطر کوچک) (با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد تا متعاقباً بر اساس فرمول زیر، حجم بیضه به دست آید:

$$V = \frac{4}{3} \pi a^2 b$$

در این فرمول، V: حجم بیضه، a: نصف ارتفاع و b: نصف طول بیضه می‌باشد (Vieira *et al.*, 2001).

پس از انجام مطالعات مورفومتریک برای بررسی‌های میکروسکوپی با توجه به حجم کوچک، بیضه‌ها به طور کامل از مراحل مختلف پاساژ بافتی، آغشتگی با پارافین و قالب‌گیری عبور داده شدند. از قالب‌ها مقاطع بافتی با ضخامت ۵-۷ میکرومتر به صورت سریالی تهیه گردید و با هماتوکسیلین-اوتوزین رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع بافتی آماده شده در

بررسی تغییرات حجم بیضه

پس از تشریح و بیرون آوردن بیضه، حجم آن با استفاده از فرمول $V=4/3 \pi a^2b$ و بر حسب میلی‌متر مکعب، محاسبه و سپس تغییرات آن در طول فعالیت زیستی گونه از فروردین تا شهریور مشخص شد (نمودار ۱). همان‌طور که در نمودار مشخص است

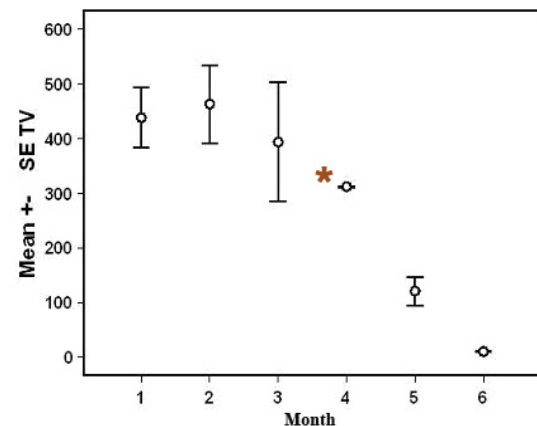
متوسط حجم بیضه (TV) در ابتدای فصل بهار حدود ۴۵۰ میلی‌متر مکعب می‌باشد، ولی این پارامتر در طول فصل بهار و تابستان کاهش بسیار شدیدی پیدا می‌کند؛ به طوری که در اواخر فصل تابستان که تقریباً مصادف با پایان فعالیت زیستی سالیانه این سوسمار است، بیضه غیرقابل مشاهده می‌گردد.



شکل ۱. بخش‌های مختلف دستگاه تناسلی در جنس نر سوسمار لوداکیا نوپتا. نمای ظاهری بیضه (فلش) به همراه لوله اسپرمیدوکت (A)، تصویری با بزرگنمایی بالاتر از اسپرمیدوکت (B) که چین خوردگی‌های متعدد آن را نشان می‌دهد. (C) مورفولوژی همی‌پنیس

است مورد اندازه‌گیری و تحلیل واقع شد. برای انجام این اندازه‌گیری‌ها، از هر برش بافتی تعداد ۵ لوله منی‌ساز که به صورت کاملاً عرضی برش خورده بودند به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از گراتیکول مدرج این پارامترها اندازه‌گیری شدند (جدول ۱). این اندازه‌گیری‌ها نشان داد که متوسط قطر لوله‌ها (TD) و ضخامت لایه زاینده (GS) در فاصله ابتدا تا اواخر فعالیت زیستی این گونه کاهش بارزی را نشان می‌دهد به گونه‌ای که در فروردین ماه متوسط TD و GS به ترتیب ۸۵/۵۵ و ۱۴/۹۳ میکرومتر بود، ولی این اعداد در انتهای شهریور ماه به ۲۸/۰۷ و ۱/۷۱ رسیده بود. شمارش تعداد ردیف سلول‌های موجود در ضخامت لایه زاینده لوله‌ها مشخص کرد که در ابتدای بهار، لایه زاینده لوله‌ها متشکل از چند ردیف (۱۲-۱۴) سلول‌های اسپرماتوژنیک است که بتدریج در طی اواخر فصل بهار و تابستان کاهش پیدا کرده و در انتهای تابستان فقط به دو لایه محدود می‌شود (نمودار ۲).

برای بررسی وجود یا عدم اختلافات معنی‌دار در این دو فاکتور در طی ماه‌های سال از آنالیز تفکیک توابع متعارف یا DFA استفاده نمودیم. هدف از اجرای



نمودار ۱. تغییرات حجم بیضه (با میانگین خطای استاندارد) در طول فعالیت زیستی گونه لوداکیا نوپتا. همان طوری که مشاهده می‌شود حجم بیضه در تابستان کاهش یافته است. اعداد محور X ماه‌های سال و، شماره‌های ۱ الی ۶، برابر با فروردین الی شهریور می‌باشد (علامت ستاره سطح معنی‌داری تغییرات را نشان می‌دهد).

تغییرات بافتی غدد جنسی

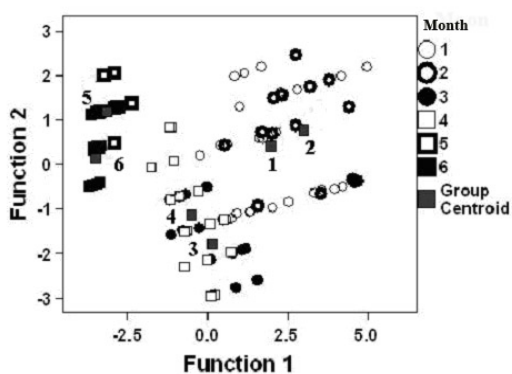
برای بررسی تغییرات میکروسکوپی بیضه و در نهایت تحلیل فرآیند اسپرماتوژنز در این گونه، دو روش کمی و کیفی مد نظر قرار گرفت. در روش کمی دو مولفه قطر لوله‌های منی‌ساز (TD) و ضخامت دیواره لوله‌ها (GS) یا لایه زاینده که متشکل از سلول‌های اسپرماتوژنیک

زاینده) به شرح زیر مشاهده نمود (نمودار ۳). فاز اول (برابر با ماه‌های فروردین و اردیبهشت)، فاز دوم (مطابق با ماه‌های خرداد و تیر) و فاز سوم (مصادف با ماه‌های مرداد و شهریور).

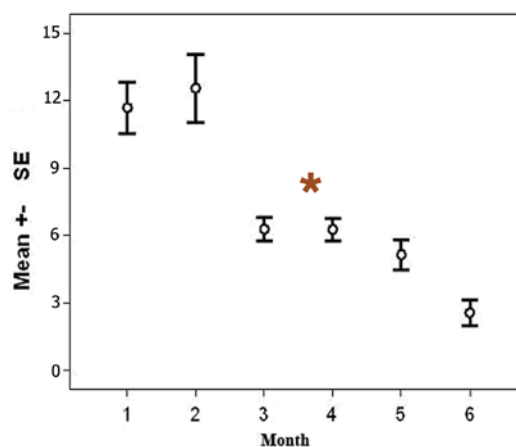
این تست، همگن نمودن داده‌های به دست آمده دو صفت مورد مطالعه بود. در نتیجه این همگنی داده‌ها می‌توان سه فاز معنادار ($P < 0.01$) را در فاکتورهای مؤثر در اسپرمانوتوز (قطر لوله‌ها و ضخامت لایه

جدول ۱. آمار توصیفی قطر لوله‌های منی‌ساز (TD) و قطر لایه زاینده (GS) در ماه‌های مختلف فعالیت زیستی گونه لوداکیا نوپتا. ارزش این دو مؤلفه از فروردین تا شهریور ماه کاهش بارزی را نشان می‌دهد.

Month		TD (µm)	GS (µm)
1	N	20	29
	Mean	85.55	14.93
	Std. Error of Mean	5.166	0.379
2	N	16	16
	Mean	109.81	15.93
	Std. Error of Mean	5.247	0.507
3	N	15	15
	Mean	54.47	10.00
	Std. Error of Mean	3.434	0.175
4	N	16	16
	Mean	48.44	8.99
	Std. Error of Mean	2.195	0.164
5	N	16	16
	Mean	29.31	3.94
	Std. Error of Mean	0.463	0.223
6	N	14	14
	Mean	28.07	1.71
	Std. Error of Mean	0.917	0.194
Total		106	106



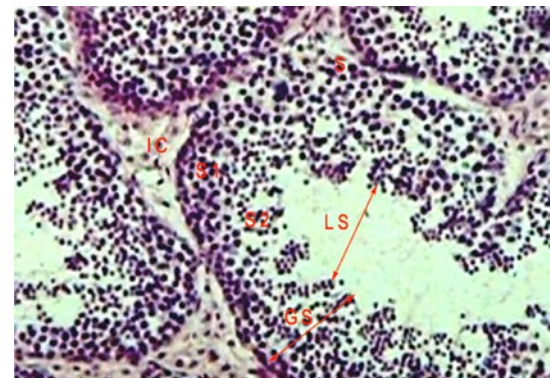
نمودار ۳. تعیین فازهای اسپرمانوتوز در گونه لوداکیا نوپتا. برای به دست آوردن فازهای اسپرمانوتوز آنالیز FDA اجرا شد. همان طور که مشاهده می‌شود، سه فاز جدا شده، شامل: فاز اول فروردین-اردیبهشت، فاز دوم: خرداد-تیر، فاز سوم: مرداد - شهریور Group Centroid. ماه‌های سال می‌باشند که از فروردین تا شهریور نشان داده شده است. اعداد داخل نمودار، ماه‌های سال را نشان داده و به ترتیب از شماره‌های ۱ تا ۶ از فروردین تا شهریور می‌باشد.



نمودار ۲. میانگین و خطای استاندارد، تعداد لایه‌های اسپرمانوتوسیت اولیه در هر ماه در لوداکیا نوپتا. همان طور که مشاهده می‌شود از ماه فروردین به طرف شهریور، سیر کاهش را نشان می‌دهد. ماه‌های سال به ترتیب شماره از فروردین (۱) به شهریور (۶) می‌باشد. (علامت ستاره، سطح معنی‌داری تغییرات را نشان می‌دهد).

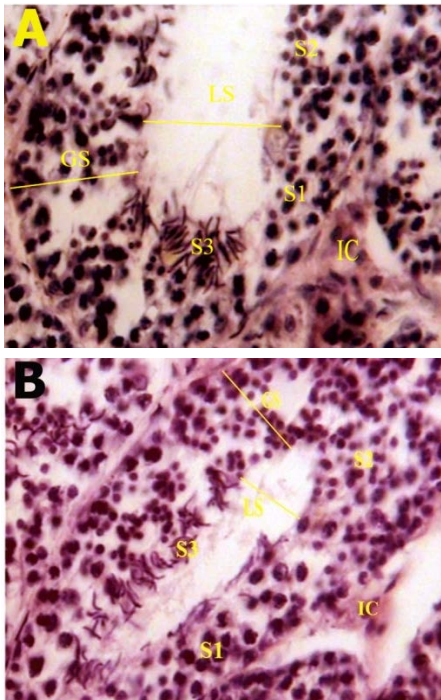
تغییرات کیفی بافت بیضه

فاز اول: برش‌های تهیه شده از لوله‌های منی‌ساز در فروردین و اردیبهشت، ویژگی‌های نسبتاً یکسانی را نشان دادند (شکل ۲). در این زمان اسپرماتوگونی‌ها در حاشیه لایه زاینده این لوله‌ها به صورت سلول‌هایی با هسته‌های بزرگ آبی تیره مشاهده می‌شوند. پس از اسپرماتوگونی‌ها، به طرف داخل، اسپرماتوسیت‌های اولیه وجود دارند که هسته‌های آنها از اسپرماتوگونی‌ها کوچک‌تر می‌باشد. تعداد لایه‌های اسپرماتوسیت اولیه در این فصل به ۵ لایه می‌رسد. نزدیک به لومن لوله‌ها، اسپرماتوسیت‌های ثانویه قرار دارند و پس از آنها لومن توخالی لوله منی‌ساز دیده می‌شود. در این فاز هیچ‌گونه اسپرماتید و اسپرماتوزوئیدی قابل مشاهده نمی‌باشد.



شکل ۲. ساختار لوله‌های اسپرم‌ساز لوداکیا نوپتا در فاز غیرفعال برابر با ماه اردیبهشت. اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه مشاهده می‌شوند. اما اسپرماتیدها یا اسپرماتوزوئیدها مشاهده نمی‌شوند. S: اسپرماتوگونی، S1: اسپرماتوسیت اولیه، S2: اسپرماتوسیت ثانویه، GS: لایه زاینده لوله اسپرم‌ساز، LS: لومن لوله اسپرم‌ساز، IC: بافت همبند بین لوله‌های اسپرم‌ساز. بزرگنمایی: $\times 400$. رنگ‌آمیزی: H&E.

قرار می‌گیرند. در این فاز نیز اسپرماتوزوئیدها در داخل لومن لوله اسپرم‌ساز به حالت رشته‌ای دیده می‌شوند (شکل ۳). در این فاز نسبت به فاز قبلی از تعداد لایه‌های سلولی در لایه زاینده دیواره لوله‌ها کاسته شده است.

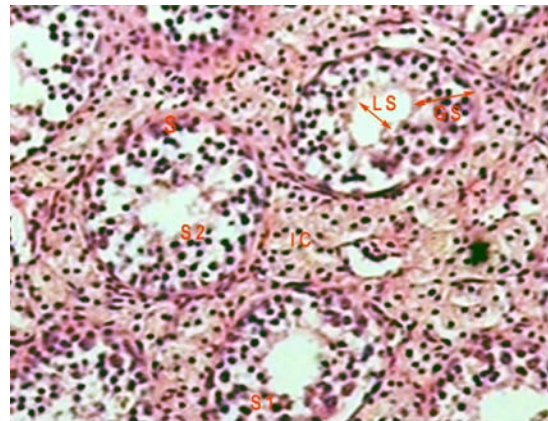


شکل ۳. ساختار لوله‌های اسپرم‌ساز لوداکیا نوپتا در فاز فعال برابر با ماه‌های خرداد (A) و تیر (B). همان طوری که مشاهده می‌گردد، اسپرماتوزوئیدها به صورت خوشه‌هایی در دهانه لومن قرار گرفته‌اند. S1: اسپرماتوسیت اولیه، S2: اسپرماتوسیت ثانویه، S3: اسپرماتوزوئیدها، GS: لایه زاینده لوله اسپرم‌ساز، LS: لومن لوله اسپرم‌ساز، IC=ICT: بافت همبند بین لوله‌های اسپرم‌ساز. بزرگنمایی: $\times 400$. رنگ‌آمیزی: H&E.

فاز سوم: در ماه‌های مرداد و شهریور قطر لایه زاینده لوله‌های منی‌ساز به شدت کاهش می‌یابد (شکل ۴). در این فاز اسپرماتوگونی‌ها در حاشیه بیرونی لوله‌ها قابل تشخیص هستند، ولی اسپرماتوسیت‌ها قابل شناسایی نیستند. همچنین در این فاز در لومن لوله‌ها اسپرماتید و اسپرماتوزوئیدها دیده نمی‌شوند. در این زمان بافت همبند بینابین لوله‌ها نسبت به فازهای قبلی ضخیم‌تر بوده و در مقایسه با لوله‌ها حجم زیادی از توده بافت بیضه را به خود اختصاص می‌دهد.

فاز دوم: در مقاطع تهیه شده از لوله‌های اسپرم‌ساز در ماه‌های خرداد و تیر نسل‌های مختلف سلول‌های اسپرماتوژنیک شامل اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه در دیواره لوله‌ها قابل شناسایی هستند. علاوه بر این، در این فاز پس از اسپرماتوسیت‌های ثانویه، اسپرماتیدها نیز وجود دارند. اسپرماتیدها حالتی کشیده داشته و نزدیک به لومن

تمایز سلول‌های تناسلی (اسپرمیوتوز) و جدا شدن اسپرماتوزوئیدها (اسپرمیشن) شروع نشده است. در فاز دوم که با ماه‌های گرم خرداد- تیر مطابقت می‌کند، وقایع اسپرمیوتوز و اسپرمیشن کلید خورده و اسپرماتوزوئیدهای بالغ از این پس به لومن لوله‌های منی‌ساز آزاد می‌گردند. گواه این ادعا وجود جمعیت فراوانی از اسپرماتوزوئیدها است که در مقاطع بافتی تهیه شده از بیضه دیده می‌شود (شکل ۳). بر طبق نظر اکثر محققین در مورد سوسمارانی که در مناطق معتدل زندگی می‌کنند حداکثر فعالیت اسپرماتوزونیک بیضه در تابستان اتفاق می‌افتد (Ferreira *et al.*, 2002). در این سوسماران، فعالیت اسپرماتوزونیک، موقعی به اوج خود می‌رسد که درجه حرارت بالا و طول روز نیز بلند می‌باشد. در بعضی گونه‌ها وقایع اسپرماتوزونز و اسپرمیشن زمانی به طور طبیعی کلید می‌خورد که علاوه بر بلند بودن طول روز، دمای محیط به بالاتر از ۳۰ درجه سانتیگراد برسد (Van Sluys *et al.*, 2010). عقیده بر این است که این شرایط برای تحریک تکثیر سلول‌های زایا و اسپرمیشن ضروری است. این موضوع به طور تجربی در مورد مارمولک *Anolis carolinensis* نشان داده شده است. در آزمایشگاه و با قرار دادن این سوسمار در شرایط گرم، طول فصل تولیدمثلی حیوان زیاد شده و توانسته تا حدود ۶ ماه ادامه داشته باشد (Semham *et al.*, 2013). با توجه به موارد مذکور به نظر می‌رسد وقایع اسپرمیوتوز و اسپرمیشن نیز در گونه مورد مطالعه بشدت تحت تأثیر طول روز و دما است؛ چرا که منطقه مطالعاتی (نورآباد لرستان) جزو مناطق سردسیر است و تا قبل از ماه خرداد دمای محیط به ندرت به بالاتر از ۳۰ درجه می‌رسد. همچنین به دلیل کوتاه‌تر بودن فصل تابستان در این ناحیه، ماه‌های خرداد- تیر جزو گرمترین ماه‌های این منطقه به‌شمار می‌رود و سوسمار مذکور در این ایام اوج فعالیت تولیدمثلی خود را بروز می‌دهد. فاز فعال تولید اسپرماتوزوئید تا آنجا ادامه پیدا می‌کند که تمام سلول‌های اسپرماتوسیتی که طی فاز قبلی ایجاد شده بودند مراحل تمایز خود را پشت سر گذاشته و به



شکل ۴. لوله‌های اسپرم‌ساز لوداکیا نوپتا در فاز غیرفعال برابر با ماه مرداد. اندازه لایه زاینده کاهش یافته است. در این زمان اسپرماتوسیت یا اسپرماتوزوئیدی مشاهده نمی‌شود. GS: لایه زاینده لوله اسپرم‌ساز، LS: لومن لوله اسپرم‌ساز، IC=ICT: بافت همبند بین لوله‌های اسپرم‌ساز. بزرگمایی ۴۰۰×. رنگ آمیزی: H&E.

بحث

علاوه بر تحقیقات متعددی که روی چرخه تولیدمثلی مطالعات سوسماران در سایر مناطق دنیا صورت گرفته (Ikeuchi, 2004; Ferreira *et al.*, 2002; Gaitonde & Gouder, 1985)، مطالعات چندی روی بیولوژی تولیدمثل تعدادی از گونه‌های ساکن ایران انجام شده است (Torki, 2007; Hojati *et al.*, 2013; Rastegar Pouyani *et al.*, 2009). نتایج به دست آمده از این مطالعات نشان داده است که تیپ تولیدمثلی سوسماران ساکن ایران از نوع پیوسته نبوده بلکه به صورت فصلی است. بنابراین، از این نظر نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج تحقیقات پیشین مطابقت و هماهنگی دارد. مطالعه حاضر همچنین مشخص کرد که پس از پایان دوره زمستان خوابی و در طول فعالیت زیستی گونه لوداکیا نوپتا سه فاز مشخص در بافت غده جنسی قابل تشخیص است. فاز اول که مصادف با ماه‌های معتدل بهار است و زمانی است که در آن سلول‌های زایای دیواره لوله‌های منی‌ساز در گذراندن مرحله رشد و بالغ شدن (تقسیم میوز) هستند؛ چرا که در این مرحله در دیواره لوله‌ها، سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه قابل شناسایی هستند. در این فاز هنوز مرحله

در زیستگاه مشترک زودتر به اوج فعالیت اسپرماتوزون می‌رسد (Torki & Gharzi, 2008).

بر طبق یک عقیده عام به طور کلی بافت بیضه سالیانه یک چرخه بیضه‌ای دو مرحله‌ای را پشت سر می‌گذارند (Castilla & Bauwens, 1990; Viera *et al.*, 2001): (a) مرحله ترمیمی یا شیب مثبت که در آن سلول‌های اسپرماتوگونی تکثیر پیدا کرده و زاده‌های آنها نسل آینده سلول‌های اسپرماتوزوئید را در فصل گرم پیش رو تأمین می‌کنند. این مرحله در سوسماران مناطق معتدل در طول زمان زمستان خوابی اتفاق می‌افتد، (b) مرحله تحلیل رونده یا شیب منفی که با بیرون آمدن سوسمار از خواب زمستانی شروع شده و تا شروع زمستان خوابی بعدی ادامه می‌یابد. در این مرحله سلول‌های اسپرماتوژنیک حاصله از مرحله قبلی، مراحل بلوغ و تکامل خود را تکمیل کرده و به صورت اسپرماتوزوئیدهای بالغ تولید و آزاد می‌گردند. با توجه به نتایج این تحقیق، به نظر می‌رسد مرحله ترمیمی بافت بیضه در سوسمار لوداکیا نوپتا ساکن نورآباد از اواسط پاییز شروع و تا اواخر فصل زمستان ادامه می‌یابد. بر این اساس مرحله شیب منفی در این سوسمار، فصول بهار و تابستان را در برمی‌گیرد که این با نتایج به دست آمده از سوسمار *Laudakia caucasia* مطابقت دارد (Bahar-Ara *et al.*, 2012; Heidari *et al.*, 2012).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که سوسمار نر لوداکیانوپتا به دلیل برخوردار بودن از جثه نسبتاً بزرگ در مقایسه با گونه‌های با جثه کوچک‌تر موجود در زیستگاه مشترک، دیرتر به اوج فعالیت اسپرماتوژنیک خود می‌رسد؛ به طوری که برخلاف گونه‌های کوچک‌تر که در حدود ماه اردیبهشت به اوج فعالیت تولیدمثلی خود می‌رسند، این گونه، این اوج را در خرداد و تیرماه بروز می‌دهد.

اسپرماتوزوئید بالغ تبدیل شوند و در این هنگام است که فاز سوم که فاز کاهشی است شروع می‌گردد. در طی فاز سوم که در گونه لوداکیا نوپتا با ماه‌های مرداد-شهریور مصادف می‌گردد، لومن لوله‌های منی‌سار خالی از اسپرماتوزوئید بوده و دیواره لوله‌ها منحصراً از سلول‌های اسپرماتوگونی به همراه سلول‌های سرتولی تشکیل می‌گردد. در این فاز، سلول‌های باقیمانده اخیر به تدریج متراکم شده و احتمالاً به واسطه فشار تحمیل شده از جانب میوسیت‌های پیرامونی قطر لوله‌های منی‌ساز کاهش پیدا کرده و در نهایت لومن لوله‌ها نیز محو می‌گردد. در این فاز به تدریج بافت بینابنی جزء غالب بافت بیضه را تشکیل می‌دهد.

وجود این سه فاز در چرخه فعالیت تولیدمثلی سایر سوسماران ساکن فلات ایران کم و بیش نشان داده شده است. تحقیقاتی که بر روی سوسمار *Cyrtopodion caspium* ساکن استان مازندران صورت گرفته اوج فعالیت تولیدمثلی را در اردیبهشت و خرداد نشان داده است (Hojati *et al.*, 2013). همچنین در مطالعه‌ای که در گونه دیگری از جنس لوداکیا به نام *Laudakia caucasia* ساکن شهرستان مشهد در شمال شرق ایران صورت گرفته مشخص شده که اوج تولید اسپرم در این گونه، اواخر خرداد ماه می‌باشد (Bahar-Ara *et al.*, 2012). به علاوه، گزارش شده که همین گونه در منطقه مطالعاتی همچون گونه لوداکیا نوپتا در خرداد ماه اوج فعالیت اسپرماتوژنیک خود را بروز می‌دهد (Heidari *et al.*, 2012). پیشنهاد شده که یک ارتباطی بین زمان اوج فعالیت اسپرماتوژنیک و جثه سوسماران وجود دارد، به این ترتیب که گونه‌های سوسماری که از جثه کوچک‌تری برخوردارند نسبت به گونه‌های سوسمار بزرگتری که در یک محیط زندگی می‌کنند اوج فعالیت اسپرماتوژنیک خود را زودتر شروع می‌کنند (Torki & Gharzi, 2008). در اثبات این موضوع نشان داده شده که گونه *Trapelus lessonae* که جثه کوچکی دارد نسبت به گونه بزرگتر *Ophisops elegans*

REFERENCES

- Bahar-Ara, J.; Mahdavi-Shari, N.; Nemati, A.; (2012) Shahraki-Nasab Study of Spermatogenesis and Testes Histology of *Laudakia caucasia* (Stellio caucasicus: Agamidae) Species in Deh Gheibi Zone of Mashhad. *Journal of Cell and Tissue*. 2(3); 193-201 [in Persian].
- Baig, KJ.; Wagner, P.; Ananjeva, NB.; Bohme, W.; (2012) A morphology-based taxonomic revision of *Laudakia* Gray, 1845 (Squamata: Agamidae). *Vertebrate Zoology*, 62(2): 213-260.
- Castilla, AM.; Bauwens, D.; (1990) Reproductive and fat body cycles of the lizard, *Lacerta lepida*, in central Spain. *Journal of Herpetology*, 24: 261-266.
- Dominguez, M.; Sanz, A.; Chavez, J.; Almaguer, N.; (2010) Cyclical Reproduction in Females of the Cuban Lizard *Anolis lucius* (Polychrotidae). *Herpetologica*, 66(4); 443-450.
- Dunham, AE.; Miles, DB.; (1985) Patterns of covariation in life history traits of squamate reptiles: the effects of size and phylogeny reconsidered. *American Naturalist*, 126: 231-257.
- Ferreira, A.; Laura, IA.; Dolder, H.; (2002) Reproductive cycle of male green Iguanas, *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria), in the pantanal region of Brazil. *Brazilian Journal of morphological Science*, 19(1): 23-28.
- Gaitonde, SG.; Gouder, BYM.; (1985) Spermatogenic and steroidogenic activity in the testis of the lizard, *Calotes versicolor*, treated with mammalian gonodotropins and testosterone. *Boll Zoology*, 52: 393-405.
- Galdino, CAB.; Assis, VBA.; Kiefer, MC.; Van Sluys, M.; (2003) Reproduction and fat body cycle of *Eurolophosaurus nanuzae* (Sauria: Tropicuridae) from a seasonal montane habitat of southeastern Brazil. *J Herpetol*, 37: 667-694.
- Goldberg, SR.; (2008) Reproductive cycle of the western three-striped skink, *Trachylepis occidentalis* (Squamata: Scincidae), from southern Africa. *Salamandra*, 44(2); 123-126.
- Heidari, N.; Gharzi, A.; Abbasi, M.; (2012) Study of spermatogenesis process in *Laudakia caucasia*. *Science*, 10(3): 1-10 [in Persian].
- Hojati, V.; Parivar, K.; Rastegar-Pouyani, E.; Shiravi, A.; (2013) Observations on the spermatogenic cycle of the Caspian bent-toed Gecko, *Cyrtopodion Caspium* in Iran (Sauria, Gekkonidae). *Zoology in the Middle East*, 59(1): 20-29.
- Ikeuchi, I.; (2004) Male and Female Reproductive Cycles of the Japanese Gecko, *Gekko japonicus*, in Kyoto, Japan. *Journal of Herpetology*, 38(2): 269-274.
- Jenssen, TA.; Nunez, SC.; (1994) Male and female reproductive cycles of the Jamaican lizard, *Anolis opalinus*. *Copeia*, 767-780.
- Mendez de la Cruz, F.; Guillette, LJ.; Villagran, Santa.; Cruz, M.; Casas-Andreu, G.; (1998) Reproductive and fat body cycles of the viviparous lizard, *Sceloporus mucronatus* (Sauria, Iguanidae). *Journal of Herpetology*, 22: 1-12.
- Pough, FH.; Andrew, RM.; Cadle, JE.; Crump, ML.; Savitzky, AH.; Wells, KD.; (1998) *Herpetology*. Upper Saddle River, New Jersey, Prentice Hall.
- Rastegar-Pouyani, N.; (1999) Systematic and Biogeography of Iranian plateau Agamids (Reptilia: Agamidae). Ph.D. thesis, Goteborg University.
- Rastegar-Pouyani, N.; Amini, A.; Toriki, F.; (2009) Spermatogenesis timing durability in lizards: *Ophisops elegans* (Sauria: Lacertidae) in Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics (IJAB)*, 5(1): 25-32.
- Rastegar-Pouyani, N.; Johari, SM.; Parsa, H.; (2006) Field guide to the Reptiles of Iran (volume 1: Lizards). Razi University Press, Kermanshah, [In Persian].
- Rastegar-Pouyani, N.; Nilsson, G.; (2002)

- Taxonomy and biogeography of The Iranian species of *Laudakia* (Sauria, Agamidae). *Zoology in the Middle East*, 26: 93-122.
- Semham, RV.; Halloy, M.; Abdala, CS.; (2013) Diet and Reproductive States in a High Altitude Neotropical Lizard, *Liolaemus crepuscularis* (Iguania: Liolaemidae). *South American Journal of Herpetology*, 8(2): 102-108
- Taylor, EJ.; (2004) Reproduction in sympatric lizards: comparison of two species of *Ctenotus* (Scincidae) in south-eastern Australia. *Australian Journal of Zoology*, 52: 649-666.
- Tokarz, RR.; McMann, S.; Seitz, L.; John-Alder, (1998) Plasma corticosterone and testosterone levels during the annual reproductive cycle of male brown anoles (*Anolis sagrei*). *Physiological Zoology*, 71: 139-146.
- Torki, F.; (2007) Reproductive cycle of the Snake-eyed Lizard *Ophisops elegans* Menetries, 1832 in western Iran (Squamata: Sauria: Lacertidae). *Herpetozoa*, 20(1/2): 57-66.
- Torki, F.; Gharzi, A.; (2008) Spermatogenesis Timing in a Population *Ophisops elegans* (Sauria: Lacertidae), Western Iran. *Asiatic Herpetological Research*, 11: 130-133.
- Van Sluys, M.; Martelotte, SB.; Kiefer, MC.; Rocha, CFD.; (2010) Reproduction in neotropical *Tropidurus* lizards (Tropiduridae): evaluating the effect of environmental factors on *T. torquatus*. *Amphibia-Reptilia*, 31: 117-126.
- Van Wyk, JH.; (1995) The male reproductive cycle of the lizard, *Cordylus giganteus* (Sauria, Cordylidae). *Journal of Morphology*, 29: 522-535.
- Vieira, GHC.; Wiederhecker, HC.; Colli, GR.; Bao, SN.; (2001) Spermiogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae). In the Cerrado of central Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 22: 217-233.
- Vieria, GHC.; Wiederhecker, HC.; Colli, GR.; Bao, SN.; (2001) Spermiogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) in the Cerrado of central Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 22: 217-233.
- Yamamoto, Y.; (2006) Ota H. Long-term functional sperm storage by a female common house gecko, *Hemidactylus frenatus*, from the Ryukyu Archipelago, Japan. *Current Herpetology*, 25(1): 39-40.