

## بررسی ذخیره اسپرم و تولید مثل زمستانه در افعی زنجانی (*Vipera albicornuta*)

پروانه صفدریان<sup>1</sup>، عبدالحسین شیروی<sup>1</sup>، فاطمه توده دهقان<sup>2</sup>

1- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، سمنان ایران. [shiravi738@yahoo.com](mailto:shiravi738@yahoo.com)

2- موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی حصارک کرج، بخش جانوران سمی البرز ایران.

تاریخ دریافت: 94/3/6 تاریخ پذیرش: 94/5/25

### چکیده

زمینه و هدف: با توجه به ضرورت حفظ نسل مارها به منظور استفاده های بشری و از لحاظ زیست محیطی و به دلیل بومی بودن افعی زنجانی که مختص ایران و بدون زیرگونه است و در سال 2008 از نظر حفاظت زیست محیطی در مرحله آسیب پذیر در طبقه بندی لیست سرخ سازمان حفاظت محیط زیست (IUCN)، قرار گرفته، هدف از این پژوهش بررسی ذخیره اسپرم و تولید مثل زمستانه این حیوان است.

روش کار: پس از نمونه برداری 11 حلقه افعی زنجانی نر در زمستان سال 1390 از منطقه بستان آباد در آذربایجان شرقی، پارامترهای تولیدمثلی افعی زنجانی (ایران)، در سطح میکروسکوپی و ماکروسکوپی، بررسی مجرای تولیدمثلی نر، پارامترهای اسپرم کانال دفرانی شامل غلظت، حرکت و مورفولوژی، وزن و حجم بیضه، ارزیابی سلول های اسپرماتوژنیک در لوله های اسپرم ساز و هم چنین وزن و طول بدن و طول دم مورد بررسی قرار گرفته است.

یافته ها: نتایج نشان داد که حداکثر وزن بدن  $32/81 \pm 248/33$  گرم، طول بدن  $4/12 \pm 76/41$  سانتی متر در بهمن ماه، طول دم  $0/62 \pm 4/87$  سانتی متر در اسفند ماه و بیشترین مقدار حجم بیضه راست  $110/58 \pm 666/13$  میلی متر مکعب مربوط به ماه بهمن و چپ  $189/08 \pm 667/52$  میلی متر مکعب در اسفند ماه، بیشترین طول مجاری راست و چپ به ترتیب  $19/5$  و  $2/54 \pm 16/66$  سانتی متر مربوط به دی ماه و بهمن ماه، حداکثر غلظت اسپرم در بهمن  $15 \times 10^4/ml$ ، مورفولوژی اسپرم در بهمن  $12/18 \pm 88/61$  % طبیعی و بالاترین تحرک اسپرم  $22/91 \pm 33/79$  مربوط به اسفند بود و مشاهده شد که میزان تحرک از ناحیه پروگزیمال به دیستال رو به افزایش است. نتیجه گیری: با توجه به یافته ها، مورفولوژی مجرای تولیدمثلی افعی زنجانی نر شامل 3 قسمت پروگزیمال، مدین و دیستال بود که شبیه افعی حفره دار (*Crotalus durissus terrificus*) از منطقه معتدل جنوب شرقی برزیل می باشد. این میزان تولید اسپرم در ماه های بهمن و اسفند ممکن است به دلیل مرحله ی پس از جفت گیری (فصل پاییز) باشد.

واژه های کلیدی: خزندگان، تولیدمثل، اسپرم، افعی زنجانی.

### مقدمه

بیلاقی، کوهستان ها، علفزارها و زیر تخته سنگ ها است. حداکثر طول بدن افعی 82 سانتی متر، دم 5 سانتی متر، تغذیه از موش و مارمولک و از لحاظ زادآوری دارای 3-8 نوزاد در فصل تابستان می باشد (12). تولید اسپرم در مارها معمولاً در دو دوره انجام می گیرد: یکی نوع بهاری یا قبل از جفت گیری و پس از زمستان خوابی است، یعنی در فصل بهار شروع می شود و پس از عمل جفت گیری پایان می پذیرد و دوره دوم تولید اسپرم، نوع تابستانی یا بعد از جفت گیری است که پس از دوره اول یعنی در همان فصل بهار شروع می شود و در آخر

افعی زنجانی *Vipera albicornuta* متعلق به خانواده *Viperidae* جزء مارهای سمی، زنده زا و بومی ایران بوده و پراکنندگی آن رشته کوه های البرز و شمال زاگرس شامل استان های گیلان، زنجان، قزوین و آذربایجان شرقی می باشد (12). دامنه پراکنش افعی زنجانی در استان زنجان دره های زنجان و کوه های اطراف شمال غرب ایران و محل بومی این گونه، ابهر در استان زنجان است (15). محل سکونت این افعی به طور کلی زیستگاه های پر صخره، شامل دیوارهای صخره ای، شن ریزها و لبه های صخره ای داخل زنجان و مناطق

تابستان به پایان می‌رسد. اسپرم تولید شده در دوره دوم برای مصرف در بهار سال بعد در کانال دفران ذخیره می‌شود (1). در الگوی بهاری، اسپرم‌ها در فصل بهار فقط برای جفت‌گیری تولید می‌شوند که به اسپرماتوژنز پیش‌زادی معروف است. اما در الگوی تابستانه، اسپرم‌ها در جنس نر در پاییز تولید و ذخیره شده و تا جفت‌گیری در بهار سال بعد در کانال دفران ذخیره باقی می‌مانند که به اسپرماتوژنز وابسته به جفت‌گیری شهرت دارد (7، 10). تفاوت اصلی این دو چرخه در این است که در روند اسپرماتوژنز تابستانی در جنس نر، اسپرم‌ها در تابستان و پاییز تولید، در زمستان ذخیره و در بهار جفت‌گیری رخ می‌دهد، اما در چرخه بهاری روند اسپرماتوژنز و جفت‌گیری در همان زمان از سال صورت می‌گیرد (تقریباً به ترتیب در اوایل، اواسط و اواخر بهار). بومی بودن این گونه، ارزش این افعی را زیاد نموده است اما با این وجود تحقیقات انجام شده بر روی این مار اندک بوده و بیشتر شامل جنبه‌های بیوسستماتیکی می‌باشد. علی‌رغم بررسی‌ها و مطالعات گسترده‌ای که بر روی پراکنش گونه‌ها و شناسایی آن‌ها صورت گرفته، کمبود و نیاز در مورد مطالعه بر روی چرخه تولید مثلی هنوز هم وجود دارد. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر زمستان‌خوابی در روند اسپرماتوژنز تابستانی و روند ذخیره‌سازی اسپرمی در کانال دفران در افعی زنجانی انجام گردیده است.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق 11 حلقه افعی زنجانی نر در دی، بهمن و اسفند ماه سال 1390 از منطقه بستان آباد تبریز واقع در شمال غرب ایران جمع‌آوری شدند. بررسی ویژگی‌های ماکروسکوپی که شامل اندازه‌گیری وزن و طول بدن، طول دم، وزن و حجم بیضه و ارتباط آن با بلوغ این گونه و خصوصیات میکروسکوپی نمونه‌ها با بررسی بیضه‌ها از لحاظ تعداد اسپرم و پارامترهای اسپرم شامل ظهور،

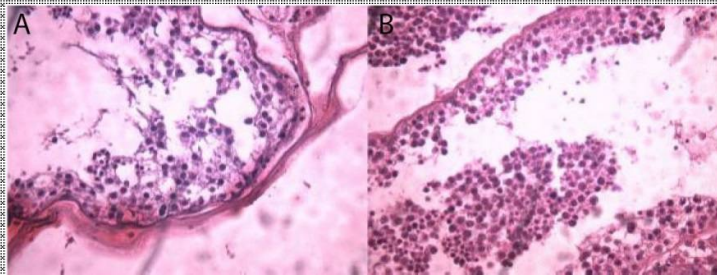
غلظت، حرکت اسپرم، زنده/مرده بودن و مورفولوژی مجرای وزدفران جهت حفظ این گونه انجام شد. مارها پس از جمع‌آوری، انتقال به آزمایشگاه، انگل‌زدایی و قرنطینه به منظور از بین بردن انگل‌های موجود در بدن جانور و جلوگیری از احتمال بروز بیماری‌های مشترک، مورد مطالعه قرار گرفتند. بعد از تعیین جنسیت، مارها به روش تزریق الکل 96% درون حفره چشمی از طرفین به مغز ابتدا بیهوش و سپس دندان‌های نیش آن‌ها قیچی و برای تحقیق بررسی شدند. وزن بدن با استفاده از ترازوی ساعتی (با حساسیت 5 گرم) و طول بدن و دم با متر ثابتی (با واحد سانتی‌متر) اندازه‌گیری گردید (20، 8). بیضه‌های راست و چپ، کلیه‌ها و همی‌پنیس‌های آن خارج شدند. عرض، طول و ضخامت بیضه‌ها و طول مجرای وزدفران با استفاده از کولیس با دقت 0/02 میلی‌متر و وزن بیضه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال (با دقت 0/0001 گرم) اندازه‌گیری و حجم هر دو بیضه محاسبه شد. مطالعات کمی اسپرم شامل غلظت اسپرم در کانال دفران صورت پذیرفت. در این بررسی کانال دفران از بافت کلیه جدا و در بافر فسفات نمکی (PBS) قطعه‌قطعه و با استفاده از پیپت ملانژور و لام نئوبار شمارش گردید. مطالعات کیفی اسپرم شامل تحرک اسپرم و بررسی مورفولوژی اسپرم بر اساس معیار سازمان بهداشت جهانی (WHO1999) انجام گرفت. برای مطالعه تحرک اسپرم چهار کلاس، A (پیش‌رونده مستقیم سریع)، B (پیش‌رونده مستقیم و غیر مستقیم آرام)، C (درجا متحرک) و D (بدون حرکت) در نظر گرفته شد و تعداد اسپرم‌ها در 5 میدان متفاوت شمارش گردید. برای هر نمونه با بزرگنمایی 40× میکروسکوپ نوری تعداد اسپرم‌ها شمارش و میانگین درصد انواع اسپرم‌های متحرک (A+B+C) و اسپرم‌های گرید A و B و C و اسپرم‌های غیر متحرک از هر سه قسمت محلول سوسپانسیون (سطح رویی، میانی و زیری) برای کانال

کمی بالاتر از بیضه سمت چپ قرار گرفته و کانال دفران شامل 3 قسمت پروگزیمال، میانی و دیستال می باشد. میانگین پارامترهای وزن بدن، طول بدن، طول دم، مشخصات بیضه شامل (وزن، حجم و طول) و میانگین طول مجرای تولیدمثلی راست و چپ در جداول 1 و 2 نشان داده شده است. به منظور ارزیابی پارامترهای اسپرمی فقط نمونه هایی که دارای اسپرم بودند در این زمینه مورد بررسی قرار گرفت. میانگین غلظت، درصد بقا و مورفولوژی اسپرم (فقط برای نمونه هایی که در آن اسپرم مشاهده گردید)، در جدول 3 و هم چنین میانگین درصد تحرک اسپرم در افعی زنجانی با چهار کلاس، A (پیش رونده مستقیم سریع)، B (پیش رونده مستقیم و غیر مستقیم آرام)، C (در جا متحرک) و D (بدون حرکت) در فصل زمستان در جدول 4 بیان شده است. هم چنین بررسی های بافتی صورت گرفته به صورت میانگین تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید و قطر لوله اسپرم ساز و ضخامت تونیکا آلبوژینه در فصل زمستان در جدول 5 ذکر شده است. تصاویر (1 و 2) لوله های اسپرم ساز را در نیمه بهمن و اسفند نشان می دهد.

دفران محاسبه گردیدند (4، 3). بیضه ها جهت بررسی های بافت شناسی به روش هماتوکسیلین-ئوزین آماده و رنگ آمیزی شدند (16، 17). میانگین تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرماتوزوئید و قطر لوله اسپرم ساز و ضخامت تونیکا آلبوژینه مورد بررسی کیفی قرار گرفته و متعاقباً از برش های بافتی تصاویری از قسمت های مورد نظر تهیه و برای آنالیز آماری یافته ها از نرم افزار SPSS، به روش آنالیز انوا با *t.test* استفاده شد.

### نتایج

دستگاه تولید مثلی در پشت لوله گوارشی چسبیده به سطح پشتی جانور قابل مشاهده است. پارامترهای مورفومتریک در 3 ماه فصل زمستان بررسی ولی با توجه به دارا بودن میانگین کل در جداول، ماه دی با این که یک نمونه قابل اندازه گیری بود هم به عنوان کمی، به منظور درک بهتر میانگین، مورد استفاده قرار گرفت. تعداد بررسی گندهای نر نشان می دهد بیضه ها به لحاظ تشریحی در یک سوم انتهایی بدن و در کنار کلیه ها قرار دارند. سیستم جفت گیری نر شامل یک جفت بیضه، یک جفت کانال دفران و یک جفت پنیس است. بیضه ها صورتی رنگ، بیضوی شکل، کشیده و دارای رگ های خونی فراوان در سطح خود هستند. بیضه سمت راست



شکل 1- لوله های اسپرم ساز (A): در نیمه بهمن، (B): در نیمه اسفند (H & E) (×400)

جدول 1- میانگین و انحراف از معیار ( $Mean \pm SD$ ) پارامترهای مورفومتریک افعی زنجانی نر بستان آباد

فصل / ماه	وزن بدن (g)	طول از پوزه تا کلوآک (cm)	طول دم (cm)	طول کانال دفران از بیضه تا کلوآک چپ (cm)	طول کانال دفران از بیضه تا کلوآک راست (cm)
دی $n = 1$	190	73/5	6	19/5	16
بهمن $n = 6$	248/33 $\pm$ 32 /81	76/41 $\pm$ 4/12	4/66 $\pm$ 1/08	16/96 $\pm$ 1/82	16/66 $\pm$ 2/54
اسفند $n = 4$	220 $\pm$ 27/08	75/62 $\pm$ 6/90	5/75 $\pm$ 0/28	18/25 $\pm$ 1/70	16/25 $\pm$ 1/70
میانگین کل $n = 11$	232/73 $\pm$ 33/94	75/86 $\pm$ 4/85	5/18 $\pm$ 0/98	17/66 $\pm$ 1/81	16/45 $\pm$ 2/04

جدول 2- میانگین و انحراف از معیار ( $Mean \pm SD$ ) پارامترهای مورفومتریک افعی زنجانی نر بستان آباد

فصل / ماه	وزن بیضه راست (g)	وزن بیضه چپ (g)	حجم بیضه راست ( $mm^3$ )	حجم بیضه چپ ( $mm^3$ )	طول بیضه راست (mm)	طول بیضه چپ (mm)
دی $n = 1$	0/87	0/78	605/15	517/77	43/18	31/98
بهمن $n = 6$	1/1 $\pm$ 0/13	0/98 $\pm$ 0/14	666/13 $\pm$ 110/58	522/34 $\pm$ 199/08	44/83 $\pm$ 9/17	42/17 $\pm$ 5/12
اسفند $n = 4$	1/07 $\pm$ 0/24	0/89 $\pm$ 0/24	582/84 $\pm$ 161/33	667/52 $\pm$ 189/08	42/87 $\pm$ 1/03	38/20 $\pm$ 5/03
میانگین کل $n = 11$	1/07 $\pm$ 0/17	0/93 $\pm$ 0/18	630/30 $\pm$ 125/13	574/71 $\pm$ 189/62	43/97 $\pm$ 6/58	39/79 $\pm$ 5/58

جدول 3- میانگین و انحراف از معیار ( $Mean \pm SD$ ) پارامترهای مورفومتریک افعی زنجانی نر بستان آباد

سر متورم	مورفولوژی غیر نرمال ها		درصد اسپرم ها		درصد بقاء اسپرم		غلظت اسپرم $ml^{-1} \times 10^6$	فصل / ماه
	دم	تاخورد	غیر نرمال	نرمال	مرده	زنده		
25	50	0	75	25	33/34	66/66	0	دی $n = 1$
0	2/77	20	11/38 $\pm$ 5/18	88/61 $\pm$ 12/18	23/93 $\pm$ 1/51	76/07 $\pm$ 1/51	0/15	بهمن $n = 2$
3/29	1/09	50	27/19 $\pm$ 20/25	72/80 $\pm$ 32/25	13/01 $\pm$ 10/40	86/98 $\pm$ 18/40	0/1	اسفند $n = 2$
14/15 $\pm$ 6/34	17/95 $\pm$ 9/76	35 $\pm$ 21/21	30/43 $\pm$ 9/31	69/56 $\pm$ 18/19	21/44 $\pm$ 12/61	78/55 $\pm$ 5/6	0/12 $\pm$ 0/03	میانگین کل $n = 5$

جدول 4- میانگین و انحراف از معیار درصد تحرک اسپرم افعی زنجانی نر بستان آباد

اسپرم های متحرک

فصل / ماه	میانگین درصد انواع اسپرم های متحرک			
	(A+B+C)	(A)	غیر مستقیم آرام (B)	پیش رونده مستقیم و غیر مستقیم آرام (C)
دی $n = 1$	25	0	0	75
بهمن $n = 2$	11/35 $\pm$ 8/18	0	20	88/61 $\pm$ 12/18
اسفند $n = 2$	34/89 $\pm$ 21/36	0	2/19	65/11 $\pm$ 21/36
میانگین کل $n = 5$	23/51 $\pm$ 7/03	0	11/09 $\pm$ 5/59	76/49 $\pm$ 17/03

## جدول 5- میانگین تعداد سلول های جنسی، قطر لوله اسپرم ساز و ضخامت تونیکا آلبوژینه در افعی زنجانی نر

فصل / ماه	انواع سلول های جنسی	اندازه (μ)					
	اسپرماتوگوننی	اسپرماتوسیت	اسپرماتید	اسپرماتوزوئید	قطر لوله اسپرم ساز	ضخامت تونیکا آلبوژینه	
میانگین کل	77/50±10/16	150/5±61/67	176/7±70/69	2 ± 0/08	348/50±63/38	8/75±3/38	
بهمن	نیمه ماه	121 ± 37/37	254 ± 73/53	349 ± 72/83	3 ± 0/95	394 ± 25/10	10
	آخر ماه	85 ± 20/77	117 ± 66/06	179 ± 26/51	4 ± 0/50	328 ± 39/62	11/25±1/76
اسفند	نیمه ماه	26 ± 3/53	62 ± 14/09	60 ± 19/19	1 ± 0/01	268 ± 34/21	10
	آخر ماه	78 ± 19/71	169 ± 28/51	119 ± 79/96	0	404 ± 54/13	3/75±1/76

## بحث و نتیجه گیری

دیگر تحقیقات مذکور مشابه بود (11). در تحقیق حاضر علاوه بر بررسی پارامترهای کمی و کیفی اسپرم از نظر غلظت، تحرک، قابلیت زنده ماندن مطالعاتی در زمینه مورفولوژی و تعداد اسپرم صورت گرفت که در خارج از کشور در این گونه موارد بر روی مارها و افعی ها مطالعات زیادی صورت نگرفته است. تحرک اسپرماتوزوآ در تحقیقی به گروه های (A, B, C, D) تقسیم بندی شد (8، 4)، مشابه با تقسیم بندی این تحقیق است. هم چنین از تحرک اسپرم به عنوان یک پارامتر برای تعیین آزمایش زمان بقا استفاده شد که در تحقیقات دیگر در این زمینه از شمارش غلظت اسپرماتوزوآ و حرکت اسپرم به عنوان همین پارامتر استفاده گردیده است (2). در مطالعه حاضر مدت زمان بقای اسپرم در مارهایی که اسپرم داشتند  $2 \pm 6$  ساعت در میانگین دمای آزمایشگاه ( $23 \pm 2$  درجه سانتی گراد) بود. در تحقیق دیگر گزارش شده که در مار *V. Crotalus durissus terrificus* اسپرم ها بعد از ماندن در دمای 10 - درجه سانتی گراد زنده و دارای حرکت می باشند (2). در بررسی پارامترهای کمی و کیفی اسپرم شامل: ظاهر، حجم، غلظت، حرکت اسپرم و مورفولوژی اسپرم و تعیین طول عمر حرکت اسپرم در مار *Elaphe guttata guttata* ذخیره شده در دمای 4 درجه سانتی گراد مشخص گردید

با توجه به اهمیت زیست محیطی و ضرورت حفظ نسل مارها و به دلیل این که افعی زنجانی مار بومی ایران بوده (15)، و تحقیقات کمی در مورد این افعی در داخل و خارج کشور صورت گرفته و اکثر مطالعات جنبه بیوسیستماتیکی بوده است، تحقیق حاضر صفات مورفومتریکی و مرستیکی نمونه ها و بررسی هیستولوژیک آن ها از نظر روند اسپرماتوزن و ارتباط آن ها با بلوغ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج تحقیقات نشان داده که در طی دوران زمستان خوابی هیچ رشد و تغییری در وزن بدن و اندازه پوزه تا کلواک ایجاد نمی شود (14، 11). در تحقیقی که بر روی *Crotaphytus collaris* انجام شد میانگین حجم بیضه ها 359 میلی لیتر به دست آمد (10، 9) و در مار *Natrix natrix*، میانگین حجم بیضه های راست و چپ به ترتیب 525/54 و 569/06 میلی متر مکعب بود، به طوری که نشان داده شده است حجم بیضه راست کمتر از حجم بیضه چپ است و هم چنین میانگین وزن بیضه ها، 0/051 گرم در مار *Natrix natrix* می باشد (4، 5) و در *Agkistrodon piscivorus* وزن بیضه راست و چپ به ترتیب 0/11 و 0/08 گرم، گزارش شده است که نشان می دهد حجم بیضه راست بیشتر از حجم بیضه چپ است که در این بررسی میانگین حجم و وزن بیضه ها تقریباً با

نشان می دهد جانورانی که دارای اسپرماتوزنر بهاره می باشند در طول مدت زمستان خوابی برای آمادگی جفت گیری در بهار کمترین استفاده را از ذخائر چربی خود دارند (10، 9). در تحقیقی بر روی مار *Seminatrix pygaea* گزارش شده است که در طی زمستان خوابی بیضه در فاز 4 و دارای سلول های اسپرماتوگونو و سرتولی است (18)، که دقیقاً مشابه نتایج حاضر می باشد. در خارج از کشور هم چنین چرخه مربوط به بیضه نیز طی تحقیقی در افعی های حفره دار بررسی شده است (13). لوله های اسپرم ساز در طی زمستان غیر فعال بودند و اسپرماتوزنر نیز به طور کلی در ابتدای زمستان خوابی پایان می یابد. ماده کلونیدی در تعدادی از لوله های اسپرم ساز دیده شد و سلول های دیگر دچار دژنراسیون شده و دارای واکوئل بودند و در 20% آن ها تنها سلول های سرتولی که سلول های پشتیبان بودند وجود داشتند و سلول های به میزان 75% در فاز 4، 25% در فاز 3 اسپرماتوزنر بودند. با توجه به یافته ها، کانال دفران در زمستان دارای قطر زیادی بود و مورفولوژی مجرای تولیدمثلی افعی زنجانی نر شامل 3 قسمت پروگزیمال، میانی و دیستال بوده که شبیه افعی حفره دار (*Crotalus durissus terrificus*) از منطقه معتدل جنوب شرقی برزیل می باشد. این میزان تولید اسپرم در ماه های بهمن و اسفند ممکن است به دلیل مرحله ی پس از جفت گیری (فصل پاییز) باشد. با توجه به مطالعه انجام گرفته مشخص شد که افعی زنجانی نر از نظر پارامترهای تولیدمثلی مشابه دیگر مارهای مناطق سردسیر می باشد.

که حرکت اسپرم در سه قسمت کانال دفران وجود داشته و درصد میزان تحرک اسپرم در مناطق انتهایی کانال دفران به ویژه در سومین قسمت انتهایی، افزایش می یابد. در تحقیقات دیگر در مار *V. crotalus terificus*، *durissus*، تحرک اسپرم از ناحیه ابتدا تا انتهای این کانال به خصوص قسمت انتهایی افزایش داشته و در مار *Elaphe guttata guttata* حرکت اسپرم 92/5% گزارش شده است (6). گزارش شده که در پارامترهای تحرک اسپرم مار بوآ (گونه در معرض تهدید) حرکت اسپرم ها رو به جلو و مستقیم بوده و تنها 1% آن ها چرخش سریع و به صورت قائم داشته اند (19). تحقیقات بر روی مارها مشخص کرده است که هرچه سرعت اسپرم ها افزایش یابد طول اسپرم ها با بزرگ شدن قسمت میانی افزایش می یابد. در مطالعه بر روی مار *Elaphe guttata guttata*، از نظر مورفولوژی میزان اسپرم نرمال  $3/9 \pm 7/75\%$  بوده است و بیشترین ناهنجاری در دم (تاخورد)، دقیقاً مشابه تحقیق حاضر، گزارش شده است (6). مطالعات صورت گرفته در دیگر گونه ها نشان می دهد که تعداد اسپرم متحرک طبیعی و میزان تحرک آن ارتباط مستقیمی با لقاح موفق دارد. مطالعه حاضر نشان می دهد که قطر لوله های اسپرم ساز بیضه در زمستان دارای حداکثر اندازه خود می باشند که آن هم باعث کاهش ناگهانی چرخه بیضه در اوایل اسفند به دلیل فعالیت زمستانی بیضه می باشد و با افزایش چربی ذخیره شده شکمی حجم بیضه ها کاهش یافته که نقش غدد درون ریز در این راستا مهم می باشد. تحقیقات دیگر

## منابع

- 1- فرزانه پی، ر. 1369. مار شناخت. مرکز نشر دانشگاهی. چاپ اول. صفحه 284.
2. Almedia-santos, S. M., Iara L., Laporta-Ferreira, M., Arta, M., Antoniazzi, C.J.

(2004). *Reproductive cycle of the Neotropical crotalus durissus terrificus: i. seasonal levels and inters play between steroid hormones. General and Comparative Endocrinology*, 139; 143-150.



3. Cardwell, M.D. (2007). *The reproductive ecology of Mohave rattlesnakes*. *Journal of Zoology*, 952-8369.
4. Dada, R., Gupta, N. P., Kucheria, K. (2001). *Determination of sperm morphology in men exposed to high temperature*. *J Anat Soc India*, 50(2); 107-111.
5. Faghiri, A. (2008). *The reproductive cycle of the water snake *Natrix natrix* and ecological conditions in the province*. Presented for the MSc, Damghan. Islamic Azad University.
6. Fahrig, B.M., Mitchell, M.A., Eilts, B.E., Paccamonti, D.L. (2007). *Characterization and cooled storage of semen from Corn snakes (*Elaphe guttata*)*. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 38(1); 7-12.
7. Feriche, M., Pleguezuelos, J.M., Santos, X. (2008). *Reproductive ecology of the Montpellier snake, *Malpolon monspessulanus* and comparison with other sympatric colubrids in the Iberian Peninsula*. *Copeia*, 279-285.
8. Glaudas, X., Goldberg, S.R., Hamilton, B.T. (2009). *Timing of reproduction of a cold desert viperid snake from North America, the Great Basin rattlesnake (*Crotalus lutosus*)*. *Journal of Arid Environments*, 73; 719-725.
9. Goldberg, S.R. (1999). *Reproduction in the blacktail rattlesnake, *Crotalus molossus* (Serpentes: viperidae)*. *Tex. J. Sci*, 51; 323-328.
10. Goldberg, S.R. (2000). *Reproduction in the glossy snake, *Arizona elegans* from California*. *bulletin (Southern California Academy of Sciences)*, USA.
11. Hill, J.G., Beaupre, S.J. (2008). *Body size growth, and reproductive in a pupiation of western cottonmouths (*Agkistrodon piscivorus leucostoma*) in the Ozark Mountains of Northwest Arkansas*. *Copeia*, 1; 105-114.
12. Latif, M. (2000). *Snakes of Iran*. 3<sup>rd</sup> ed. Publications Department of the Environment; 478.
13. Leslier, F., Johnson, J. S., Torrance, J. (1982). *Annul testicular and androgenic cycles of the cotton mouth (*Agkistrodon piscivorus*) in Alabama*. *Herpetologica*, 38(1); 16-25.
14. Lourdais, O., Bonnet, X., Shine, R., Denardo, D., Naulleau, G., Guillon, M. (2002). *Capital-breeding and reproductive effort in a variable environment: a longitudinal study of a Viviparous snake*. *Journal of Animal Ecology*, 71; 470-479.
15. Mc Diarmid, R.W., Campbell, J.A., Toure, T.A. (1999). *Snake species of the world*. Vol. 1. *Herpetologists League*.
16. Nilson, G. (2008). *Montivipera albicornuta*. In: *IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2010.4.
17. Pesarakloo, A. (2012). *Studying the reproductive biology of the frog *Rana macrocnemis pseudodalmatina* forests in Golestan province (Minoodasht)*. *Iranian Journal of Biology*, 5(1); 55-63.
18. Sever, D.M., Stevens, R.A., Ryan, T. J., Hamlett, W. C. (2002). *Ultrastructure of the reproductive system of the Black Swamp snake (*Seminatrix pygaea*)*. L11. *Sexual segment of the Male kidney*. *Journal of Morphology*, 252; 238-254.
19. Tourmente, M., Cardozo, G.A., Guidobaldi, H.A., Giojalas, L.C., Bertona, M., Chiaraviglio, M. (2007). *Sperm motility parameters to evaluate the seminal quality of *Boa constrictor occidentalis*, a threatened snake species*. *Research in Veterinary Science*, 82; 93-98.
20. Zacariotti, R.L., Grego, K.F., Fernandes, W, Sant, A.S.S. (2007). *Semen collection and evaluation in free-ranging Brazilian Rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*)*. *Zoo Biology*, 26; 155-160.

