

Лейкоцитарный состав крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Serpentes: Colubridae) Мордовского государственного заповедника (Россия)

Е. Б. Романова^{1✉}, Е. И. Соломайкин¹, А. Г. Бакиев², Р. А. Горелов²

¹Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского

Россия, 603950, г. Нижний Новгород, просп. Гагарина, д. 23

²Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН

Россия, 445003, г. Тольятти, ул. Комзина, д. 10

Информация о статье

Оригинальная статья

УДК 574.3.591

<https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-18-29>

Поступила в редакцию 12.04.2021,
после доработки 27.04.2021,
принята 12.05.2021

Аннотация. Использован гематологический подход для оценки состояния популяции обыкновенного ужа *Natrix natrix* Мордовского государственного заповедника. Проведена оценка лейкоцитарной формулы крови с расчетом связанных с ней лейкоцитарных индексов (лимфоцитарно-гранулоцитарного, сдвига лейкоцитов, соотношения лимфоцитов и эозинофилов, соотношения гетерофилов и эозинофилов, соотношения гетерофилов и лимфоцитов), измерена площадь поверхности основных видов лейкоцитарных клеток: гетерофилов, базофилов, эозинофилов, азурофилов, моноцитов и лимфоцитов. Лейкоцитарный состав крови ужа обыкновенного характеризовался преобладанием агранулоцитов, при этом доля гранулоцитов составляла 31 – 37% ($u = 1.99, p = 0.04$). Популяционная картина лейкоцитарного состава крови ужа обыкновенного имела вид: гетерофилы (8.07 ± 0.6)%, базофилы (12.33 ± 0.95)%, эозинофилы (8.33 ± 0.65)%, азурофилы (5.25 ± 0.53)%, моноциты (9.77 ± 0.42)%, лимфоциты (56.22 ± 1.7)%. По усредненному показателю площади лейкоцитарные клетки ужа обыкновенного расположились в следующем порядке: эозинофилы – моноциты – азурофилы, базофилы – гетерофилы – лимфоциты. Диаметр наиболее крупных клеток – эозинофилов – варьировался от 13 до 22 мкм. Самыми мелкими оказались лимфоциты с диаметром (7.22 ± 1.21) мкм. Отсутствие различий в количественном содержании всех типов гранулоцитов и агранулоцитов в крови обыкновенного ужа из разных участков заповедника свидетельствовало о сопоставимом уровне воздействия и идентичности физиологических механизмов адаптации, протекающих в организме животных в охраняемых условиях среды обитания. Большинство лейкоцитарных интегральных индексов (ИСЛ, ИСЛЭ, ИСГЭ, ИЛГ) выявили однотипный характер изменчивости параметров лейкоцитарной системы крови ужа обыкновенного трех участков заповедника за исключением повышенного значения индекса соотношения гетерофилов и лимфоцитов (ИСГЛ) выборки из пос. Пушта. Возрастание этого показателя свидетельствует о стрессовом воздействии на особей данной выборки. С помощью метода главных компонент проведена классификация выборок ужа обыкновенного с количественным описанием лейкоцитарного состава объектов исследования; полученные результаты представлены в интегрированном и обобщенном виде. Использование метода главных компонент позволило объединить выборки ужей с близкими показателями лейкоцитарного состава, а также выделить отличающуюся своими показателями популяцию обыкновенного ужа урбанизированной территории Самарской области. Картина крови и динамика лейкоцитарных индексов крови отражали активный отклик организма ужа обыкновенного на комплекс экологических факторов среды обитания на территории Мордовского заповедника.

Ключевые слова: *Natrix natrix*, формула крови, лейкоцитарные индексы, периферическая кровь

Образец для цитирования: Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А. 2021. Лейкоцитарный состав крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Serpentes: Colubridae) Мордовского государственного заповедника (Россия) // Современная герпетология. Т. 21, вып. 1/2. С. 18 – 29. <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-18-29>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution License (CC-BY 4.0)

✉ Для корреспонденции. Кафедра экологии Института биологии и биомедицины, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского.

ORCID и e-mail адреса: Романова Елена Борисовна: <https://orcid.org/0000-0002-1925-7864>, romanova@ibbm.unn.ru; Соломайкин Евгений Игоревич: <https://orcid.org/0000-0003-4030-8272>, e7v4gen5iy@yandex.ru; Бакиев Андрей Геннадьевич: <https://orcid.org/0000-0002-0338-2740>, herpetology@list.ru; Горелов Роман Андреевич: <https://orcid.org/0000-0002-0207-2951>, gorelov.roman@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

На территории Мордовии уж обыкновенный *Natrix natrix* Linnaeus, 1758 является обычным и массовым видом, ведет амфибионтный образ жизни, предпочитая влажные местообитания: берега рек, озер и прудов, пойменные луга, овраги, болота, сырые леса (Астрадамов и др., 2002; Ручин, Рыжов, 2003; Ручин и др., 2003, 2005; Бакиев и др., 2004, 2009 и др.). Возрастающий пресс антропогенной и рекреационной нагрузки приводит к сокращению численности этих экотермных животных. Несмотря на обилие литературных данных по экологии и особенностям жизненного цикла ужеобразных змей рода *Natrix* Волжского бассейна (Табачишин, Табачишина, 2002; Чугуевская, 2005; Шляхтин и др., 2005; Бакиев и др., 2009; Гордеев, 2012; Кленина, Бакиев, 2015; Кленина и др., 2015; Bakiev et al., 2011; Litvinov et al., 2011), исследований по изучению системы крови ужей при различных воздействиях недостаточно. Хорошо известно, что в развитии защитных реакций организма в условиях изменения среды обитания основную роль играют лейкоциты, поэтому для оценки состояния животных и качества среды обитания используют иммунологические и гематологические подходы (Пескова, 2004; Акуленко, 2014; Романова и др., 2017 и др.). Показано, что сезонное перераспределение лейкоцитарного состава способствует выживанию животных в неблагоприятных условиях среды (Воробьева, 2007) и в измененных условиях урбанизированной среды (Самарская область) наблюдается изменение баланса лейкоцитарных клеток в крови настоящих ужей (Романова и др., 2014, 2015). Методология настоящей работы основывается на исследовании формулы крови наиболее представленного в Мордовском заповеднике вида змей (ужа обыкновенного), что позволяет с аутоэкологической точки зрения оценить состояние иммуногематологических показателей организма в условиях природо-охранной зоны.

Целью статьи являлась оценка лейкоцитарного профиля крови ужа водяного (*Natrix natrix* Linnaeus, 1758) из Мордовского государственного природного заповедника им. П. Г. Смидовича, МГЗ (Россия).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Отлов ужа обыкновенного проводился на территории Мордовского государственного природного заповедника им. П. Г. Смидовича, расположенного в Темниковском районе Республики Мордовия, на правом берегу р. Мокша, на границе зоны хвойно-широколиственных лесов и лесосте-

пи. Для исследования были выбраны три участка: пос. Пушта (оз. Вальза), кордоны Павловский (пруд Павловский) и Инорский (озеро Инорское) (рис. 1). Все работы проводились в соответствии с «Международными руководящими принципами для биомедицинских исследований на животных» (International Guiding..., 2012). Объем материала и краткая характеристика мест отлова представлены в табл. 1.

Для получения образцов крови животных обездвигивали путём захвата и делали пункцию верхнечелюстной вены иглой, смоченной в растворе гепарина, для взятия крови и приготовления мазков. После взятия крови все особи были возвращены в места отлова. Дифференцированный подсчёт лейкоцитов проводили с иммерсией (x1500) после фиксации и окрашивания мазков по Романовскому – Гимзе. С учетом морфологических особенностей определяли шесть типов лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (азурофилы, моноциты, лимфоциты) (Хайрутдинов, Соколова, 2010; Campbell, 2006). На основании лейкоцитарной формулы крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы (отн. ед.):

индекс сдвига лейкоцитов, отн. ед.: = $\frac{\Sigma \text{гранулоцитов}}{\Sigma \text{агранулоцитов}}$;
индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ), отн. ед.: = $\frac{Л}{Э}$;
индекс соотношения гетерофилов и эозинофилов (ИСГЭ), отн. ед.: = $\frac{Г}{Э}$;
лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ), отн. ед.: = $\frac{Л \cdot 10}{Э + Г + Б}$;
индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов (ИСГЛ), отн. ед.: = $\frac{Г}{Л}$,
где Л – лимфоциты, Э – эозинофилы, Г – гетерофилы, Б – базофилы.

Линейные размеры лейкоцитов измеряли с помощью окуляр-микрометра cross-line (0.01 mm) (микроскоп Meiji Techno с иммерсией, Japan). Площадь поверхности клеток S (в $\mu\text{м}^2$) рассчитывали по формуле эллипса:

$$S = \pi ab,$$

где $\pi = 3.14$; a – длина большей полуоси эллипса, $\mu\text{м}$; b – длина меньшей полуоси эллипса, $\mu\text{м}$.

Анализ полученных данных проводили методами непараметрической статистики с расчетом критериев: Манна – Уитни при попарном сравнении выборок, Краскела – Уоллиса (H) (при множественном сравнении независимых групп по одному признаку) и Данна (D) (множественный критерий при попарном сравнении групп) в пакете прикладных программ Statistica. За величину статистической значимости принимали $\alpha = 0.05$.

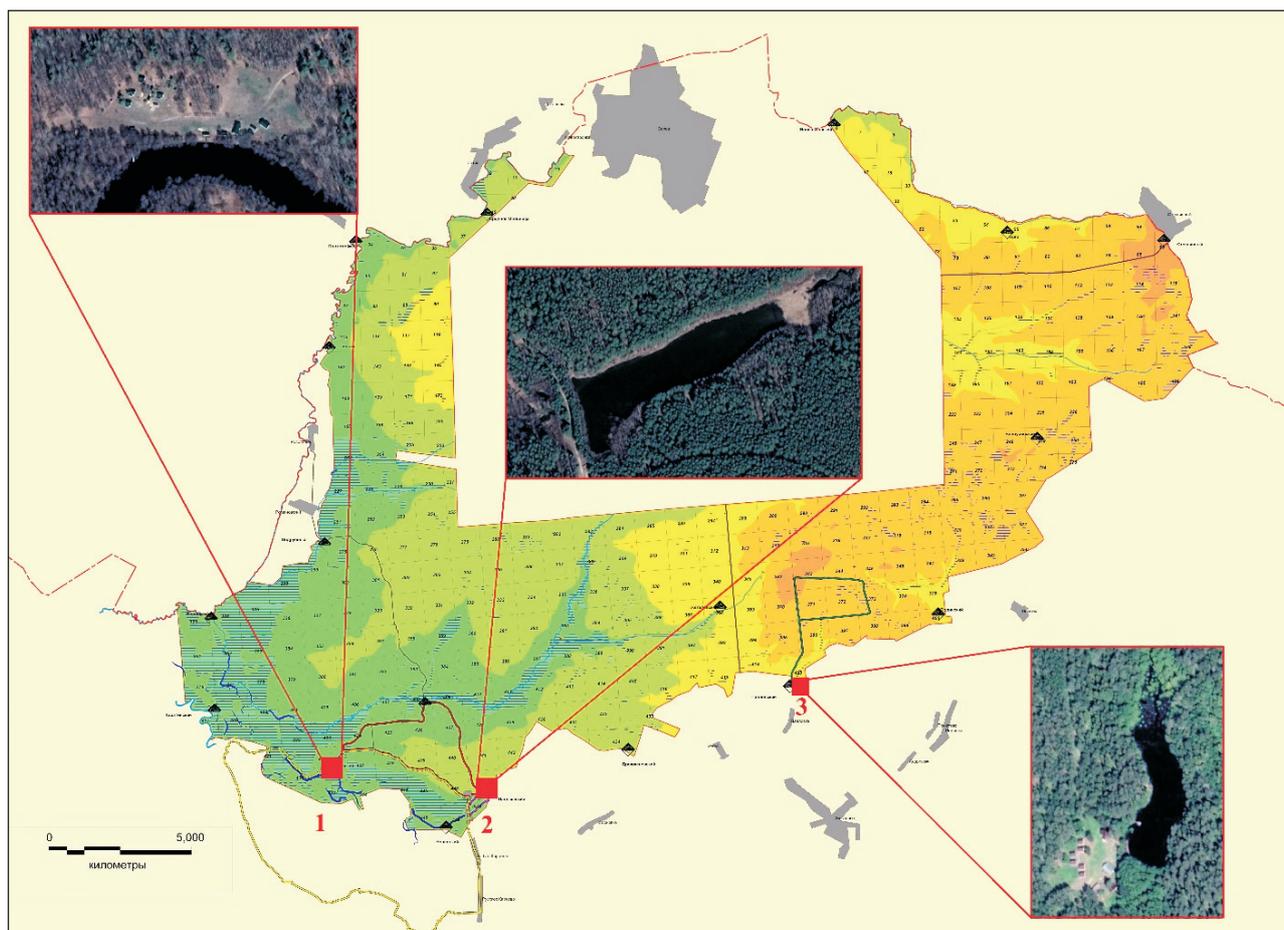


Рис. 1. Карта-схема мест отлова ужа обыкновенного на территории Мордовского государственного природного заповедника: 1 – кордон «Инорский», озеро Инорское; 2 – пос. Пушта, озеро Вальза; 3 – кордон «Павловский», пруд Павловский

Fig. 1. A schematic map of *Natrix natrix* catching in the Mordovian State Nature Reserve: 1 – Cordon “Inorsky”, Lake Inorskoye; 2 – Pushta village, Lake Valza; 3 – Cordon “Pavlovsky”, pond Pavlovsky

Таблица 1. Краткая эколого-географическая характеристика мест отлова ужа обыкновенного (*Natrix natrix*) Мордовского заповедника

Table 1. Brief ecological and geographical characteristic of the place of capture of *Natrix natrix*, in the Mordovian State Nature Reserve

Время отлова / Capture time	Место отлова / Capture location	Самки, особи / Females, individuals
26.06.19 – 27.06.19	1 – кордон «Инорский», оз. Инорское. Территории, прилегающие к оз. Инорское, изредка используются для проведения экскурсий, экологических лагерей, студенческих практик	20
26.06.19 – 27.06.19	2 – пос. Пушта, оз. Вальза. Пресс антропогенной нагрузки на территорию, прилегающую к озеру, находящемуся в центре поселка, обусловлен рыбалкой, купанием, движением пешеходов и автотранспорта	8
26.06.19 – 27.06.19	3 – кордон «Павловский», пруд Павловский. Территории, прилегающие к пруду, редко используются для проведения экскурсий, экологических лагерей и студенческих практик	9
Всего		37

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе продолжается активное обсуждение морфологии универсальных эффекторных клеток крови рептилий, обеспечивающих поддержание гомеостаза организма в специфических условиях среды обитания (Лисничая, Ефимов, 2014; Salakij et al., 2002; Campbell, 2006; Davis et al., 2008; Tavares-Dias et al., 2008; Oros et al., 2010). Трудности определения состава белой крови рептилий обусловлены как особенностями морфологии лейкоцитарных клеток, так и внешними факторами (Соколова и др., 1997; Лобода, 1998; Павлов, 2019). Большинство исследователей дифференцируют лейкоциты рептилий на гранулоциты, представленные тремя типами крупных клеток: гетерофилами, эозинофилами и базофилами, и на мононуклеарные клетки, к которым относятся азурофилы, моноциты и лимфоциты (Хайрутдинов, Соколова, 2010; Лисничая, Ефимов, 2014; Stacy et al., 2011; Arican, Cicek, 2010). Мы придерживались аналогичной классификации и выделяли шесть морфологических типов лейкоцитарных клеток: гетерофилы, базофилы, эозинофилы, азурофилы, моноциты и лимфоциты.

Вначале отметим, что состав лейкограмм периферической крови ужа обыкновенного из трех участков Мордовского заповедника характеризовался преобладанием агранулоцитов (69 – 73%), при этом доля гранулоцитов составляла 31 – 37%. Различие в процентном содержании агранулоцитов и гранулоцитов подтверждалось статистически значимым критерием Манна – Уитни

($u = 1.99, p = 0.04$). Внутри пулов агранулоцитов и гранулоцитов в лейкоцитарном составе крови между выборками из различных участков заповедной зоны значимых различий не выявлено (табл. 2).

Эллипсоидные лейкоцитарные клетки ужа обыкновенного существенно различались по размерам. По усредненному показателю площади поверхности (мкм^2) лейкоцитарные клетки ужа обыкновенного расположились в следующем порядке: эозинофилы – моноциты – азурофилы, базофилы – гетерофилы – лимфоциты. Диаметр наиболее крупных клеток – эозинофилов – варьировался от 13 до 22 мкм. Самыми мелкими оказались лимфоциты с диаметром (7.22 ± 1.21) мкм (табл. 3).

Отсутствие значимых различий в формулах крови исследованных выборок позволило нам объединить показатели и получить популяционную картину лейкоцитарного состава крови ужа обыкновенного, обитающего на территории Мордовского заповедника (рис. 2).

Определение лейкоцитарной формулы является необходимой составной частью оценки общего состояния организма, хотя отдельные ее показатели не дают целостного представления о реакциях системы крови на воздействие различных факторов. Поэтому для интегральной оценки состояния системы крови были использованы лейкоцитарные интегральные индексы, отражающие взаимосвязи клеток крови и работу эффекторных механизмов иммунной системы.

Большинство лейкоцитарных интегральных индексов (ИСЛ, ИСЛЭ, ИСГЭ, ИЛГ) выявили

Таблица 2. Лейкоцитарный состав периферической крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* Мордовского заповедника

Table 2. Leukocyte blood count of the peripheral blood of *Natrix natrix* from the Mordovian State Nature Reserve

Статистические показатели / Statistical indicators	Гетерофилы, % / Heterophils, %	Базофилы, % / Basophils, %	Эозинофилы, % / Eosinophils, %	Азурофилы, % / Azurophils, %	Моноциты, % / Monocytes, %	Лимфоциты, % / Lymphocytes, %
Кордон Инорский (20 особей)						
<i>Me</i>	6.50	14.00	8.00	6.00	9.50	58.00
<i>IQR</i>	2.75	5.75	1.75	4.50	3.00	8.00
Пос. Пушта (8 особей)						
<i>Me</i>	9.50	13.50	8.50	7.50	9.00	50.50
<i>IQR</i>	3.25	6.25	5.75	2.50	1.50	10.25
Кордон Павловский (9 особей)						
<i>Me</i>	7.00	11.00	7.00	4.00	11.00	60.00
<i>IQR</i>	6.50	8.00	4.00	3.00	1.50	9.50
<i>H</i>	3.04	0.23	0.15	5.82	3.10	1.62
<i>p</i>	0.21	0.89	0.92	0.054	0.21	0.44

Примечание. *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах, *H* – критерий Крускалла – Уоллиса, *p* – уровень значимости.

Note. *Me* – median, *IQR* – Inter-quartiles range, *H* – Kruskal–Wallis ANOVA, *p* – significance level.

Таблица 3. Линейный размер (мкм) и площадь поверхности (мкм²) лейкоцитов периферической крови ужа обыкновенного *Natrix natrix*

Table 3. Linear size (μm) and surface area (μm²) of *Natrix natrix* leukocyte series

Лейкоциты, n = 486 / Leukocyte, n = 486	M	s	min	max	S
Гетерофилы / Heterophils	9.71	1.39	13	7	60.59±1.62
Базофилы / Basophils	10.58	2.14	14	6	75.82±3.49
Эозинофилы / Eosinophils	17.50	2.42	22	13	205.38±5.91
Азурофилы / Azurophils	10.84	1.17	14	8	77.41±1.80
Моноциты / Monocytes	11.28	1.38	15	9	84.63±2.28
Лимфоциты / Lymphocytes	7.22	1.21	10	5	35.16±1.46

Примечание. M – среднее арифметическое, мкм; min – минимальное значение; max – максимальное значение; s – стандартное отклонение; m – ошибка средней арифметической; S – площадь поверхности клеток (M±m), мкм².

Note. M – mean, μm; min – minimum; max – maximum; s – standard deviation; m – standard error of mean; S – cell surface area (M±m), μm².

однотипный характер изменчивости параметров лейкоцитарной системы крови ужа обыкновенного трех участков заповедника за исключением повышенного значения индекса соотношения гетерофилов и лимфоцитов (ИСГЛ) выборки пос. Пушта (табл. 4), считающимся мерой стресса у животных (Davis et al., 2008). Возрастание этого показателя позволяет заключить, что *Natrix natrix*, отловленный в районе пос. Пушта, испытывает дополнительное стрессорное воздействие.

Для уточнения и анализа лейкоцитарного профиля обыкновенного ужа заповедной зоны (Мордовский заповедник) и урбанизированной территории (с. Мордово, Самарская область) (Романова и др., 2015) мы воспользовались методом главных компонент и рассчитали несколько новых признаков, линейных индексов (главных компонент). С вычислительной точки зрения количество главных компонент равно числу исходных пере-

менных, но обычно основная доля информации, позволяющая различать объекты, «концентрируется» в гораздо меньшем числе компонент, которые и рассматриваются как их полноценная характеристика. Участие компонент в дифференциации лейкоцитарного профиля рептилий, отловленных в сопоставимый срок активности (конец июня), было неодинаково. Первая главная компонента (факторная ось), соответствующая собственному значению 19.86, описывала приблизительно 76.54% общей дисперсии, и ее роль выше, чем других по информационной насыщенности. Вторая компонента (факторная ось), соответствующая собственному значению 5.38, описывала 20.75% оставшейся дисперсии, ее роль меньше, чем первой компоненты, а третья – описывала 2.70% оставшейся дисперсии, её, как и все последующие, по всей видимости, нецелесообразно использовать в дальнейшем рассмотрении.

Первая факторная ось наиболее сильно коррелировала с содержанием в крови ужей моноцитов (сильная отрицательная корреляция), азурофилов и гетерофилов (сильная положительная корреляция). Вторая факторная ось имела сильную положительную корреляцию с содержанием лимфоцитов. График лейкоцитарного профиля в пространстве выделенных главных компонент показывал, насколько хорошо каждая переменная воспроизводилась в найденной системе координат (рис. 3).

Таким образом, были определены факторные оси в пространстве меньшей размерности, на которые были проецированы анализируемые лейкоцитарные показатели. Относительный вклад переменных в дисперсию факторной оси пропорционален их факторным нагрузкам: наибольший

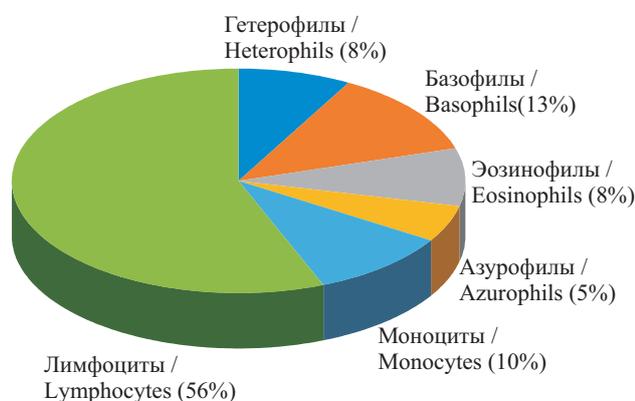


Рис. 2. Формула крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* Мордовского заповедника

Fig. 2. Blood formula of the *Natrix natrix* from the Mordovian State Nature Reserve

Таблица 4. Значение интегральных индексов периферической крови ужа обыкновенного *Natrix natrix* Мордовского заповедника

Table 4. Integral lymphocyte indices value for *Natrix natrix* from the Mordovian State Nature Reserve

Статистические показатели / Statistical indicators	ИСЛ / Leukocyte shift index	ИСЛЭ / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	ИСГЭ / Index of the heterophils and eosinophils ratio	ИЛГ / Lymphocyte-granulocyte index	ИСГЛ / Index of the heterophils and lymphocytes ratio
Кордон Инорский (20 особей)					
<i>Me</i>	0.39	7.90	0.94	20.38	0.12
<i>IQR</i>	0.15	3.18	0.48	8.56	0.07
Пос. Пушта (8 особей)					
<i>Me</i>	0.48	7.18	1.09	15.99	0.20
<i>IQR</i>	0.32	6.91	0.49	15.35	0.07
Кордон Павловский (9 особей)					
<i>Me</i>	0.39	7.86	1.00	21.43	0.11
<i>IQR</i>	0.27	6.29	0.62	16.12	0.14
<i>H</i>	0.55	0.19	1.27	0.89	7.02
<i>p</i>	0.75	0.90	0.52	0.64	0.02
<i>Z</i> ₁₋₂	–	–	–	–	2.43
<i>p</i>	–	–	–	–	0.04

Примечание. *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах, *H* – критерий Крускала – Уоллиса, *Z – p* – уровень значимости.

Note. *Me* – median, *IQR* – inter-quartile range, *H* – Kruskal–Wallis ANOVA, *Z – p* – significance level.

относительный вклад в первую главную компоненту вносили моноциты, а во вторую – лимфоциты.

На графике наблюдений в факторном пространстве исследованные выборки ужа обыкновенного распределились в разных областях плоскости (рис. 4). Все выборки ужа обыкновенного с заповедной территории (Мордовский государственный заповедник) сгруппировались в одном

кластере, расположенном во втором и третьем квадрантах, т. е. имели отрицательные значения по первой главной компоненте и объединялись в области переменной «моноциты».

Расположение выборки ужа обыкновенного из пос. Пушта (оз. Вальза) в третьем квадранте, удаленно от выборок кордонов Инорский и Павловский, обуславливалось изменением соотноше-

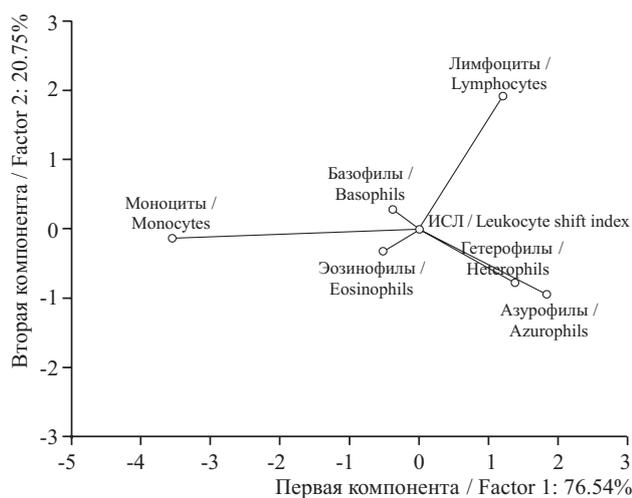


Рис. 3. Показатели лейкоцитарного состава крови обыкновенного ужа в пространстве главных компонент
Fig. 3. Indicators of the leukocyte composition of the *Natrix natrix* blood in the space of the main components

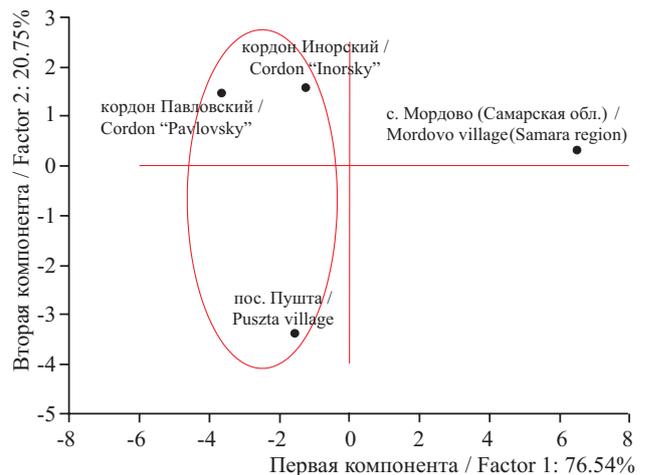


Рис. 4. График рассеивания выборок обыкновенного ужа в пространстве главных компонент; овалом выделены участки Мордовского природного заповедника

Fig. 4. Scatter plot for *Natrix natrix* samples in the space of the main components; areas of the Mordovian State Nature Reserve are marked with red ovals

ния баланса лейкоцитарных клеток за счет усиленного антропогенного давления (рыбалка, купание, движение пешеходов и автотранспорта) по сравнению с другими участками заповедника. Следует отметить, что оценка флуктуирующей асимметрии признаков фоллидоза ужа обыкновенного этой выборки (28.6) выявила более высокие показатели средней частоты асимметричного проявления на признак по сравнению с особями Павловского (0.14) и Инорского (0.17) кордонов (Елисеева, Ениватова, 2020). Известно, что степень симметрии определяется всей совокупностью антропогенных и естественных экологических факторов, действующих на развитие организмов (Лада и др., 2012), и отражает стабильность развития организма в целом. Снижение этого показателя у ужа обыкновенного из пос. Пущта свидетельствовало и о снижении качества условий его местообитания.

Выборка из популяции обыкновенного ужа урбанизированной территории (Самарская область) занимала первый квадрант, т.е. имела положительные значения как по первой, так и по второй компоненте, и располагалась в области переменной «лимфоциты». Влияние комплекса факторов урбанизированной среды на показатели лейкоцитарной системы крови ужа преимущественно отражалось на перераспределении баланса агранулоцитов, а именно повышении специфической реакции иммунной системы (содержание лимфоцитов) и снижении активности моноцитов, отражающих адаптивный ответ.

Хорошо известно, что на проявление лейкоцитарного профиля крови и иммунный статус организма змей оказывают влияние возраст, пол, физиологическое состояние животных, а также сезоны года и изменение абиотических факторов среды (Павлов, Юсупов, 2015). Результаты анализа показывают, что при интерпретации данных лейкоцитарного состава крови рептилий особое внимание следует обращать на количественное перераспределение агранулоцитов, в первую очередь моноцитов. Известно, что у рептилий врожденная система иммунитета, представленная гуморальными факторами и набором лейкоцитов (моноцитами, базофилами, эозинофилами и гетерофилами), характеризуется более высоким развитием и эффективной реакцией на широкий спектр патогенных антигенов среды обитания по сравнению с адаптивными ответами. Отметим, что моноциты наряду с макрофагами являются фагоцитами, которые обрабатывают и представляют антигены, а также высвобождают

гуморальные регуляторы межклеточных взаимодействий (Coico et al., 2003; Davis et al., 2004; Arıcan, Cıcek, 2010), обеспечивая клеточные механизмы неспецифической резистентности (Davis et al., 2004) и формирование у рептилий реакции воспаления. Интенсивность развития воспалительной реакции определяется оптимальной для вида температурой окружающей среды, ниже и выше которой эффективность формирования реакции снижается (Kluger et al., 1975; Merchant et al., 2007), что иллюстрирует сложный характер взаимосвязи активации неспецифических факторов резистентности рептилий как эктотермных животных с абиотическими условиями среды обитания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены популяционные показатели лейкоцитарной формулы и лейкоцитарных индексов крови обыкновенного ужа из Мордовского природного заповедника. Отсутствие различий в количественном содержании всех типов гранулоцитов и агранулоцитов в крови обыкновенного ужа из разных участков заповедника свидетельствовало о сопоставимом уровне воздействия и идентичности физиологических механизмов адаптации, протекающих в организме животных в условиях среды обитания. Использованный метод многомерной статистики позволил получить более полное количественное описание лейкоцитарного состава объектов исследования, представить полученные показатели в обобщенном виде и провести сравнительный анализ выборок ужа обыкновенного из разных местообитаний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Акуленко Н. М. 2014. Возможно ли использование периферической крови рептилий для определения степени загрязнения биотопа? // Праці Українського герпетологічного товариства. № 5. С. 3 – 11.
- Астрадамов В. И., Касаткин С. П., Кузнецов В. А., Потапов С. К., Ручин А. Б., Силаева Т. Б. 2002. Материалы к кадастру земноводных и пресмыкающихся Республики Мордовия // Материалы к кадастру амфибий и рептилий бассейна Средней Волги. Н. Новгород : Экоцентр «Дронт». С. 167 – 185.
- Бакиев А. Г., Гаранин В. И., Литвинов Н. А., Павлов А. В., Ратников В. Ю. 2004. Змеи Волжско-Камского края. Самара : Изд-во СамНЦ РАН. 192 с.
- Бакиев А. Г., Маленев А. Л., Зайцева О. В., Шуришина И. В. 2009. Змеи Самарской области. Тольятти : ООО «Кассандра». 170 с.

- Воробьева А. С. 2007. Сравнительная характеристика периферической крови змей Волжского бассейна // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. Вып. 10. С. 25 – 30.
- Гордеев Д. А. 2012. Особенности распространения, биологии, экологии и морфологии ужа обыкновенного *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) Волгоградской области // Известия Самарского научного центра РАН. Т. 14, № 1. С. 150 – 153.
- Идрисова Л. А. 2019. Аберрации фоллидоза рептилий: закономерности в топографии отклонений // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. Вып. 2 (26). С. 60 – 66. <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2019-2-6>
- Елисеева И. Н., Ениватова Д. А. 2020. Эколого-биологические особенности обыкновенного ужа *Natrix natrix* в Мордовском государственном заповеднике // Труды Национального парка «Смольный». Вып. 4. С. 110 – 121.
- Кленина А. А., Бакиев А. Г. 2015. Объем яиц в кладках обыкновенного ужа *Natrix natrix* и водяного ужа *N. tessellata* : работа над ошибками // Принципы экологии. Т. 4, № 4. С. 11 – 21. <https://doi.org/10.15393/j1.art.2015.4602>
- Кленина А. А., Гордеев Д. А., Прилипко С. К. 2015. Питание ужей рода *Natrix* в Волгоградской области // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Т. 17, № 4 (4). С. 718 – 720.
- Лада Г. А., Левин А. Н., Артемова Л. В., Рыбкина Н. С. 2012. Об оценке состояния окружающей среды по уровню флуктуирующей асимметрии у бесхвостых амфибий на примере озерной лягушки (*Rana ridibunda*) // Принципы экологии. Т. 1, № 3. С. 82 – 88. <https://doi.org/10.15393/j1.art.2012.1541>
- Лисничая Е. Н., Ефимов В. Г. 2014. Особенности исследования морфологического состава крови рептилий // Научно-технический бюллетень НДЦ биобезопасности та екологічного контролю ресурсів АПК. Т. 2, № 1. С. 61 – 74.
- Лобода Е. И. 1998. Морфологические и цитохимические особенности клеток белой крови у представителей некоторых видов холоднокровных позвоночных // Вестник зоологии. Т. 32, № 3. С. 54 – 57.
- Павлов А. В. 2019. Ключевые моменты гематологии рептилий: особенности оценки лейкоцитарной части крови // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. № 1 (25). С. 138 – 152. <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2019-1-14>
- Павлов А. В., Юсупов Р. Х. 2015. Система крови // Гадюки (Reptilia : Serpentes : Viperidae : *Vipera*) Волжского бассейна. Тольятти : Кассандра. Ч. 1. С. 137 – 155.
- Пескова Т. Ю. 2004. Адаптационная изменчивость земноводных в антропогенно загрязненной среде : дис. ... д-ра биол. наук. Тольятти, 284 с.
- Романова Е. Б., Николаев В. Ю., Бакиев А. Г., Кленина А. А. 2014. Лейкоцитарный состав крови обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) и водяного ужа (*N. tessellata*) из Национального парка «Самарская Лука» // Известия Самарского научного центра РАН. Т. 16, № 1. С. 152 – 155.
- Романова Е. Б., Николаев В. Ю., Бакиев А. Г., Кленина А. А. 2015. Особенности лейкоцитарного состава крови самок обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) и водяного ужа (*N. tessellata*) (Reptilia : Colubridae) Самарской области // Современная герпетология. Т. 15, вып. 1/2. С. 69 – 76.
- Романова Е. Б., Соломайкин Е. И., Бакиев А. Г., Горелов Р. А., Кленина А. А. 2017. Иммуногематологические показатели ядовитых и неядовитых змей на территориях Волжского бассейна с разной антропогенной трансформацией // Известия Самарского научного центра РАН. Т. 19, № 2. С. 54 – 61.
- Ручин А. Б., Рыжов М. К. 2003. Амфибии и рептилии Мордовии : эколого-фаунистический обзор // Поволжский экологический журнал. № 2. С. 195 – 201.
- Ручин А. Б., Лапшин А. С., Рыжов М. К. 2005. О распространении змей на территории Мордовии // Современная герпетология. Т. 3/4. С. 93 – 98.
- Ручин А. Б., Рыжов М. К., Лобачев Е. А. 2003. Распространение и морфометрическая характеристика обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) из Мордовии // Змеи Восточной Европы / Институт экологии Волжского бассейна РАН. Тольятти, С. 70 – 72.
- Соколова Ф. М., Павлов А. В., Юсупов Р. Х. 1997. Гематология пресмыкающихся. Методическое пособие к курсу герпетологии, большому практикуму и семинарам. Казань : Казан. ун-т. 31 с.
- Табачишин В. Г., Табачишина И. Е. 2002. Распространение и особенности экологии обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) на севере Нижнего Поволжья // Поволжский экологический журнал. № 2. С. 179 – 183.
- Хайрутдинов И. З., Соколова Ф. М. 2010. Характеристика крови рептилий и её связь с условиями среды обитания. Казань : Казанский университет. 44 с.
- Чугуевская Н. М. 2005. Ужи (Serpentes, Colubridae, *Natrix*) Волжского бассейна: Экология и охрана : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тольятти, 20 с.
- Шляхтин Г. В., Табачишин В. Г., Завьялов Е. В. 2005. Экология питания обыкновенного ужа (*Natrix natrix*) на севере Нижнего Поволжья // Современная герпетология. Т. 3/4. С. 111 – 116.
- Arican H., Cicek K. 2010. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna // Acta Herpetologica. Vol. 5, № 2. P. 179 – 198. https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-8526
- Bakiev A., Kirillov A., Mebert K. 2011. Diet and Parasitic Helminths of Dice Snakes from the Volga Basin, Russia // Mertensiella. Vol. 18. P. 325 – 329.
- Campbell T. W. 2006. Clinical pathology of reptiles // Reptile Medicine and Surgery. 2nd ed. St. Louis (MO) : Saunders Publishing. P. 453 – 470.
- Coico R., Sunshine G., Benjamini E. 2003. Immunology : A Short Course. Hoboken: Wiley-Liss Publications. 500 p.

Davis A. K., Maney D. L., Maerz J. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates : A review for ecologists // *Functional Ecology*. Vol. 22. P. 760 – 767. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

Davis A. K., Cook K. C., Altizer S. 2004. Leukocyte profiles of House Finches with and without mycoplasmal conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease // *EcoHealth*. Vol. 1, iss. 4. P. 362 – 373 <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0134-2>

International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. Geneva, Switzerland : Council for International Organization of Medical Sciences Publ., 2012. 4 p.

Kluger M. J., Ringler D. H., Anver M. R. 1975. Fever and survival // *Science*. Vol. 188. P. 166 – 168.

Litvinov N., Bakiev A., Mebert K. 2011. Thermobiology and microclimate of the Dice snake at its Northern range limit in Russia // *Mertensiella*. Vol. 18. P. 330 – 335.

Merchant M., Williams S., Trosclair P. L., Elsey R. M., Mills K. 2007. Febrile response to infection in the American alligator (*Alligator mississippiensis*) // *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 148, iss. 4. P. 921 – 925. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.09.016>

Oros J., Casal A. B., Arencibia A. 2010. Microscopic studies on characterization of blood cells of endangered sea turtles // *Microscopy : Science, Technology, Application and Education*. Vol. 1. P. 75 – 84.

Salakij C., Salakij J., Chanhome L. 2002. Comparative hematology, morphology and ultrastructure of blood cells in Monocellate cobra (*Naja kaouthia*), Siamese spitting cobra (*Naja siamensis*) and Golden spitting cobra (*Naja sumatrana*) // *Kasetsart Journal – Natural Science*. Vol. 36. P. 291 – 300.

Stacy N. I., Alleman A. R., Saylor K. A. 2011. Diagnostic hematology of reptiles // *Clinics in Laboratory Medicine*. Vol. 31, iss. 1. P. 87 – 108. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006>

Tavares-Dias M., Oliveira-Junior A. A., Marcon J. L. 2008. Methodological limitations of counting total leukocytes and thrombocytes in reptiles (Amazon turtle, *Pseudemys expansa*) : An analysis and discussion // *Acta Amazonica*. Vol. 38, № 2. P. 351–356.

Leukocyte blood composition of *Natrix natrix* (Serpentes: Colubridae) in the Mordovian State Nature Reserve (Russia)

E. B. Romanova ^{1✉}, E. I. Solomaykin ¹, A. G. Bakiev ², R. A. Gorelov ²

¹Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod
23 Gagarin Avenue, Nizhni Novgorod 603950, Russia

²Samara Federal Research Center of RAS,
Institute of Ecology of the Volga River Basin of Russian Academy of Sciences
10 Komzina St., Togliatti 445003, Russia

Article info

Original Article

<https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-18-29>

Received 12 April 2021,
revised 27 April 2021,
accepted 12 May 2021

Abstract. The state of the grass snake (*Natrix natrix*) population in the Mordovian State Nature Reserve was assessed using the hematological approach. The leukocyte blood count was estimated together with calculation of the associated leukocyte indices (neutrophil:lymphocyte (N:L), eosinophil:lymphocyte (E:L), heterophil:eosinophil (H/E) and heterophil:lymphocyte (H:L) ratios). The surface area of leukocytes (heterophils, basophils, eosinophils, azurophils, monocytes, and lymphocytes) was measured. The leukocyte blood composition of *Natrix natrix* was characterized by the predominance of agranulocytes, and the granulocyte fraction was 31–37% ($u = 1.99, p = 0.04$). The population pattern of the leukocyte blood composition of *Natrix natrix* was as follows: heterophils – 8.07±0.6%, basophils – 12.33±0.95%, eosinophils – 8.33±0.65%, azurophils – 5.25±0.53%, monocytes – 9.77±0.42%, and lymphocytes – 56.22±1.7%. According to the averaged area, the leukocytes were arranged in the following order: eosinophils – monocytes – azurophils, basophils – heterophils – lymphocytes. The diameter of the largest cells (eosinophils) was (17.5±2.42) μm. The smallest lymphocytes had diameters within (7.22±1.21) μm. The absence of any differences in the quantitative content of all types of granulocytes and agranulocytes in the blood of the grass snake from different parts of the reserve indicated a comparable level of impact and the identity of the physiological mechanisms of adaptation that occur in the body of animals in protected habitat conditions. Most of the leukocyte integral indices revealed the same type of variability in the parameters of the white blood cell system of the *Natrix natrix* in three areas of the reserve, with the exception of an increased value of the heterophiles/lymphocytes ratio in the sample from the village Pushta. The increase in this indicator made it possible to draw a conclusion about the stress effect on the individuals of this sample. The principal component method was used to differentiate the samples of the grass snake with a more complete quantitative description of the leukocyte composition of the objects of study; the results obtained are presented in a visual, integrated and generalized form. The use of the principal component method made it possible to combine samples of *Natrix natrix* with similar indicators of leukocyte composition, as well as to identify a population of *Natrix natrix* that differs in its indicators in the urbanized territory of the Samara region. The blood pattern and the dynamics of blood leukocyte indices reflected the active response of the *Natrix natrix* body to the complex of environmental factors of the habitat on the territory of the Mordovian State Nature Reserve.

Keywords: *Natrix natrix*, WBC (white blood cells), leukocytal index, peripheral blood

This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 License

For citation: Romanova E. B., Solomaykin E. I., Bakiev A. G., Gorelov R. A. Leukocyte blood composition of *Natrix natrix* (Serpentes: Colubridae) in the Mordovian State Nature Reserve (Russia). *Current Studies in Herpetology*, 2021, vol. 21, iss. 1–2, pp. 18–29 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-18-29>

REFERENCES

Akulenko N. M. Is it possible to use peripheral blood of reptiles to determine the biotope pollution level? *Proceeding of the Ukrainian Herpetological Society*, 2014, no. 5, pp. 3–11 (in Russian).

Astradamov V. I., Kasatkin S. P., Kuznetsov V. A., Potapov S. K., Ruchin A. B., Silaeva T. B. 2002. Materials for the inventory of amphibians and reptiles of the Republic of Mordovia. In: *Materiały k kadastru amfibii i reptilii basseina Srednei Volgi* [Materials for the Inven-

✉ Corresponding author. Department of Ecology of Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Elena B. Romanova: <https://orcid.org/0000-0002-1925-7864>, romanova@ibbm.unn.ru; Evgeny I. Solomaykin: <https://orcid.org/0000-0003-4030-8272>, e7v4gen5iy@yandex.ru; Andrey G. Bakiev: <https://orcid.org/0000-0002-0338-2740>, herpetology@list.ru; Roman A. Gorelov: <https://orcid.org/0000-0002-0207-2951>, gorelov.roman@mail.ru.

tory of Amphibians and Reptiles of the Middle Volga Basin]. Nizhni Novgorod, Ecocenter "Dront" Publ., 2002, pp. 167–185 (in Russian).

Bakiev A. G., Garanin V. I., Litvinov N. A., Pavlov A. V., Ratnikov V. Ju. *Zmei Volzhsko-Kamskogo kraia* [Snakes of Volga-Kama Region]. Samara, Izdatel'stvo Samarskogo nauchnogo tsentra RAN, 2004. 192 p. (in Russian)

Bakiev A. G., Malenev A. L., Zaitseva O. V., Shurshina I. V. 2009. *Zmei Samarskoi oblasti* [Snakes of the Samara Region]. Togliatti, Kassandra Publ., 170 p. (in Russian).

Vorobyova A. S. Comparative characteristics of peripheral blood of snakes of the Volga basin. *Actual Problems of Herpetology and Toxinology*, 2007, iss. 10, pp. 25–30 (in Russian).

Gordeev D. A. Features of the distribution, biology, ecology and morphology of *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) of the Volgograd region. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2012, vol. 14, no. 1, pp. 150–153 (in Russian).

Idrisova L. A. Aberrations in pholidosis of reptiles: Regularities in deviations topography. *University Proceedings. Volga Region. Natural Sciences*, 2019, no. 2 (26), pp. 60–66 (in Russian). <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2019-2-6>

Eliseeva I. N., Enivatova D. A. Ecological and biological features of the common snake *Natrix natrix* in the Mordovian State Reserve. *Proceedings of the National Park "Smolny"*, 2020, vol. 4, pp. 110–121 (in Russian).

Klenina A. A., Bakiev A. G. Egg volume in clutches of *Natrix natrix* and *N. tessellata*: Work on errors. *Principles of Ecology*, 2015, vol. 4, no. 4, pp. 11–21 (in Russian). <https://doi.org/10.15393/j1.art.2015.4602>

Klenina A. A., Gordeev D. A., Prilipko S. K. Nutrition of the genus *Natrix* in the Volgograd Region. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2015, vol. 17, no. 4, pp. 718–720 (in Russian).

Lada G. A., Levin A. N., Artemova L. V., Rybkina N. S. On the evaluation of environmental condition by the level of fluctuating asymmetry in anuran amphibian of lake frog (*Rana ridibunda*) as an example. *Principles of Ecology*, 2012, vol. 1, no. 3, pp. 82–88 (in Russian). <https://doi.org/10.15393/j1.art.2012.1541>

Lisnichaya Y. N., Yefimov V. G. Feature's study morphological composition of blood reptiles. *Science and Technology Bulletin of Scientific Research Center for Biosafety and Environmental Control of Agro-Industrial Complex*, 2014, vol. 2, no. 1, pp. 61–74 (in Russian).

Loboda E. I. Morphological and cytochemical characteristics of white blood cells in representatives of some species of cold-blooded vertebrates. *Vestnik Zoologii*, 1998, vol. 32, no. 3, pp. 54–57 (in Russian).

Pavlov A. V. Key moments of reptile hematology: features of the assessment of the leukocyte part of blood. *Proceedings. Volga Region. Natural Sciences*, 2019,

no. 1 (25), pp. 138–152 (in Russian). <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2019-1-14>

Pavlov A. V., Yusupov R. Kh. Blood system. In: *Gadiuki (Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera) Volzhskogo basseina* [Vipers (Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera) of the Volga Basin]. Togliatti, Kassandra Publ., 2015, pt. 1, pp. 137–155 (in Russian).

Peskova T. Yu. *Adaptatsionnaia izmenchivost' zemnovodnykh v antropogenno zagriaznennoi srede* [Adaptive Variability of Amphibians in Anthropogenically Polluted Environment]. Diss. Dr. Sci. (Biol.). Togliatti, 2004. 284 p. (in Russian).

Romanova E. B., Nikolaev V. Yu., Bakiev A. G., Klenina A. A. The leukogram of grass snake (*Natrix natrix*) and dived snake (*N. tessellata*) in national park "Samarskaya Luka". *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2014, vol. 16, no. 1, pp. 152–155 (in Russian).

Romanova E. B., Nikolaev V. Yu., Bakiev A. G., Klenina A. A. Features of the leukocyte composition of blood of females of common snake (*Natrix natrix*) and water snake (*N. tessellata*) (Reptilia: Colubridae) of the Samara region. *Current Studies in Herpetology*, vol. 15, iss. 1–2, pp. 69–76 (in Russian).

Romanova E. B., Solomaikin E. I., Bakiev A. G., Gorelov R. A., Klenina A. A. Immunohematological indicators of poisonous and non-toxic snakes in the Volga basin with different anthropogenic transformations. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2017, vol. 19, no. 2, pp. 54–61 (in Russian).

Ruchin A. B., Ryzhov M. K. Amphibians and reptiles of Mordovia: An ecological and faunistic survey. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2003, no. 2, pp. 195–201 (in Russian).

Ruchin A. B., Lapshin A. S., Ryzhov M. K. On snake distribution in Mordovia region. *Current Studies in Herpetology*, 2005, vol. 7, iss. 3–4, pp. 93–98 (in Russian).

Ruchin A. B., Ryzhov M. K., Lobachev E. A. Distribution and morphometric characteristics of the common snake (*Natrix natrix*) from Mordovia. In: *Zmei Vostochnoi Evropy* [Serpents of Eastern Europe]. Togliatti, Institut ekologii Volzhskogo basseina RAN Publ., 2003. pp. 70–72 (in Russian).

Sokolina F. M., Pavlov A. V., Yusupov R. *Gematologiya presmykaiushchikhsia. Metodicheskoe posobie k kursu gerpetologii, bol'shomu praktikumu i seminaram* [Reptile Hematology: The Guidance Manual for Herpetology Course, Long-Term Practical Work, and Seminars]. Kazan, Kazanskii universitet Publ., 1997. 31 p. (in Russian).

Tabachishin V. G., Tabachishina I. E. Distribution and ecology features of *Natrix natrix* in the north of the Lower Volga region. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2002, no. 2, pp. 179–183 (in Russian).

Khairutdinov I. Z., Sokolina F. M. *Kharakteristika krovi reptilii i ee sviaz' s usloviyami sredy obitaniia* [Reptile Blood Characteristics and their Connection with En-

- vironmental Conditions]. Kazan, Kazanskii universitet Publ., 2010. 44 p. (in Russian).
- Chuguevskaya N. M. *Uzhi (Serpentes, Colubridae, Natrix) Volzhskogo basseina: Ekologiya i okhrana* [Snakes (Serpentes, Colubridae, *Natrix*) of the Volga basin: Ecology and conservation]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Togliatti, 2005. 20 p. (in Russian).
- Shlyakhtin G. V., Tabachishin V. G., Zavyalov E. V. Nutrition ecology of common snake (*Natrix natrix*) in the north of the Lower Volga region. *Current Studies in Herpetology*, 2005, vol. 3–4, pp. 111–116 (in Russian).
- Arican H., Cicek K. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna. *Acta Herpetologica*, 2010, vol. 5, no. 2, pp. 179–198. https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-8526
- Bakiev A., Kirillov A., Mebert K. Diet and Parasitic Helminths of Dice Snakes from the Volga Basin, Russia. *Mertensiella*, 2011, vol. 18, pp. 325–329.
- Campbell T. W. Clinical pathology of reptiles. *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. St. Louis (MO), Saunders Publishing, 2006, pp. 453–470.
- Coico R., Sunshine G., Benjamini E. *Immunology: A Short Course*. Hoboken, Wiley-Liss Publications, 2003. 500 p.
- Davis A. K., Maney D. L., Maerz J. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Functional Ecology*, 2008, vol. 22, pp. 760–767. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>
- Davis A. K., Cook K. C., Altizer S. Leukocyte profiles of House Finches with and without mycoplasmal conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease. *Eco-Health*, 2004, vol. 1, iss. 4, pp. 362–373 <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0134-2>
- International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals*. Geneva, Switzerland, Council for International Organization of Medical Sciences Publ., 2012. 4 p.
- Kluger M. J., Ringler D. H., Anver M. R. Fever and survival. *Science*, 1975, vol. 188, pp. 166–168.
- Litvinov N., Bakiev A., Mebert K. Thermobiology and microclimate of the Dice snake at its Northern range limit in Russia. *Mertensiella*, 2011, vol. 18, pp. 330–335.
- Merchant M., Williams S., Trosclair P. L., Elsey R. M., Mills K. Febrile response to infection in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2007, vol. 148, iss. 4, pp. 921–925. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.09.016>
- Oros J., Casal A. B., Arencibia A. Microscopic studies on characterization of blood cells of endangered sea turtles. *Microscopy: Science, Technology, Application and Education*, 2010, vol. 1, pp. 75–84.
- Salakij C., Salakij J., Chanhom L. Comparative hematology, morphology and ultrastructure of blood cells in Monocellate cobra (*Naja kaouthia*), Siamese spitting cobra (*Naja siamensis*) and Golden spitting cobra (*Naja sumatrana*). *Kasetsart Journal – Natural Science*, 2002, vol. 36, pp. 291–300.
- Stacy N. I., Alleman A. R., Sayler K. A. Diagnostic hematology of reptiles. *Clinics in Laboratory Medicine*, 2011, vol. 31, iss. 1, pp. 87–108. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006>
- Tavares-Dias M., Oliveira-Junior A. A., Marcon J. L. Methodological limitations of counting total leukocytes and thrombocytes in reptiles (Amazon turtle, *Podocnemis expansa*): An analysis and discussion. *Acta Amazonica*, 2008, vol. 38, no. 2, pp. 351–356.