

مطالعه هیستولوژیک و مرفومتريک رحم در خفاش میوه خوار مصری (*Rossetus aegyptiacus*)

زهرا قبادیان^۱، فرنگیس قاسمی^{۲*}
(تاریخ دریافت ۹/۵/۶؛ تاریخ پذیرش ۹۲/۶/۱۲)

چکیده:

بقای نسل موجودات زنده وابسته به توانایی تکثیر در آنهاست و شناخت دستگاه جنسی در حفاظت از موجود نقش اساسی دارد. با توجه به نقش خفاش در اکوسیستم و اهمیت حفاظت از آنها، تغییرات ساختار میکروسکوپی رحم خفاش میوه خوار مصری در جنس ماده بررسی گردید. در تحقیق حاضر، ۳ خفاش میوه خوار مصری (*Rossetus aegyptiacus*) در تیر ماه از غار سنگ تراشان (فارس) صید نموده و به آزمایشگاه منتقل گردید. خفاش ها را بیهوش و رحم آنها جدا و با کولیس توزین گردید. پس از اندازه گیری و ثبت خصوصیات ظاهری رحم، آن را در محلول فرمالین ۱۰٪ تثبیت نموده و پس از دو هفته مطابق با روش استاندارد، آگیری، شفاف سازی کرده و با پارافین جایگزین نموده، با میکروتوم دوار، مقاطع عرضی و طولی ۵ میکرونی تهیه گردید. مقاطع با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری مطالعه شد. رحم در این خفاش دو شاخه و هفتی با وزن ۰/۴۶g واقع در حفره لگن بین مثانه و رکتوم است. لوله تخم بر با وزن ۰/۳۸g و دارای اپیتلیوم مژه دار و سلول ترشعی است. آندومتر رحم غده ای با اپی تلیوم استوانه ای در هر دو شاخ مساوی رحم وجود دارد. میومتر شامل لایه ضخیم حلقوی داخلی و لایه طولی نازک خارجی از عضله صاف و عروق زیاد می باشد. واژن با دیواره های نازک داخل حفره لگن است و قسمت کوچکی از آن توسط صفاق پوشیده شده است. بنا به نتایج بدست آمده، رحم با حفظ طرح کلی پستانداران، ساختاری نزدیک به پریمانتها دارد که با تک قلوژیایی آنها سازگار است.

کلمات کلیدی: خفاش ماده، لایه های رحم، بافت شناسی

^۱ گروه زیست شناسی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

^۲ دانشجوی دکتری آناتومی، هیئت علمی گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران

* Email: ghassemi.fr@gmail.com Tel: 09177136138

مقدمه

خفاش میوه‌خوار (*Rossetus aegyptiacus*) دارای زندگی اجتماعی بوده به صورت کلونی و در کنار یکدیگر با هم زندگی می‌کنند و غارها خرابه‌ها و درختان را برای استراحت انتخاب می‌کنند (Jones & Teeling, 2006). این گونه در طول روز پرواز دارد و تنها گونه میوه‌خواری است که قادر به مسیریابی از طریق پژواک است (Kunz & Feneton, 2006). خفاش‌های بزرگ به دلیل تغذیه میوه‌خواری و چسبیدن گرده گل‌ها به موهای بدنشان هنگام تغذیه و همچنین دفع دانه میوه هنگام پرواز و جابجایی، نقش مهمی در گرده-افشانی و پراکندن دانه‌ها دارند لذا در بازیابی جنگل‌های بارانی و جوان‌سازی اکوسیستم نقش دارند (Walker & Molur, 2003).

موجودات برای بقا و سازگاری با شرایط زندگی خود، روش‌های تولیدمثلی خاصی انتخاب می‌کنند (Akmali et al., 2007). در خفاش‌ها به دلایل زیست محیطی و شرایط محیطی تنظیم‌های مختلف تکامل یافته و استراتژی‌های مختلف باروری ایجاد شده است (Neuweiler, 2000) و از طریق این استراتژی و زمان مطلوب تولد فرزندان، شانس بقا افزایش می‌یابد. در مناطق معتدله به دلیل کوتاه بودن تابستان، چرخه پرورش باید به طور معمول با فراوانی حشرات هماهنگ باشد پس زمان زایش باید در یک دوره زمانی بسیار کوتاه رخ دهد. به عنوان مثال در خفاش‌های گونه *Pipistrellus ceylonicus* برای جبران این مسئله و کوتاهی زمان، تأخیر در تخمک‌گذاری و لقاح دیده شده است (Racey, 1979).

خفاش‌ها دارای متنوع‌ترین سیستم جفت‌گیری نسبت به همه پستانداران هستند. اغلب آن‌ها سیستم چند همسری دارند و برای حفظ و بقای

خود، راهکارهای متفاوتی در جهت تولیدمثل انتخاب کرده‌اند. گونه *Plecotus towensendii* تخمک‌گذاری را به تأخیر می‌اندازد، در خفاش کوتوله میوه‌خوار *Haplonycteris fischeri* پس از لقاح، جایگزینی جنین را به تعویق می‌اندازد (Heideman, 1989) و در *Pipeistrellus kuhlii* ذخیره اسپرم در رحم و مهبل ماده صورت می‌گیرد (Sharifi et al., 2004).

در طول فصول بارداری و پرورش نوزاد، نر و ماده آن‌ها جدا زندگی می‌کنند و ماده‌ها برای کاهش تأثیر نوسانات دما در تماس نزدیک با دیگر اعضای کلنی در لانه قرار می‌گیرند (Grzimek, 2003). متأسفانه با کم شدن پناهگاه‌های طبیعی و حساسیت آنها انقراض بعضی گونه‌ها رو به افزایش است. در ۵ سال گذشته از گونه‌های شناخته شده، ۸۰ گونه خفاش منقرض شده چهار گونه دیگر نیز در حال انقراض است و گونه‌های میوه‌خوار هم بیشتر در معرض خطرند (Jones & Teeling, 2006).

با توجه به نقش مهم این دسته از موجودات در اکوسیستم و لزوم حفاظت آن‌ها در طبیعت از یک طرف و کم بودن اطلاعات زیستی آن‌ها در کشور، لزوم مطالعه بیشتر در ارتباط با زیست‌شناسی خفاش‌ها را نشان می‌دهد. بنابراین با وجود تهدید انقراض نسل خفاش‌ها و اهمیت آن‌ها در کشاورزی، خفاش‌ها به عنوان بخش مهمی از طبیعت، نیاز به حفاظت بیشتر دارند. افزایش دانش عمومی سهم بزرگی در حفاظت این موجودات دارد. در این پژوهش به مطالعه ساختار اندام‌های تولید مثلی در خفاش میوه‌خوار مصری پرداخته شد تا با شناخت بیشتر از تولید مثل در این گونه، به بقای نسل آنها کمک نمود و گامی کوچک برای حفاظت این موجود نافع برداشته شود.

مواد و روش‌ها

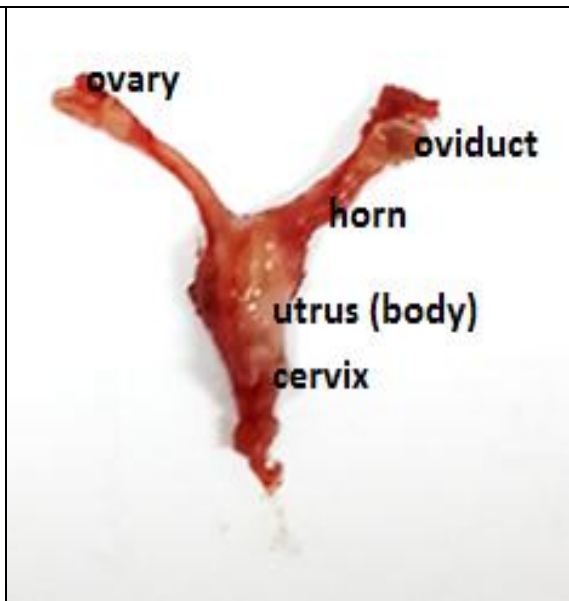
در تحقیق حاضر طی دو بارصید در اوایل تیرماه، ۳ خفاش میوه خوار مصری ماده (*Rossetus aegyptiacus*) از غار سنگ تراشان واقع در شهرستان جهرم (فارس) با کمک نصب توری نامرئی (mist net) در مدخل دالانهای تاریکی که از ریزش سنگ بوجود آمده است صید شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه با کمک کلیدهای شناسایی معتبر نوع گونه تایید گردید. جنس ماده با داشتن نوک سینه برجسته و جثه کوچک از نوع نر با آلت تناسلی خارجی مشخص شد (شکل ۱). پس از بیهوش کردن خفاش‌ها با کلروفورم و با رعایت اخلاق، آنها را تشریح کرده سپس رحم را جدا نموده و پس از توزین و عکسبرداری، نمونه‌ها را در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده تا تثبیت گردید بعد از گذشت ۱۴ روز و فیکس شدن بافت‌ها، نمونه‌ها را مطابق با روش استاندارد بافت شناسی، آبگیری، شفاف سازی و جایگزین با پارافین نموده و سپس از آنها با میکروتوم دوار، مقاطع عرضی و طولی ۵ میکرونی تهیه گردید. مقاطع بدست آمده را با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین در بزرگنمایی (۴۰X و ۱۰X) مطالعه و عکسبرداری شد.

یافته‌ها

رحم دوشاخه و در حفره لگن بین مثانه در قدام و رکتوم در خلف قرار دارد (شکل ۲). وزن رحم $g/46$ و وزن لوله تخم بر $g/38$ بود. تخمدانها در بخش فوقانی لگن در فرو رفتگی خفیفی در دیواره جانبی لگن قرار می‌گیرد (شکل ۳). آندومتر رحم غده ای با اپی‌تلیوم استوانه ای در هر دو شاخ رحم وجود دارد، میومتر شامل یک لایه ضخیم حلقوی داخلی و یک لایه طولی نازک خارجی از عضله صاف با عروق زیاد است می‌باشد (شکل ۴، ۵ و ۶). واژن با دیواره‌های نازک داخل حفره لگن واقع شده است و قسمت کوچکی از آن توسط صفاق پوشیده شده است (شکل ۷) و سرویکس با بافتی مشابه با مهبل مشاهده گردید (شکل ۷). در مقاطع بدست آمده از مهبل و لوله رحمی خفاش مورد مطالعه در تیر ماه، تعداد زیادی اسپرم مشاهده گردید (شکل ۸). اسپرم‌ها بصورت خطی در رحم و لوله رحمی بطوری آرایش یافته که جهت گیری سر آنها بیشتر بطرف اپیتلیوم است. اسپرم‌ها دارای سر، قطعه میانی و دم مطابق با طرح عمومی پستانداران است (شکل ۸). لوله تخم بر دارای اپیتلیوم مژه دار و سلول ترشحی است (شکل ۹). جنین کل رحم و شاخه‌های آن را طی بارداری اشغال می‌کند لذا رحم بسیار بزرگ شده و محوطه شکمی را پر می‌کند (شکل ۱۰)



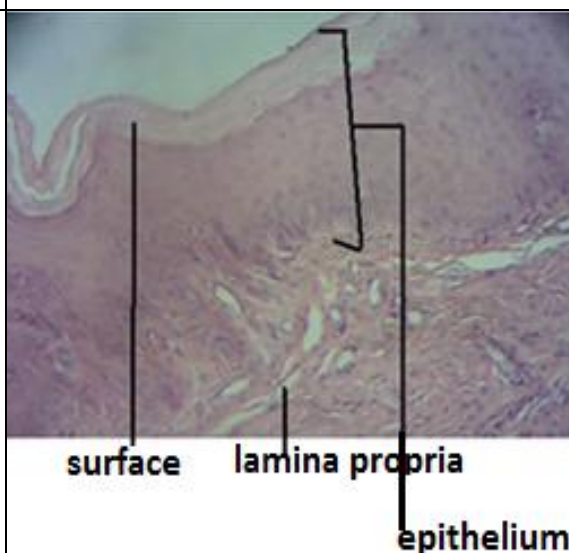
شکل ۱. خفاش میوه خوار مصری ماده



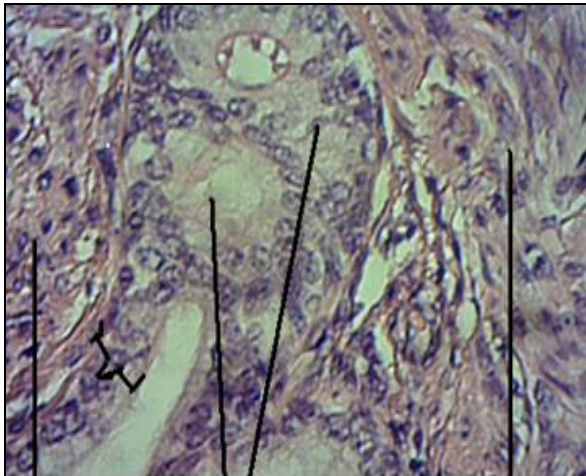
شکل ۲. دستگاه جنسی خفاش میوه خوار مصری ماده



شکل ۳. موقعیت رحم در بدن خفاش میوه خوار مصری

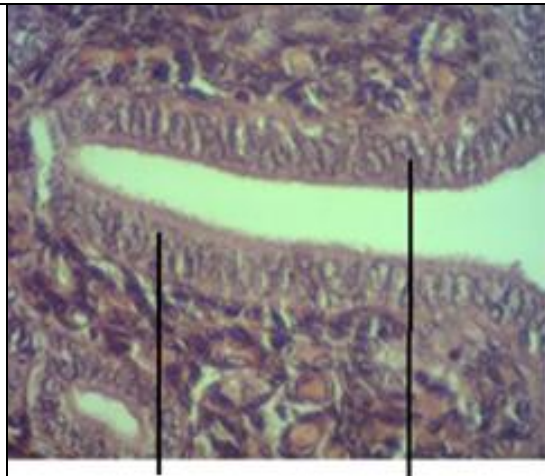


شکل ۴. ساختار بافتی رحم خفاش میوه خوار مصری



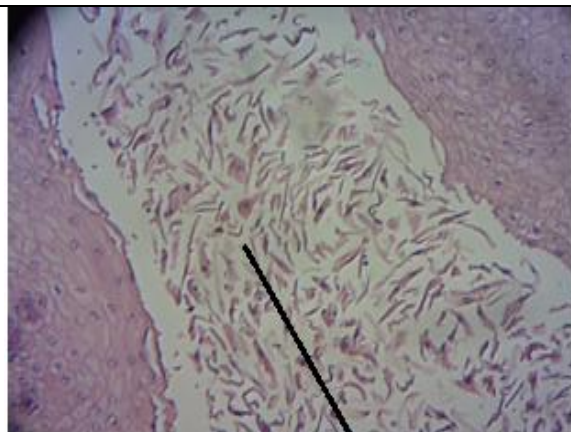
connective tissue
uterian gland
smooth muscle

شکل ۵. غدد رحمی خفاش میوه خوار مصری



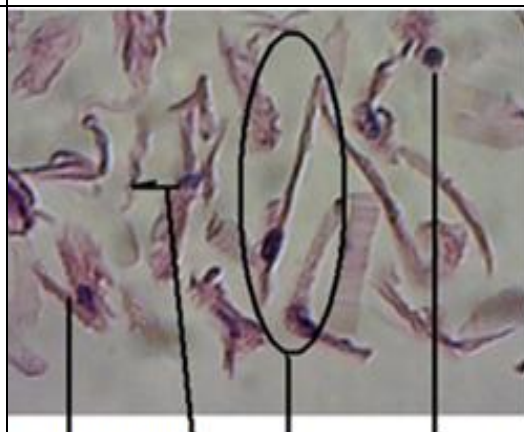
simple columnar
basal layer

شکل ۶. ساختار اپیتلیوم رحم خفاش میوه خوار مصری



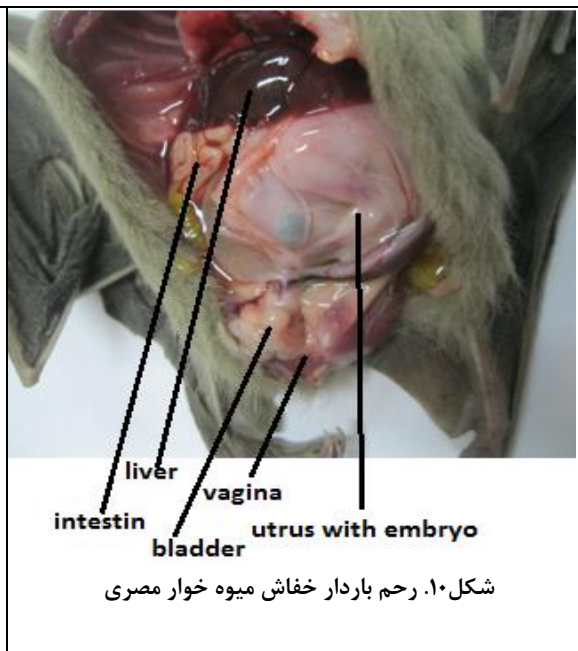
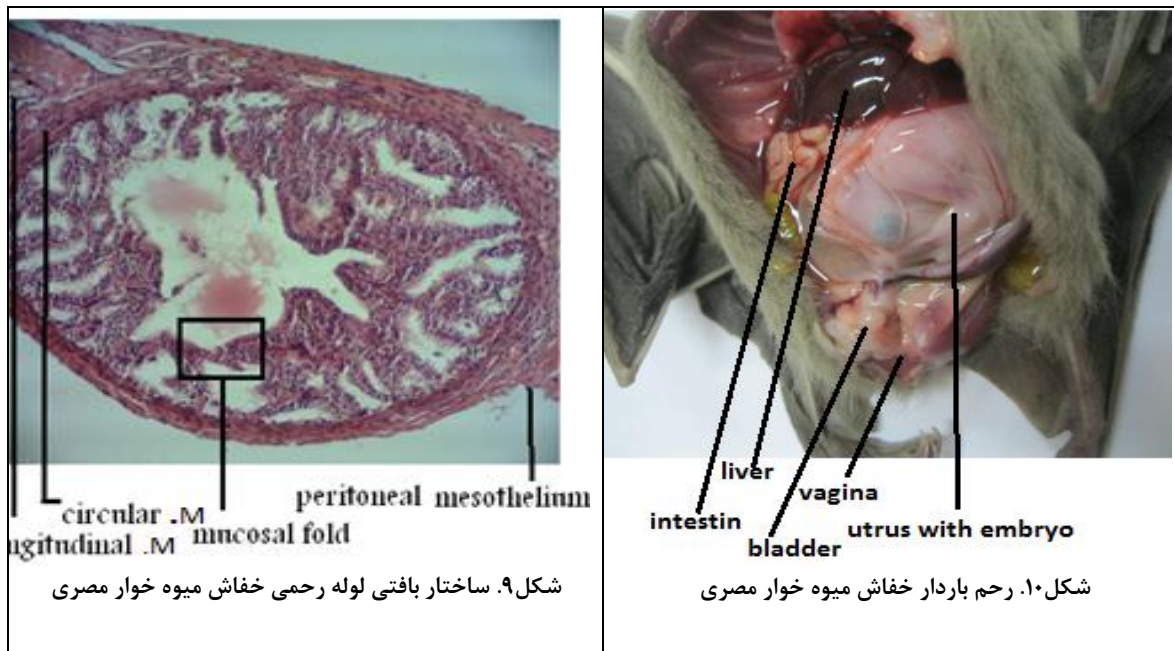
sperm in canal

شکل ۷. ساختار مهبل رحم خفاش میوه خوار مصری



superficial cell
sperm
basal cell
intermediat cell

شکل ۸. اسپرم در مهبل خفاش میوه خوار مصری



دارای رحمی ساده با سیکل قاعدگی مشخص است که در هر تخمک‌گذاری یک عدد تخمک آزاد می‌کند و چندین بار دوره فعلی دارد (Rasweiler and Badwaik 1996; Speakman & Racey, 1986).

در گونه *C.perspicillata* حتی دهانه رحم آغشته به خون دیده شده که با چشم غیر مسلح قابل تشخیص است (Rasweiler and Badwaik 1996) اما در این گونه چنین پدیده‌ای دیده نشد که البته با تعداد کم خفاش مشاهده شده نمی‌توان در این مورد با قطعیت نظر داد.

رحم هفتی شکل خفاش میوه خوار امکان تحمل جنین بزرگی که بیش از ۴ ماه در رحم بسر می‌برد را ایجاد می‌کند گرچه جایگزینی در بدنه رحم می‌گیرد (Speakman & Racey, 1986). رحم شامل سه قسمت قسمت گرد و گنبدی شکل رحم در قسمت فوقانی و محل اتصال لوله‌های رحمی (Fundus)، جسم رحم که از ته رحم تا سرویکس ادامه دارد (Body) و تنگه باریک بین رحم و سرویکس (Isthmus) است

بحث

دستگاه تولید مثلی خفاش ماده در داخل لگن قرار دارد که برای حفاظت این اندام‌ها بخصوص در دوران بارداری و حفاظت جنین، اهمیت زیادی دارد (شکل ۲). ارتجاعی بودن این ناحیه بواسطه اپیتلیوم قطور، بدون کراتین و بخش موکوسی قطور، برای جا دادن جنین طی بارداری ضروری می‌باشد. بطوریکه رحم در دوران بارداری قسمت اعظم حفره شکمی را پر می‌کند (شکل ۱۰). گرچه کل اندام‌های جنسی در حالت غیر بارداری به نسبت بدن خفاش، اندازه کوچکی دارد و در ارتباط نزدیک با دستگاه ادراری است (شکل ۳). این طرح طبق طرح عمومی پستانداران است (Mossman et al., 1978).

چهار نوع رحم در خفاش‌ها گزارش شده و در این گونه، خفاش هفتی شکل با دو شاخ بلند است. بدنه حجیم‌ترین قسمت رحم و دو شاخ تقریباً مساوی است (شکل ۲) گرچه در بعضی گونه‌های خفاش، شاخ راست بزرگتر از شاخ چپ می‌باشد (Mossman et al., 1977). گونه *soricina*

ای نازک ولی بافت الاستیک قطور که به باز و بسته شدن رحم کمک می‌کند. این ناحیه مانند دیگر پستانداران (Terborgh & Goldizen, 1985) منبع اصلی ترشح موکوس در طی سیکل قاعدگی و حاملگی است.

لوله رحمی (اوبداکت) دارای ماهیچه‌های حلقوی و طولی است که برای انتقال بلاستوسیست به رحم لازم است. مزوتیلیوم پیرامونی از نوع بافت همبند می‌باشد که لوله رحمی را احاطه کرده است (شکل ۹). بزرگ بودن لومن میانی نشان می‌دهد که مقطع از ناحیه امپولا است. ماهیچه در زیر پروتئال از نوع طولی بوده و سپس در زیر آن ماهیچه‌های حلقوی ضخیم و ماهیچه داخلی هم طولی مشاهده گردید. انتظار میرفت به علت حضور اسپرم سنگین تر باشد که این طور نبود (Buchanan & Garfield, 1984).

در برشهای عرضی تهیه شده از لوله رحمی سرخرگ و سیاهرگهای فراوانی مشاهده شد. اپیتلیوم مخاطی از نوع استوانه‌ای ساده است و گاهی چند سلول پایه دارد که سلولهای پوششی پایه دارای دو نوع سلول مژه دار و سلولهای ترشحي (غددی) می‌باشد (شکل ۵) که با توجه به نقش حساس این ناحیه در لقاح و مراحل اولیه جنینی (کلیواژ) کاملاً قابل انتظار است (Mossman et al., 1977).

حضور اسپرم در دستگاه جنسی ماده در فصل تابستان (شکل ۴) نشان می‌دهد که این گروه نیز دارای قدرت ذخیره اسپرم است و تا قبل از اوولاسیون اقدام به ذخیره اسپرم می‌نمایند. خفاش‌ها برای حفظ و بقای خود، راهکارهای متفاوتی در جهت تولیدمثل انتخاب کرده‌اند. گونه *Plecotus towensendii* تخمک‌گذاری را به تأخیر می‌اندازد، در خفاش کوتوله میوه‌خوار *Haplonycteris ficheri* پس از لقاح، جایگزینی جنین را به تعویق می‌اندازد (Hidman

(شکل ۳). اپیتلیوم (بافت پوششی) لایه‌ای از سلولهای تنگاتنگ است و در زیر آن سلولهای پشتیبان اپیتلیوم که نوعی بافت همبند آستر مخاط است. وجود دارد. در برش عرضی، دارای ماهیچه صاف (عضله بدون خط)، بافت پیوندی و غدد رحمی می‌باشد که با توجه به افزایش ضخامت اپیتلیوم به نظر می‌رسد که رحم در فاز ترشحي است و برای پذیرش جنین آماده می‌شود (Crichton & Krutzsch, 1985).

به دلیل آنکه بافت هر دو شاخ رحم نیز دارای اندومتريوم در قسمت داخلی و بعد از آن، میومتريوم از جنس بافت همبند و عضلات صاف دیده شد پس هر دو شاخ رحم پتانسیل لانه‌گزینی بلاستوسیست را دارند (شکل ۴). مشاهده جنین در این تحقیق در ماده باردار در شاخ راست، احتمال نامتقارن بودن فعالیت و ساختار تخمدان را تقویت می‌کند. با وجودی که جنین در شاخ راست رشد کرده اما احتمال اینکه هر دو تخمدان در تخمک‌گذاری فعال باشند و اختلاف در رشد و نمو جنین، ناشی از آماده نبودن شاخ چپ بوده است نیز وجود دارد (Crichton & Krutzsch, 1985).

در برش عرضی از مهبل تعداد زیادی اسپرم کشیده با سر گرد مشاهده شد که نشان می‌دهد در تابستان اسپرماتید زیادتر، حیوان آماده لقاح و به چرخه تولید مثل نزدیکتر است و در فاز تولید مثلی قرار دارد. وجود اعصاب زیاد بین عضلات طولی و حلقوی بدلیل انقباضات شدید این عضلات هنگام قاعدگی و زایمان ضروری است (Buchanan & Garfield, 1984). دیواره سرویکس حاوی یک غشاء مخاطی است که حفره سرویکس را محدود کرده و یک لایه ضخیم ماهیچه حلقوی و یک لایه نازک ماهیچه طولی و بعد از آن آبشامه خارجی مشاهده می‌شود. غشاء مخاطی سرویکس یک لایه ساده از سلول‌های استوانه‌ای است. محدوده کوچک با قطر کم، قسمت بافت ماهیچه

که شرایط آب و هوایی مساعد و غذا به اندازه کافی باشد. این گونه خفاش بدلیل میوه خوار بودن در بعضی فصول سال دسترسی آسان به غذا ندارد و لی با ذخیره اسپرم تا رسیدن به شرایط مساعد و در حضور تخمک رسیده، لقاح اتفاق می افتد و بدین ترتیب شانس بقای نسل را افزایش می دهند (Akmali et al., 2007).

نتیجه گیری

بنا به نتایج بدست آمده از این تحقیق، رحم در خفاش میوه خوار مصری ساختاری شبیه طرح عمومی پستانداران بخصوص پریمات ها دارد و این طرح با خصیصه تک قلو زایی آنها بسیار سازگار است.

سپاسگزاری

از مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم جهت حمایت های بی دریغشان در انجام این پروژه نهایت سپاسگزاری را داریم.

(, 1989) و در *Pipeistrellus Kuhlii* ذخیره اسپرم در رحم و مهبل ماده صورت می گیرد (Sharifi et al., 2004).

تمرکز اسپرم در ناحیه امپولا شانس لقاح را بالا می برد چون گشادترین ناحیه لوله رحمی امپولا و محلی مناسب برای بارور شدن تخمک است (Crichton & Krutzsch, 1985) اما تحقیقات انجام شده روی گونه های مختلف خفاش نشان داده که ماده ها با اینکه در رحم و لوله رحمی خود دارای اسپرم هستند ولی کمتر از آن در لقاح استفاده می کنند و بیشتر اسپرم های بهاره را برای لقاح بکار می برند. احتمالاً این اسپرم برای مواقعی که اسپرم در فصل مناسب در دسترس ندارند استفاده می کنند (Akmali et al., 2007).

خفاش ها دارای دوره های بارداری ۳ تا ۵ ماهه هستند و در این گونه خفاش دوره بارداری ۴ تا ۵ ماه طول می کشد لذا در طول سال حداکثر دو بار بارداری دارند (Grzimek, 2003). از طرفی در هر بارداری بطور معمول یک فرزند بوجود می آورند. یک بارداری موفق زمانی به انجام می رسد

منابع

- 1-Akmali., R. Ghorbani and M. Sharifi.2007.Evidence of sperm storage inVespertilionidae) in western Iran. Journal of Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran. (In press).
- 2-Buchanan GD, Garfield RE. 1984. Myometrial ultrastructure and innervation in *Myotis lucifugus*, the little brown bat. *Anatomy of Reproduction* 1984 210(3):463-75.
- 3-Crichton, E.G. and Krutzsch, P.H.1985.Reproductive biology of the female leaf-nosed bat, *Macrotus californicus*, in southwestern United States: I. A morphometric analysis of the annual ovarian cycle. *The American Journal of Anatomy* 173, 69-
- 4-Grzimek, B. 2003. Grzimek's Animal Life Encyclopedia. Farming Hills, Michigan: Gale Virtual Library. Grzimek's Animal Life Encyclopedia: Vol 13 Mammals II (2nd ed.) p. 311. ISBN 0-7876-5362-4.
- 5-Heideman, P.D.1989.Delayed development in Fischer's pygmy fruit bat, *Haplonycteris fischeri*, in the Philippines. *Journal of Reproduction and Fertility* 85, 363-382.
- 6-Jones G, Teeling E.C, 2006. The evolution of echolocation in bats. *Trends Ecol. Evol.*;21:149- 156.
- 7-Kunz, T.H., M.B. Fenton, 2006. *Bat ecology*, University of Chicago Press, - Nature, 798 pp.
- 8-Malcolm, J.R. and Marten, K.1982.Natural selection and the communal rearing of pups in African wild dogs (*Lycaon pictus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 10, 1-13.
- 9-Mossman, H.W.1977.Comparative anatomy. In *Biology of the Uterus* (R.M.Wynn, ed.), pp. 19-34.
- 10-Mossman, H.W.1987.Vertebrate Fetal Membranes. Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey.
- 11-Neuweiler, Gerhard .2000. *Biology of Bats*. Oxford University Press, 2000, 310 pp. Okia, N. 1987. Reproductive Cycles of East African Bats. *Journal of Mammalogy*, 68: 138-141.

- 12-Racey, P. A.1979.The prolonged storage and survival of spermatozoa in Chiroptera. J. Repro.Fertility. 56:391-402.
- 13-Rasweiler, J.J. and Badwaik, N.K.1996. Improved procedures for maintaining and breeding the short-tailed fruit bat (*Carollia perspicillata*) in a laboratory setting. Laboratory Animals 30, 171–181.
- 14-Sharifi, M., Ghorbani, R., Fazeli, A., Holt, B.2004. Evidence of sperm storage in *Pipisterus kuhlii* in western Iran. F. Zoologica. 52:29-35.
- 15-Speakman, J. R. & Racey, P. A.1986.The influence of body condition on sexual development of male brown long-eared bats (*Plecotus auritus*) in the wild. J. Zool. (Lond.) 210: 515±525
- 16-Terborgh, J. and Goldizen,A.W.1985. On the mating system of the cooperatively breeding saddlebacked tamarin (*Saguinus fuscicollis*). Behavioral Ecology and Sociobiology 5, 171–186.
- 17-Walker S., and Molur M.2003.Summary of the status of South Indian Asian chiroptera: Conservation assessment and management plan workshop report, Madurai, pp.1-24 .