

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

پریا پرتو^{۱*}، نصرالله رستگارپویانی^۱، آذر خالصة^۱، فریبا نوری^۱، شهرام میرآقایی^۲ و نسیم خزاعی^۱

^۱ کرمانشاه، دانشگاه رازی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

^۲ کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات علوم پزشکی

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



چکیده

سیکل تولیدمثل سالیانه‌ی ۳۰ نمونه *Asaccus elisae* (جکوی انگشت برگی ورنر) مطالعه شد. مورفولوژی و هیستوشیمی دستگاه تناسلی نر در بهار، تابستان و پاییز بررسی شد. پس از جمع‌آوری جکوها، وزن بدن و (SVL) (Snout-vent length) در هر فصل اندازه‌گیری شد. پس از آن با اثر 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 با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین-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 اسپرماتوزا 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 به شدت به درجه حرارت وابسته است.

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

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

مقدمه

(constant) (۲۳). در سیکل تولیدمثل قبل از آمیزش استروئیدهای جنسی و گامتوزنر 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 ناپوسته 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).

Asaccus elisae یا جکوی انگشت برگی ورنر از خانواده جکونیده است که در سال 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 از جمله 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 شناسایی شده است، چرخه‌های قبل از آمیزش یا وابسته (prenuptial)، بعد از آمیزش یا غیروابسته (postnuptial) و سیکل پایدار یا مداوم

ساکن نمی‌توان مجرای دفران را به‌عنوان یک مجرا و آمپول تشخیص داد (۱۸ و ۳).

در بیشتر سوسمارها قسمت جنسی کلیه *Renal Sexual Segment (RSS)*، عمدتاً شامل لوله‌ی پیچیده‌ی دور و در برخی بخش عمده آن لوله‌ی جمع‌کننده 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 (از نظر جنسی) از دیگر لوله‌های نفریک قابل تشخیص است (۳۴). هدف از این مطالعه بررسی مورفولوژیکی و هیستولوژیکی سیستم تناسلی نر در فصول مختلف بهار، تابستان و پاییز می‌باشد.

مواد و روشها

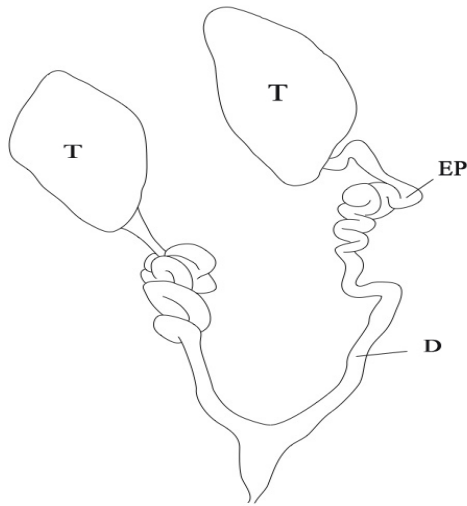
۳۰ نمونه سوسمار نر *A. elisae* (اندازه بدن نرها کوچک‌تر از ماده‌ها و برجستگی قاعده دم در نرها بزرگتر از ماده‌هاست) در فصول بهار تابستان و پاییز از نفت شهر و سرپل ذهاب جمع‌آوری‌شده و به آزمایشگاه جانورشناسی دانشگاه رازی منتقل گردید. پس از بیهوش کردن نمونه با استفاده از اتر، نمونه‌ها در بافر فرمالین ۱۰٪ 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 هر یک از آنها با استفاده از دوربین DinoCapture 2X متصل به میکروسکوپ عکس‌برداری صورت گرفت و با قلم نوری دیاگرام دستگاه تولیدمثل نر

همه خزندگان نر یک جفت بیضه مترکم در حفره‌ی شکمی دارند (۳۵). بیضه‌ها شامل لوله‌های پیچیده‌ی سمینی فرس، اپیتلیال زاینده‌ی دائمی و سلول‌های سرتولی است. سلول‌های لیدینگ 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، ۳۹). ظاهراً تغییرات در سلول‌های لیدینگ با دوره‌های تولید سلول‌های زایا معکوس و متفاوت است (۴ و ۱۳). مطالعات بر روی چرخه‌ی بیضه گونه‌های مختلف سوسماران نشان داد که الگوهای اسپرماتوزن اختصاصی است (۱۱ و ۲۹).

اپیدیدیم را می‌توان از لحاظ مورفولوژیکی به مناطق مختلف تقسیم کرد. بسته به گونه، در طول آن تنوع قابل توجهی 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 ترشچی است که توسط هورمون‌های استروئیدی کنترل می‌شود (۶ و ۹). اپیدیدیم گرانول‌های بزرگ ترشچی تولید می‌کند که با اسپرم در مایع اپیدیدیم مخلوط می‌شود. گرانول‌های ترشچی 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). مجرای 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* توصیف شده است. به نظر می‌رسد در طی فصل جفت‌گیری قسمت انتهایی دفران متورم شده و با آمپول مجرای پستانداران قابل‌مقایسه است. در طی فاز



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 قرار دارد که توسط تونیکا آلبوژینا یا کپسول بیضه احاطه شده است (شکل ۲). این کپسول از جنس بافت همبند فیبروالاستیک می‌باشد. تیغه‌های کپسول، لوبول‌هایی را ایجاد می‌کند 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 و لوله‌های سمینی فروس در مراحل مختلف سیکل تولیدمثلی در ماههای مختلف سال متفاوت است. در زمان‌هایی که بیضه‌ها از نظر جنسی فعال هستند، تمام مراحل اسپرماتوژنز قابل مشاهده است (شکل ۲). این سلولها به ترتیب از غشای پایه به داخل لومن در لایه‌هایی پشت سرهم مرتب شده‌اند، به گونه‌ایی که دم اسپرماتید در فضای داخلی لومن قابل مشاهده است. سلول‌های رده‌ی اسپرماتوژنز و سلولهای اپیتلیایی غیرزایا یا سلول‌های سرتولی (پرستار) قرار دارد که هسته سلول‌های سرتولی مثلثی شکل و تیره است و نزدیک به غشای پایه لوله‌های سمینی فروس قرار می‌گیرد. سلولهای لیدیگ در بافت همبند بینابینی بین لوله‌های سمینی فروس بصورت تکی یا

ترسیم شد. دستگاه تولیدمثل از بدن جانور جدا شده 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٪ پایدسازی صورت گرفت. سپس برای آماده‌سازی، بافت‌ها در دستگاه اتوتکنیکون قرار گرفته، توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین و PAS-آلین بلو رنگ‌آمیزی و در دمای آزمایشگاه خشک شدند.

در این مطالعه جهت بررسی آماری از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ استفاده شده است. برای این مطالعه از تست آماری توکی استفاده شد ($Tukey, P \leq 0.05$). رابطه معنی‌داری بین فصول مختلف برای هر یک از متغیرها محاسبه شد. ($0.05 \geq$ معناداری را و اعداد بزرگتر از 0.05 عدم معناداری را نشان می‌دهد) نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ رسم شدند.

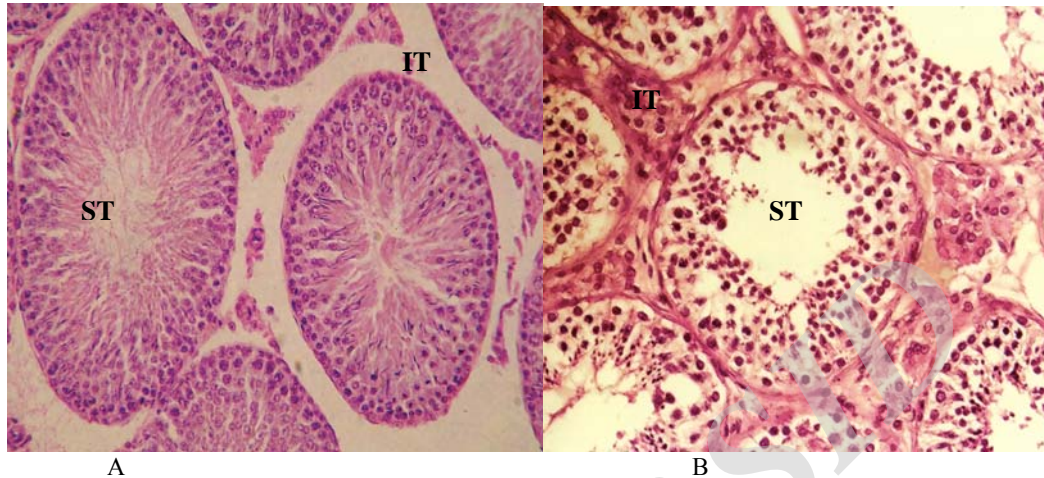
نتایج

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 بین $۸/۲-۱۱/۳$ 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 قرار دارد. مجاری دفران راست و چپ به کلواک ختم می‌شود (شکل ۱).

در فصول مختلف سال مورد بررسی قرار گرفته است. در جدول شماره ۲ قطر بخش سری و بدنه‌ی اپیدیدیم در ماه‌های مورد مطالعه مورد بررسی و محاسبه شده است.

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



شکل ۲- فتومیکروگراف بیضه *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی در اوایل فصل بهار، B در فصل پاییز (HE- $\times 100$) در این تصاویر سلولهای رده اسپرماتوزنز و اسپرماتیدهای تولید شده قابل مشاهده است. لوله‌های سمینی فروس (ST)، بافت بینابینی (IT).

جدول ۱- تغییرات (میانگین \pm انحراف معیار) طول پوزه تا منخرج (SVL)، وزن بدن، وزن بیضه، قطر لوله‌های سمینی فروس (STD)، ارتفاع سلولهای اپی تلیوم، لوله‌های سمینی فروس (EPH) و اندکس گونادوسوماتیک (GI) در فصول بهار، تابستان و پاییز در *A. elisae*

پارامتر	بهار	تابستان	پاییز	معناداری
تعداد نمونه	۱۰	۱۰	۱۰	۰/۰۰۰
SVL(μm)	48.63 ± 2.77^a	51.75 ± 2.57^a	57.24 ± 2.97^a	۰/۰۰۰
وزن بدن (گرم)	11.52 ± 1.58^b	10.07 ± 1.77^a	12.60 ± 1.75^c	۰/۰۵۹
وزن بیضه (گرم)	0.083 ± 0.024^a	0.019 ± 0.00^a	0.05 ± 0.017^a	۰/۰۰۰
STD(μm)	34.92 ± 4.33^a	10.92 ± 1.064^a	23.00 ± 5.43^a	۰/۰۰۰
EPH(μm)	70.67 ± 1.26^a	17.09 ± 2.30^a	28.12 ± 4.44^a	۰/۰۰۰
GI	0.073 ± 0.021^a	0.018 ± 0.007^a	0.046 ± 0.017^a	۰/۰۰۰

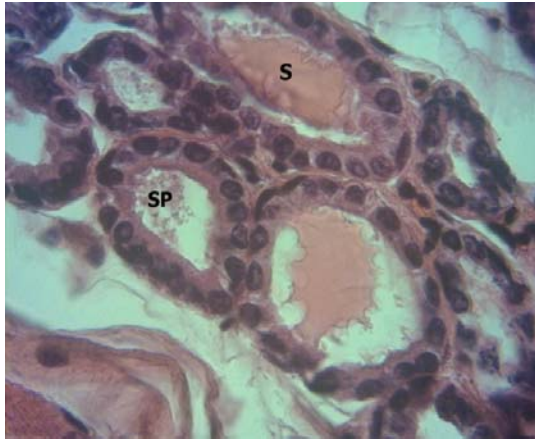
در زمان استراحت جنسی ارتفاع سلولها کم شده و تقریباً به فرم مکعب در می‌آیند (شکل ۴).

abc: مقادیر با نماهای مختلف دارای اختلاف معنادار هستند.

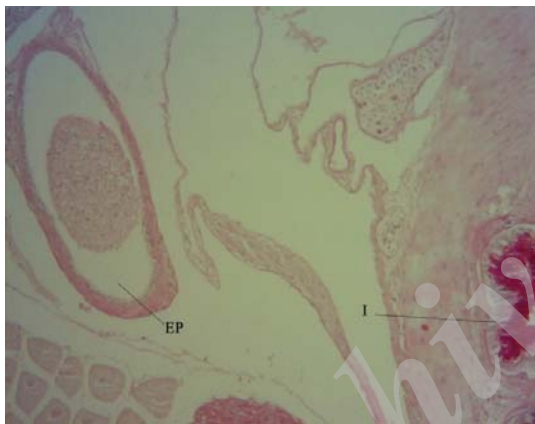
جدول ۲- قطر قسمت سر (A) و بدنه (M) لوله اپیدیدیم برحسب میکرومتر در *A. elisae*

پارامتر	بهار	تابستان	پاییز	معناداری
ELD(A)(μm)	$10.9/17 \pm 1.9/56^a$	$37/65 \pm 1.0/26^b$	$55/21 \pm 1.8/33^c$	≤ 0.05
ELD(M)(μm)	$145/60 \pm 24/27^a$	$50/0.6 \pm 4/24^b$	$88/76 \pm 7/99^c$	≤ 0.05

abc: مقادیر با نماهای مختلف دارای اختلاف معنادار هستند.



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



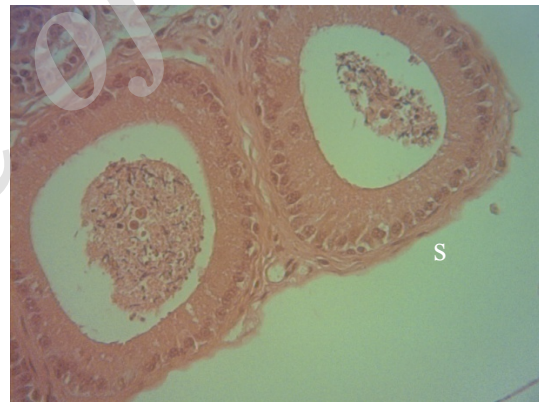
شکل ۵- فتومیکروگراف اپیدیدیم *A. elisae* در فصل فعالیت جنسی (بهار و پاییز). واکنش سلولهای بافت پوششی نسبت به رنگ‌آمیزی PAS منفی است. اپیدیدیم (EP)، روده (I). (PAS، ×۲۰).

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 مطابق 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 قابل مشاهده است (شکل ۶).

نحوه‌ی محاسبه GI index به این صورت است:

$$\text{Gonadosomatic Index} = \frac{\text{Testis mass}}{\text{Body mass}} \times 100$$
اندازه بیضه‌ها در بهار به علت افزایش اسپرماتوزن، افزایش می‌یابد و در اوایل تابستان کمی کاهش را نشان می‌دهد و مجدداً در پاییز به علت افزایش مجدد اسپرماتوزن 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 مطابق استوانه‌ای پوشیده می‌شود که شامل سلولهای استوانه‌ای ترشچی و سلولهای پایه می‌باشد. که سلولهای ترشچی در زمان فعالیت جنسی دارای ترشح هستند و طول آنها کشیده است. هسته قاعده‌ای دارند و در رأس آنها مقدار زیادی گرانولهای ترشچی اسیدوفیل دیده می‌شود (شکل ۳).

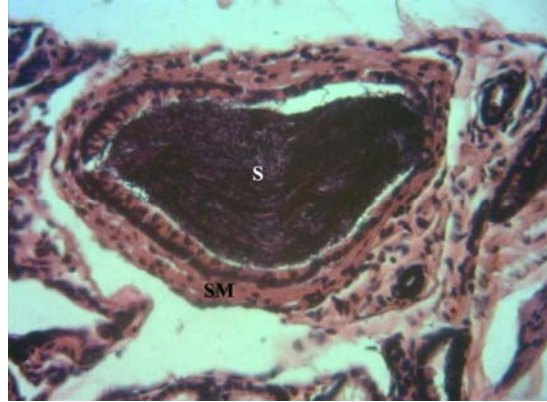


شکل ۳- فتومیکروگراف اپیدیدیم *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی. بافت پوششی شبه مطابق استوانه‌ای کاذب مژکدر است و لوله‌ها توسط اسپرم (S) پر می‌شود (HE-×۲۵۰).

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 ترشچی بلند و استوانه‌ای با هسته قاعده‌ای و سیتوپلاسم رأسی مملو از گرانولهای ترشچی می‌باشند. واکنش این گرانولهای ترشچی به رنگ‌آمیزی PAS منفی است. (شکل ۵)

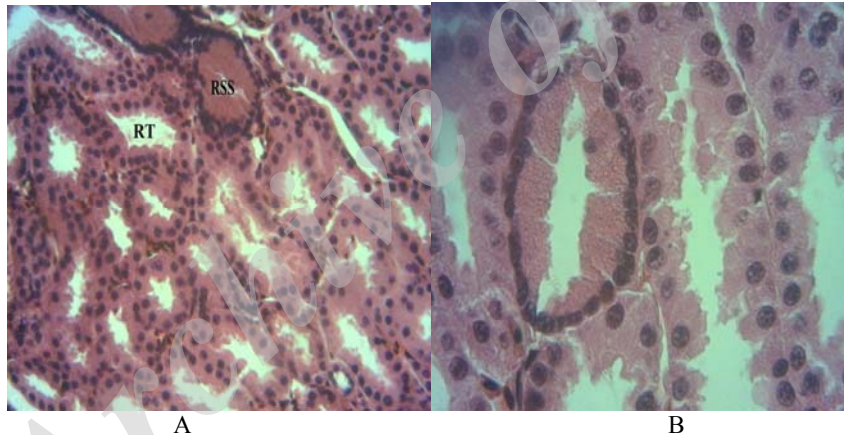
تنها تفاوت عدم حضور اسپرماتوزوآ در این مجرا در زمان فعالیت کم جنسی (تابستان)، بود.

کلیه: در کلیه *A. elisae* در زمان فعالیت جنسی علاوه بر جسمک کلیوی، لوله‌های پیچ‌خورده نزدیک، لوله بینابینی، لوله‌های پیچ‌خورده دور و لوله‌های جمع‌کننده، قطعه جنسی کلیوی (RSS) نیز قابل مشاهده است. لوله‌های نفرونی عمدتاً دارای اپی‌تلیوم 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 مدولای قرار می‌گیرند (شکل ۷). این گرانولهای ترش‌حی دارای واکنش مثبت به رنگ PAS می‌باشند (شکل ۸).



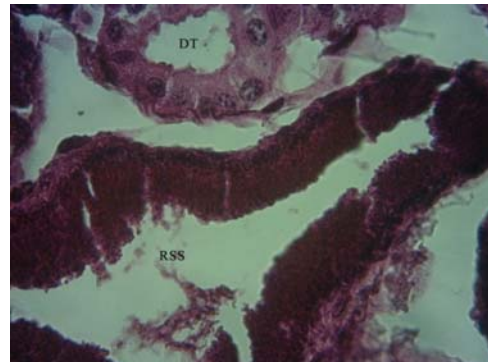
شکل ۶- فتومیکروگراف مجرای دفران *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی. این لوله پیچیده توسط اسپرماتوزوآ پر می‌شود (S). مجرای دفران حاوی یک‌لایه ماهیچه صاف حلقوی (SM) است و لومن آن توسط بافت پوششی شبه مطبق استوانه‌ای مژده‌دار پوشیده می‌شود (HE, $\times 250$).

در فاز فعالیت جنسی (بهار و پاییز) و فاز فعالیت کم جنسی (تابستان)، تفاوتی در ساختار مجرای دفران مشاهده نشد و



شکل ۷- فتومیکروگراف کلیه *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی. (A) در این مقطع لوله‌های کلیوی (RT) و قطعه جنسی (RSS) قابل مشاهده است (HE, $\times 100$). (B) قطعه جنسی دارای اپیتلیوم استوانه‌ای بلند ساده است که در قسمت رأسی سلولها گرانولهای اسیدوفیل زیادی قابل مشاهده است (HE, $\times 250$).

شکل ۸- فتومیکروگراف RSS در *A. elisae* در فاز فعالیت جنسی. که نسبت به رنگ‌آمیزی PAS واکنش مثبت نشان می‌دهد. (RSS)، لوله دیستال کلیه (DT) (PAS, $\times 250$).



بحث و نتیجه‌گیری

نواحی قدیمی 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 قدیمی، 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 ترشحاتی 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

منابع

۲- آذرnia، 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.

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.

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'épididyme 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 its reproductive 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 oviparous 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 (*Iguana iguana* 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 androgen-regulated 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- Röhl, 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 Bão, 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 *Leiopisma 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 Khazaei 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*.