

## مطالعه اسپرماتوژنز و بافت شناسی بیضه گونه ای مارمولک

*Laudakia (Stellio caucasicus: Agamidae) caucasia* در منطقه ده غیبی مشهدجواد بهار آرا<sup>۱\*</sup>، ناصر مهدوی شهری<sup>۲</sup>، علی نعمتی<sup>۱</sup>، زهرا شهرکی نسب<sup>۱</sup>

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: baharara@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۲۳

## چکیده

**هدف:** مارمولک‌ها یکی از متنوع ترین گروه‌های موفق مهره‌داران ساکن بیابان‌های گرم دنیا هستند که مطالعه نحوه تولید مثل و گامتوژنز آنها کانون توجه زیست شناسان می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** این پژوهش از نوع تجربی آزمایشگاهی است و در آن به بررسی روند اسپرماتوژنز و تعیین آستانه تولید اسپرم، طی سه ماهه فصل بهار پرداخته شد. در اواخر هر ماه از فصل بهار، تعداد ۱۰ عدد مارمولک *Laudakia caucasia* جمع آوری شدند. پس از شناسایی و بررسی‌های ریخت شناسی، بیضه‌ها از بدن حیوان خارج و برای انجام مطالعات بافت شناسی میکروسکوپ نوری آماده شدند. داده‌های کمی حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و روش‌های آماری ANOVA و Kruskal-Wallis در سطح  $P < 0.05$  تحلیل شد.

**نتایج:** یافته‌های حاصل نشان داد که فرآیند اسپرماتوژنز در این مارمولک از اوایل ماه فروردین آغاز و به تدریج که هوا گرم می‌شود، فعال تر می‌گردد، به طوریکه در اواخر ماه خرداد اوج اسپرماتوژنز و تولید اسپرماتوزوای بالغ مشاهده شد.

**نتیجه گیری:** مطابق مشاهدات بافت شناسی، روند اسپرماتوژنز در مارمولک *Laudakia caucasia* از اوایل بهار وارد فاز فعال می‌شود و این روند تا اواخر بهار ادامه دارد. اوج تولید اسپرم در ماه خرداد می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** تولید مثل، اسپرماتوژنز، بیضه، مارمولک، *Laudakia caucasia*

## مقدمه

تولید مثل از مهم ترین فعالیت های موجودات زنده است و با توجه به اینکه این پدیده مسئول حفظ گونه در طی نسل های متمادی است درک مکانیسم انجام آن در جانوران بسیار مهم می باشد (۱). خزندگان یکی از متنوع ترین گروه های موفق مهره داران ساکن بیابان های گرم، به عنوان گروهی آمفیون دار، دارای بیضه های واجد لوله های منی ساز بوده و در مطالعات تولید مثل مورد توجه محققین می باشند (۲). Ikeuchi (۳) نشان داده است که مارمولک ها سه نوع چرخه تولید مثلی ثابت، پیوسته و ناپیوسته دارند که پایه و اساس این چرخه ها فعالیت گنادی آنها می باشد. مطالعات وی بیان گر آن است که در چرخه تولید مثلی پیوسته، فعالیت گنادی بلافاصله در دوره جفت گیری افزایش می یابد، اما در سیکل تولید مثلی ثابت، فعالیت گنادی در تمام سال در سطح بالایی قرار دارد. در چرخه تولید مثلی ناپیوسته، فعالیت گنادی در طی دوره جفت یابی ضعیف است، لیکن بعضی اوقات افزایش هایی در طی دوره غیر جفت گیری مشاهده می شود و تنوعات محیطی از قبیل دمای محیط، بارش، دوره نوری و فشارها و ممانعت های فیلوژنتیک، تغذیه و نظایر آن ممکن است نقش مهمی در تعیین مشخصات تولید مثلی مارمولک ها ایفا نماید (۴ و ۵). Torki (۶) چرخه بیضه ای را در مارمولک *Trapelus lessonae* بررسی و نشان داده است که این گونه دو نوع چرخه بیضه ای دارد: در نوع اول فعالیت بیضه ای ممتد، در همه فصول و اغلب در مناطق گرمسیری اتفاق می افتد و در نوع دوم فعالیت بیضه ای فصلی، محدود به دوره های اصلی است و در مناطق معتدل رخ می دهد. مشابه گونه های گرمسیری، در مناطق فصلی نیز فاز احیا کننده، طی فصل بارانی و فاز تخریب در طی فصل خشک دیده شده است (۷). بررسی در گونه *Ophisops elegans* نشان داده است که این گونه واجد دو نوع اسپرماتوژنز مداوم و متناوب می باشد (۸). اسپرماتوژنز در خزندگان، نظیر اکثر مهره داران از تکثیر میتوزی اسپرماتوگونی شروع می شود، سپس اسپرماتوگونی ها بالغ شده و به اسپرماتوسیت های اولیه تبدیل می شوند. هر یک از اسپرماتوسیت های اولیه در طی میوز ۱ به دو اسپرماتوسیت ثانویه و سپس در طی میوز ۲ به دو اسپرماتید تمایز می یابد. هر اسپرماتید نیز در طی اسپرمیوژنز به یک اسپرماتوزوآ تبدیل می شود (۹). بنابراین روند اسپرماتوژنز در مارمولک ها به دو فاز تکثیر شونده میوزی و بلوغ تقسیم می شود (۱۰). Guarino

(۱۱) گزارش نموده است که سلول های بینابینی در بیضه همه مهره داران حضور داشته و منبع اصلی تستوسترون می باشند، این محقق از حجم بیضه، اندازه اپی تلوم و قطر لوله های منی ساز به عنوان شاخص های فعالیت اسپرماتوژنیک استفاده نموده است و مطالعات وی بیان گر آن است که فعالیت اسپرماتوژنیک در طی ماه های خشک سال کاهش می یابد. با توجه به اهمیت شناسائی مکانیسم های تولید مثلی جانوران در منطقه و نیز عدم مطالعه قبلی در مورد مطالعه فرآیند اسپرماتوژنز و بافت شناسی بیضه *Laudakia caucasia* در تحقیق حاضر به این مهم توجه شده است.

## مواد و روش ها

برای انجام مطالعات بیولوژی تولید مثل، چون نیاز به تهیه نمونه های متعدد، در زمان های متفاوت می باشد، بنابراین باید گونه ای را انتخاب نمود که بیشتر در دسترس بوده و از نظر تراکم نیز در منطقه فراوان تر می باشد. با توجه به اینکه *Laudakia caucasia* واجد این خصوصیات می باشد برای انجام این پژوهش انتخاب گردید.

در اواخر هر ماه از فصل بهار سال ۱۳۸۷ تعداد ۱۰ عدد مارمولک از این گونه از منطقه ده غیبی واقع در نزدیکی شهر مشهد در استان خراسان رضوی (36 N, 59E) جمع آوری شد و برای شناسایی آنها از کلیدهای شناسایی معرفی شده توسط اندرسون استفاده گردید. در این گونه چشم ها دارای پلک متحرک، سر پوشیده با پولک های کوچک، پولک های پشتی ناهمسان، پرده گوش بزرگ با قطر حداقل نصف قطر حلقه چشم و پولک های دمی تشکیل حلقه های مجزایی را داده اند (۱۲). پس از انتقال نمونه های جمع آوری شده به آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، ابتدا طول پوزه-مخرج (SVL) اندازه گیری و قسمت های انتهایی شکم با شکافی کوچک باز و گندها از بدن خارج شد. گندها بلافاصله با ترازوی دیجیتالی (sarteius, Germany) با دقت ۰/۰۰۱ گرم، وزن و سپس قطر بزرگ گناد اندازه گیری شد. پس از انجام بررسی های مورفولوژیک، بیضه ها برای بررسی بافت شناسی توسط بوئن تثبیت شدند (۱۳). پس از انجام فیکساسیون، آگیری نمونه ها در درجات صعودی اتانول انجام و سرانجام قالب های پارافینی از آنها تهیه شد. سپس نمونه ها توسط میکروتوم برش های سریال به قطر ۷ میکرون تهیه و به

مطالعه میکروسکوپی نوری مقاطع بافتی نشان داد که بیضه‌ها از لوله‌های منی ساز بسیار زیادی تشکیل شده است و در بین لوله‌ها سلول‌های لایدیگ قرار دارند (شکل‌های ۲ و ۳). آنالیز آماری تعداد و قطر این سلول‌ها در سه ماه فصل بهار افزایش معنی‌داری را نشان داد. این اختلاف به خصوص در نمونه‌های جمع‌آوری شده در خرداد ماه قابل ملاحظه‌تر بود ( $P < 0/001$ ) (جدول ۱).

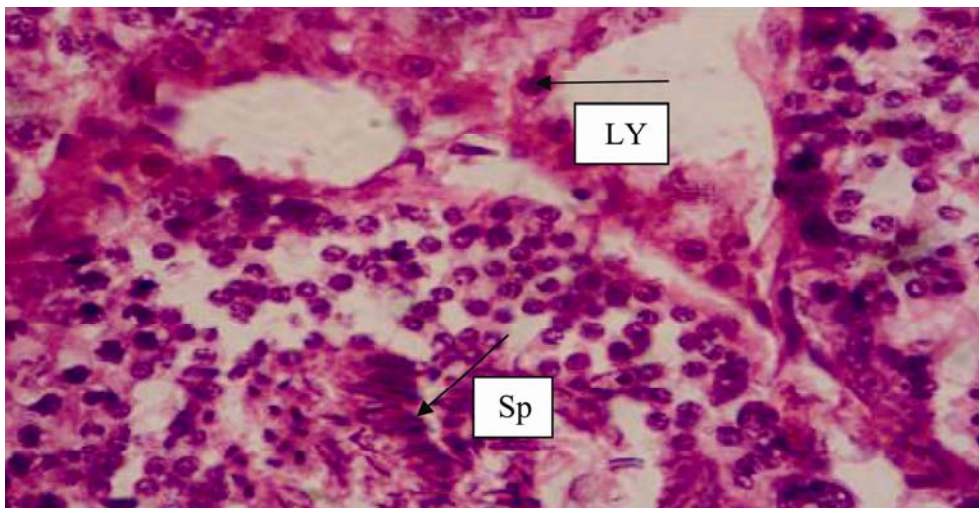
مقایسه آماری میانگین تعداد لوله‌های منی ساز در بیضه نمونه‌های جمع‌آوری شده در سه ماه بهار، کاهش معنی‌دار نشان داد ( $P < 0/001$ ). میانگین قطر لوله‌های منی ساز نیز افزایش معنی‌دار نشان داد ( $P < 0/001$ ). بررسی مقاطع بافتی از نظر تعداد سلول‌های جنسی موجود در لوله‌های منی ساز نشان داد که تعداد اسپرماتوگونی‌ها در سه ماه بهار کاهش معنی‌دار یافته است ( $P < 0/001$ ) و تعداد این سلول‌ها در ماه فروردین نسبت به دو ماه دیگر بیشتر می‌باشد (شکل ۴ و جدول ۱). لیکن تعداد اسپرماتوسیت‌ها در طی این سه ماه اختلاف معنی‌داری نشان نداد ( $P > 0/05$ ). تعداد اسپرماتیدها ( $P < 0/05$ ) و اسپرماتوزوآها ( $P < 0/001$ ) نیز افزایش معنی‌داری از ماه فروردین تا خرداد نشان داد، به نحوی که تعداد این سلول‌ها در ماه خرداد افزایش قابل توجهی داشت (جدول ۱).

روش هماتوکسیلین-ائوزین-هاریس رنگ‌آمیزی شدند. با استفاده میکروسکوپ نوری (Nikon, Japan) تعیین قطر و تعداد لوله‌های منی ساز، تعداد اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها، اسپرم‌ها و سلول‌های لیدیگ و همچنین قطر سلول‌های لیدیگ انجام شد. داده‌های کمی حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و روش‌های آماری ANOVA و Kruskal-Wallis در سطح  $P < 0/05$  تحلیل شد. محققین در کلیه مراحل پژوهش اصول اخلاقی کار با جانوران را رعایت نموده‌اند.

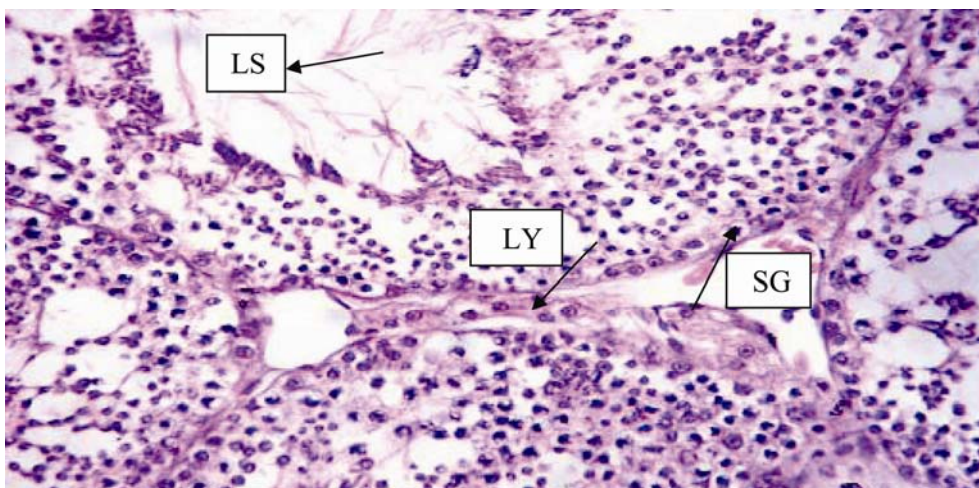
**نتایج:** همانطور که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود، تغییر معنی‌داری در طول پوزه - مخرج (SVL) نمونه‌های جمع‌آوری شده در سه ماه فصل بهار مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). لیکن نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های وزن و طول گناده، تغییرات ادواری بیضه را طی ماه‌های فروردین، اردیبهشت و خرداد بصورت واضحی نشان داد. وزن و قطر بزرگ گناده‌ها در ماه خرداد، افزایش معنی‌داری نسبت به ماه‌های فروردین و اردیبهشت یافته بود ( $P < 0/05$ ). همچنین وزن و حجم بیضه‌ها به طور قابل توجهی افزایش یافته به طوری که در حفره شکمی جانور فضای مشخصی را به خود اختصاص داده بود (شکل ۱).



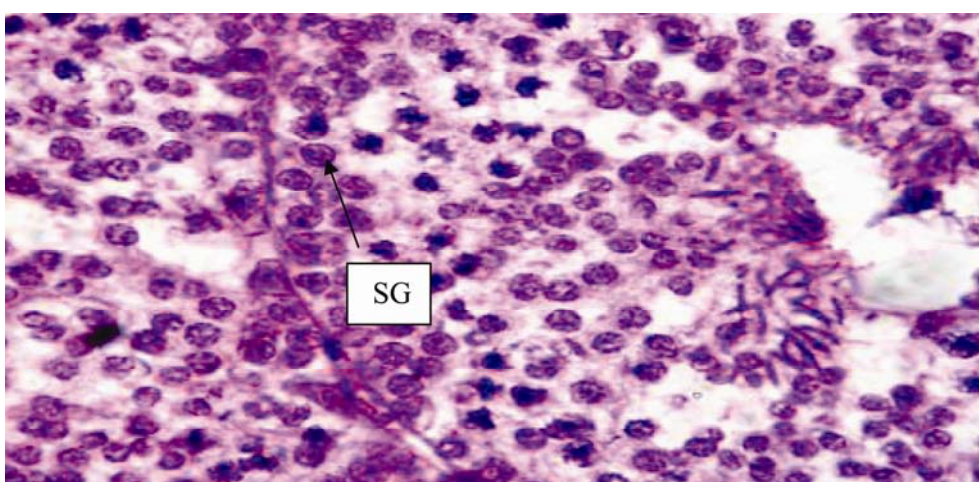
شکل ۱: تصویر استرئو میکروسکوپی از بیضه مارمولک *Laudakia caucasia* در ماه خرداد، اندازه قابل توجه بیضه در حفره شکمی و اپی دیدیم چین خورده مشخصه اوج فعالیت اسپرماتوژنز است (بزرگ نمایی  $\times 6/5$ ).



شکل ۲: مقطع عرضی بیضه مارمولک *Laudakia caucasia* جمع آوری شده در ماه خرداد (بزرگ نمایی:  $1000\times$ ، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، *LY* سلول لایدیگ، *Sp* اسپرماتوزوآ



شکل ۳: مقطع عرضی بیضه مارمولک های *Laudakia caucasia* جمع آوری شده در ماه خرداد (بزرگ نمایی  $400\times$ ، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، *LY* سلول لایدیگ، *LS* لومن منی ساز، *SG* اسپرماتوگونی



شکل ۴: مقطع عرضی بیضه مارمولک *Laudakia caucasia* جمع آوری شده در ماه فروردین، به تعداد زیاد

جدول ۱: مقایسه آماری متغیرهای مطالعه در ماه های مختلف فصل بهار. داده ها بصورت انحراف میانگین  $\pm$  میانگین بیان شده است.

انحراف از میانگین $\pm$ میانگین				
متغیر \ گروه ها	فروردین	اردیبهشت	خرداد	P
طول پوزه - مخرج (میلی متر)	۱۰۴/۸۲۲ $\pm$ ۲/۱۸۳	۱۱۱/۱۴۶ $\pm$ ۲/۴۲۵	۱۱۱/۳ $\pm$ ۲/۱۳۱	۰/۱۵۱
وزن گناد (گرم)	۰/۱۷۸ $\pm$ ۰/۰۳۷۷	۰/۲۷۴ $\pm$ ۰/۰۳۱۵	۰/۳۱۴ $\pm$ ۰/۰۳۴۵	۰/۰۵
طول گناد (میلی متر)	۷/۹۹ $\pm$ ۰/۷۷۴	۹/۶۸۵ $\pm$ ۰/۵۷۹	۹/۷۶ $\pm$ ۰/۴۶۲	۰/۰۵
قطر لوله منی ساز (میلی متر)	۴/۷۱۲ $\pm$ ۰/۲۲۴	۵/۸۸۴ $\pm$ ۰/۲۳۷	۵/۲۵۹ $\pm$ ۰/۱۴۴	۰/۰۰۱
تعداد لوله های منی ساز	۴۵/۴۹۵ $\pm$ ۱/۶۷	۴۲/۳۱ $\pm$ ۱/۱۲۴	۳۴/۳۵ $\pm$ ۰/۶۰۷	۰/۰۰۱
تعداد اسپرماتوگونی	۱۹/۷۷۳ $\pm$ ۲/۲۵۳	۱۴/۶۷۱ $\pm$ ۱/۹۲۲	۸/۸۵۶ $\pm$ ۰/۵۰۱	۰/۰۰۱
تعداد اسپرماتوسیت	۲۶/۶ $\pm$ ۱/۸۲۸	۲۸/۷۲ $\pm$ ۲/۲۷	۳۳/۴۱ $\pm$ ۳/۹۸	۰/۴۵۴
تعداد اسپرماتید	۲۸/۶۳۷ $\pm$ ۲/۷۹۹	۳۰/۱۱۱ $\pm$ ۴/۰۱۷	۴۰/۷۹۲ $\pm$ ۳/۳۲	۰/۰۵
تعداد اسپرماتوزوآ	۳۳/۲۴۱ $\pm$ ۳/۹۳۴	۴۸/۹۹۶ $\pm$ ۶/۵۳۵	۷۹/۹۶۸ $\pm$ ۳/۹۲۸	۰/۰۰۱
تعداد سلول های لیدیک	۹/۱۲۸ $\pm$ ۰/۴۸۸	۱۱/۹ $\pm$ ۰/۴۳۴	۱۳/۱۷۵ $\pm$ ۰/۵۹۳	۰/۰۰۱
قطر سلول های لیدیک (میلی متر)	۸/۶۵۴ $\pm$ ۰/۱۶۲	۹/۲۰۲ $\pm$ ۰/۲۸۸	۱۰/۶۸۹ $\pm$ ۰/۱۳۵	۰/۰۰۱

## بحث

با توجه به فقدان هر گونه مطالعه قبلی در زمینه بافت شناسی بیضه و فرآیند اسپرماتوژنز در مارمولک *Laudakia caucasica* مطالعه حاضر جهت بررسی تغییرات ریختی و بافتی گناد نر و تعیین روند اسپرماتوژنز در این گونه انجام شد.

مطالعات قبلی نشان داده است که اکثر مارمولک ها، دارای سه فاز اسپرماتوژنز، رشد گناد و اسپرمیوژنز می باشند (۱۴). عملکرد نرمال این روند می تواند توسط فاکتورهای محیطی از جمله دوره نوری، تغییرات دمایی هوا، رژیم غذایی و فشارها و ممانعت های فیلوژنیک تحت تاثیر قرار گیرد (۴). در مطالعه حاضر برای بررسی اثر تغییرات دمایی بر روی روند اسپرماتوژنز و بافت بیضه، نمونه های مورد نیاز از دهستان طرق (ده غیبی) که در ۵ کیلومتری شهر مشهد قرار گرفته و از نظر شرایط آب و هوایی و میزان بارندگی منطقه، از نوع معتدل است جمع آوری گردید.

مطالعات Toriki (۱۵) روی روند اسپرماتوژنز در مارمولک ها نشان داده است که در نتیجه شرایط آب و هوایی و مدت زمان خواب زمستانی، دو دوره تولید مثلی را می توان برای مارمولک های مناطق معتدل در نظر گرفت: دوره تخریب یا شیب منفی (که همزمان با شروع اسپرماتوژنز در بهار شروع می شود و پس از خواب زمستانی می باشد) و دوره احیا یا شیب مثبت (که همزمان با دوره خواب زمستانی است).

سیستم جفت گیری نر شامل یک جفت بیضه زرد رنگ، یک جفت مجرای اسپرمی و یک جفت همی پنیس می باشد. بیضه سمت راست بالاتر از بیضه سمت چپ قرار گرفته است و چون در نمونه های جمع آوری شده، زمان زیادی از بیدار شدن از خواب زمستانی آنها نگذشته بود، بیضه ها مرحله استراحت و شیب مثبت را کامل کرده بودند (۱۴) و هنگام مشاهده با استریو میکروسکوپ، بیضه ها حالتی چین دار و مجرای اسپرمی حالت زیگزاکی نشان می داد.

حرکت می‌کند از تعداد این سلول‌ها کاسته می‌شود به طوری که در اوایل مهر ماه به سختی می‌توان سلول‌های زاینده را در لومن منی ساز مشاهده نمود.

شمارش تعداد اسپرماتوسیت‌ها تفاوت معنی‌داری در طی ماه‌های فروردین، اردیبهشت و خرداد نشان نداد و احتمالاً دیرتر بیدار شدن از خواب زمستانی باعث شده است تا دیرتر نیز وارد فاز تولید مثلی شوند، در نتیجه در طی ماه‌های بعدی روند کاهشی تعداد اسپرماتوسیت‌ها رخ خواهد داد. همچنین بررسی تعداد اسپرماتیدها نیز نشان داد که تعداد این سلول‌ها در طی سه ماه فصل بهار روند افزایشی داشته و احتمالاً این موضوع به دلیل افزایش فرایند اسپرم‌زایی می‌باشد.

شمارش تعداد لوله‌های منی ساز نیز نشان داده است که تعداد این لوله‌ها در ماه‌های فصل بهار یکسان نمی‌باشد. به عبارت دیگر تعداد لوله‌های منی ساز از فروردین تا خرداد روند کاهشی داشته و این امر احتمالاً به دلیل افزایش روند اسپرماتوزن در طی این سه ماه و کاهش تعداد سلول‌ها و لوله‌ها در طی فاز تخریب می‌باشد.

تغییرات قطر لوله‌های منی ساز نیز روند منظمی نداشته و قطر این لوله‌ها در ماه اردیبهشت بیشتر از قطر لوله‌ها در فروردین و خرداد ماه بود. مشابه این نتیجه را *Torki* در بررسی زمان اسپرماتوزن در *Ophisops elegans* از خانواده *Lacertidae* گزارش نموده است، مطالعات وی بیان‌گر آن است که در طی ماه خرداد قطر لوله‌های منی ساز کمتر از اردیبهشت و مشابه قطر لوله‌ها در ماه فروردین می‌باشد (۱۶). بطور عموم تولید مثل بین آمنیون داران تحت کنترل هورمونی می‌باشد و تستوسترون یک نقش مهم در تولید مثل نر ایفا می‌کند. در بیضه‌ها، این هورمون توسط سلول‌های لایدیگ تولید می‌شوند. بافت بینابینی بین لوله‌های منی ساز محتوی سلول‌های لایدیگ نسبتاً کمی می‌باشد (۱۷). در مارمولک‌های *Hemidactylus flaviviridis* و *Podarcis dubi* سلول‌های لایدیگ در مرحله سکون فراوان‌ترند و در بیضه‌های فعال کمتر و پراکنده می‌باشند، به هر حال، تعداد کم سلول‌های لایدیگ در بیضه‌های فعال می‌تواند ناشی از پخش سلول‌های بینابینی به عنوان یک نتیجه از انبساط لوله‌های منی ساز می‌باشد. این گزارش‌ها با مشاهدات ما در مورد افزایش قطر لوله منی ساز در خرداد مطابقت دارد (۱۸). برخی مطالعات نشان داده است که اسپرماتوزن در گونه *uromastix aegyptius* در اوایل بهار فعال است و بخش اصلی اپی تلیوم منی ساز شامل اسپرماتیدها در مراحل مختلف بلوغ

میانگین اندازه گیری طول پوزه - مخرج نیز موید این نتیجه می‌باشد که نمونه‌ها کاملاً بالغ بودند چرا که میانگین *SVL* در ماه‌های فروردین، اردیبهشت و خرداد در نمونه‌های جمع‌آوری شده اختلاف معنی‌دار نشان نداد که با گزارش *Torki* (۱۶) مطابقت دارد. طبق گزارش *Torki* (۱۵) مارمولک‌ها پس از بیدار شدن از خواب زمستانی و گذر از مرحله احیاء (شیب مثبت) وارد فاز فعال می‌شوند. مشخصه بارز این فاز وقوع شدید اسپرماتوزن است. در این فاز هر دو نوع اسپرماتوسیت‌های اولیه و ثانویه مشاهده می‌شوند. این مطلب با مشاهدات ما مطابقت داشت. مطالعات انجام شده روی *Trapelus lessonae* نشان داده است که این نوع از مارمولک‌ها دو نوع سیکل بیضه‌ای را نشان می‌دهند:

۱- فعالیت مداوم بیضه‌ای در طول همه فصل‌ها، که این روش بیشتر در مناطق گرمسیری رخ می‌دهد.

۲- فعالیت فصلی بیضه‌ای یا متناوب که محدود به دوره‌های فصلی است و در مناطق معتدل رخ می‌دهد (۱۷). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز نشان داده است که با توجه به آب و هوای مشهد فعالیت بیضه‌ای در مارمولک *Laudakia caucasia* از نوع فعالیت فصلی بیضه‌ای یا متناوب می‌باشد (۱۷). در بهار گونه مورد مطالعه ما، حداکثر فعالیت زیستی را از خود نشان می‌دهد که این موضوع با نتایج حاصل از بررسی‌های *Torki* (۱۷) روی گونه *Trapelus lessonae* مطابقت دارد. همچنین وی گزارش نموده است که اسپرماتوزن در این مارمولک‌ها شامل سه فاز تولید مثلی می‌باشد: فاز اول که در بهار رخ می‌دهد و وی از آن تحت عنوان فاز فعال یاد می‌کند. در طی این فاز اسپرماتوزوآ در لومن لوله منی ساز مشاهده می‌شود و فرایند اسپرماتوزن رخ می‌دهد (۱۵). بررسی‌های بافتی در طی بهار حالتی مشابه فاز اول را نشان داد اما به جرات می‌توان گفت که فعالیت اسپرماتوزن در خرداد ماه بیشتر و قوی‌تر رخ می‌دهد که این بخش از نتایج ما با یافته‌های *Torki* (۱۵) در فاز فعال بطور کامل مطابقت دارد. شمارش اسپرماتوگونی‌ها نیز نشان داده است که تعداد این سلول‌ها به تدریج از فروردین تا خرداد روند کاهشی دارد و بیان‌گر آن است که در طی این سه ماه روند اسپرماتوزن در فاز فعال قرار دارد. دلیل قوی بر این موضوع، مطالعه *Torki* (۱۴) می‌باشد. وی گزارش نمود که در طی اسپرماتوزن در فاز تخریب که پس از خواب زمستان رخ می‌دهد بیشترین تعداد سلول‌های زاینده در این فاز مشاهده می‌شود و به تدریج که این روند پیشرفت می‌نماید و به سمت زمستان خوابی

## منابع

1. Azarneia M, Tahmtani I, Rajabi M. Introduction on animal reproduction. Jahad Daneshgahi of Tarbiat moallem university. 2007.
2. Kevin M, Gist H. Cytological evaluation of spermatogenesis within the germinal epithelium of the male European Wall Lizard, *Podarcis muralis*. Journal of morphology. 2003; 258: 296-306.
3. Ikeuchi I. Male and female reproductive cycle of the japons Gecko *japonicus*, in Kyoto, japan. Journal of herpetology. 2004; 38(2): 269-274.
4. Gallegos H, Mensez-de La FR, Cruz M. Continuous spermatogenesis in the lizard *Sceloporus biganthalis*(Sauria:Phrynosomatidae) from high elevation habitat of central Mexico. Herpetologica. 2002; 54(4): 415-421.
5. Pudney J. Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. Microscopy Research and Technique. 2005; 32(6): 459-497.
6. Torki F. The role of hibernation on testicular cycle and testicular its activation during dormancy in *Trapelus lecleopus* (Reptilia:Agamidae). Salamandra. 2007; 43(4): 245-248.
7. Torki F. Reproduction of the snake-eye lizard, *Ophisops elegans* Menetries, 1832 in western Iran (Squamata:Sauria:Lacertidae). Herpetozoa. 2007; 20(1): 57-66.
8. Sherbrooke WC. Reproductive cycle of a tropical Lizard. *Neusticurus ecleopus* Cope, in peru. Biotropica. 1975; 7:194-207.
9. Pough FH, Andrews RM, Cadle JE, Crump AH. Herpetology. Upper Saddle River. NJ (Prentice Hall). 1998; 579.
10. Ferreira A, Dolder H. Cytochemical study of spermiogenesis and mature spermatozoa in the lizard *Tropidurus itambere* (reptilian, Squamata). Acta histochem. 2003; 105(4): 339-352.
11. Guarino R. Interstitial cell cycle of *Ameiva ameiva* (Sauria, Teiidae) in the cerrado Region of central Brazil. Journal of Morphology. 1997; 233: 99-104.
12. Anderson SC. Preliminary Key to the Turtles. Lizards and Amphisbaenians of Iran. Fieldiana Zoology. 1974; 65(4): 27-43.
13. Gustavo HC. Spermiogenesis and testicular cycle of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) in the Cerrado of central Brazil. Amphibia-Reptilia. 2001; 22: 217-233.
14. Torki F. Study on biosystematic of western Iranian lizards. Msc thesis, Razi university of Kermanshah. 2007.

هستند و لومن آن با اسپرماتوزوآ پر شده است که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۱۹). در پژوهش حاضر، مطالعه قطر سلول‌های لایدیگ نیز در ماه خرداد به طور معنی‌داری بیشتر از دو ماه فروردین و اردیبهشت افزایش نشان داده است. Beate (۱۸) در تحقیق روی مارمولک‌های نر جکو گزارش نموده است که انکلوژیون‌های لاییدیگ در سلول‌های لاییدیگ *Podarcis dubia* به مقدار زیاد در بیضه‌های با فعالیت تولید مثلی مشاهده شده است. احتمالاً در تحقیق حاضر افزایش تعداد و قطر سلول‌های لاییدیگ در ماه خرداد نسبت به ماه‌های فروردین و اردیبهشت به دلیل فاز فعال تولید مثلی در این ماه می‌باشد این نتیجه با یافته‌های Beate (۱۸) سازگاری دارد. همچنین نتایج حاصل از این مطالعه با گزارشات منتشر شده در مورد مارمولک *Lepidodactylus lugubris* سازگاری دارد. این مارمولک در منطقه معتدل زندگی می‌کند و در اواخر زمستان برگشت بیضه‌ای را نشان می‌دهد و بیشترین حجم بیضه‌های آن در طی ماه خرداد مشاهده می‌شود (۲۰). اسپرماتوزن در مارمولک *Lepidodactylus lugubris* اوایل بهار فعال است و اسپرماتیدها در مراحل مختلف بلوغ مشاهده می‌شوند و فضای داخلی لوله‌های منی ساز با اسپرماتوزوآ پر شده است که با نتایج تحقیق ما مطابقت دارد. مطابق این گزارش اندازه سلول‌های بینابینی ارتباط مستقیم با تغییرات در اپی‌تلیوم منی ساز و اپیدیدیم دارد و هسته بیشتر سلول‌های بینابینی یک سیر مشخص در اوج اسپرماتوزن نشان می‌دهد. این گزارش نیز با نتایج حاصل از تحقیق حاضر در مورد تعداد و اندازه سلول‌های لاییدیگ مطابقت دارد (۲۰).

## نتیجه‌گیری

به‌حرفه‌ای نتایج این پژوهش بیان‌گر آن است که اسپرماتوزن در مارمولک *Laudakia caucasia* از اوایل بهار وارد فاز فعال می‌شود و این روند تا اواخر بهار ادامه داشته و اوج تولید اسپرم در ماه خرداد می‌باشد.

## تشکر و قدردانی

از همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، بویژه سرکار خانم‌ها دکتر سعیده ظفر بالانژاد، سعیده ثمره موسوی و زهره میرآخوری که در اجرای این طرح تحقیقاتی همکاری داشته‌اند سپاس‌گزاری می‌نمایم.

15. Torki F. Spermatogenesis in the agama *Trapelus lessonae* (Agamidae:Reptilia) in the Central Zagros Mountains, Iran. *Zoology in the middle East*. 2006; 38: 21-28.
16. Torki F, Gharzi A. Spermatogenesis timing in a population *Ophisops elegans* (Sauria: Lacertidae), western Iran , *Asiatic Herpeyology Researches*. 2008; 11: 130-133.
17. Torki F. The role of hibernation on the testicular cycle and its activation in *Trapelus lessonae* (Reptilia: Agamidae) during dormancy. *Salamandra*. 2007; 43(4): 245-248.
18. Beate R, Monica UG, During V. Sexual characteristics and spermatogenesis in males of the parthenogenic gecko *Lepidodactylus lugubris* (Reptilia, Gekkonidae). *Zoology*. 2008; 3: 385-400.
19. Osama A. Abu-Zinadah. Variation in testicular histology of the Spiny Tailed Lizard *Uromastix aegyptius microlepis* During Hibernation and Active Periods. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2008; 11(12): 1615-1619.
20. Beate R. *Lepidodactylus lugubris* (Dumeril and Bibron). *Sauria*. 2008; 24(3): 545-550.



## **Study of Spermatogenesis and Testes Histology of *Laudakia caucasia* (*Stellio caucasicus*: Agamidae) Species in Deh Gheibi Zone of Mashhad**

Baharara J<sup>1\*</sup>, Mahdavi shahri N<sup>2</sup>, Nemati A<sup>1</sup>, Shahraki nasab Z<sup>1</sup>

1. Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran

2. Department of Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

\* Email corresponding author: baharara@yahoo.com

Received: 12 Apr. 2011

Accepted: 25 Jan. 2012

---

### **Abstract**

**Aim:** Lizards are one of the most diverse and successful vertebrates in hot deserts of the world that biologists focus on their reproduction and gametogenesis.

**Materials and Methods:** This research is experimental study and the aim of that is to investigation of spermatogenesis steps and sperm production limit identification belongs spring three months. 10 male lizards (*Laudakia Caucasia*, Syn: *Stellio caucasicus*: Agamidae) were collected at the end of each month. After determination and morphological studies, their testes were dissected of animal body and prepared for histological studies using light microscopy. Quantitative data were analyzed using SPSS by ANOVA and Kruskal-Wallis tests ( $P<0.05$ ).

**Results:** Results showed that the spermatogenesis is started in the lizard from beginnings April and is gradually activated more with warming weather, As maximum spermatogenesis and mature spermatozoa production were observed in the end of June.

**Conclusion:** Based on histological evidences, spermatogenesis step is activated from early spring and is continued to the late of spring. Maximum sperm production is in June.

**Keywords:** Reproduction, Spermatogenesis, Testes, Lizard, *Laudakia Caucasia*

