

Сравнительный лейкоцитарный профиль крови *Emys orbicularis* (Reptilia: Emydidae) из двух популяций

Е. Б. Романова^{1✉}, И. А. Столярова¹, 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 598.132.4:591.111.1

<https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-30-42>

Поступила в редакцию 07.02.2021,
после доработки 04.03.2021,
принята 28.03.2021

Аннотация. Проведена сравнительная оценка лейкоцитарного профиля болотной черепахи *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) из популяций в речном бассейне Урала (Оренбургская область, Беляевский район, 11 самок и 5 самцов) и в речном бассейне Волги (Астраханская область, Красноярский район, 28 самок и 20 самцов). Определены формулы крови самцов и самок с расчетом лейкоцитарных индексов (лимфоцитарно-гранулоцитарного, сдвига лейкоцитов, соотношения лимфоцитов и эозинофилов, соотношения гетерофилов и эозинофилов, соотношения гетерофилов и лимфоцитов). Преобладающими лейкоцитарными клетками в периферической крови болотных черепах являлись лимфоциты (40 – 45%). Среди гранулоцитов доминировали гетерофилы (популяция из Оренбургской области) или базофилы (популяция из Астраханской области). Отсутствие различий в количественных показателях формулы крови и интегральных лейкоцитарных индексах самцов и самок свидетельствовало о сопоставимом уровне воздействия и идентичности физиологических механизмов адаптации, протекающих в организме разнополых особей из Оренбургской области. Межполовые различия, проявляющиеся в повышенном содержании моноцитов ($u = 3.13, p = 0.001$), свидетельствовали об активации естественного иммунитета самцов по сравнению с самками особей из Астраханской области. Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля болотной черепахи из разных популяций выявил различие по содержанию гранулоцитов и агранулоцитов. Самцы из Оренбургской области отличались от самцов из Астраханской области повышенной долей гетерофилов и пониженным содержанием базофилов. Самки обеих выборок различались по всем показателям формулы крови, кроме эозинофилов, доля которых была одинакова ($u = 0.71, p = 1.00$). В периферической крови самок из Оренбургской области выявлено более высокое содержание гетерофилов, моноцитов и пониженное содержание базофилов и лимфоцитов по сравнению с самками из Астраханской области. Анализ лейкоцитарного состава крови выявил количественно-качественные изменения в иммунологических показателях при инвазии гемопаразитами. При этом снижалась специфическая иммунная реакция (содержание лимфоцитов), что компенсировалось повышением неспецифической защитной системы (содержание гетерофилов). Поддержание иммунологической реактивности организма в условиях инвазии определялось функциональной активностью гетерофилов, что подтверждалось более высоким значением индекса соотношения гетерофилов и лимфоцитов. Картина крови и динамика лейкоцитарных индексов крови болотных черепах исследованных популяций отражали активный отклик организма на комплекс экологических факторов среды, в том числе при паразитарных инвазиях.

Ключевые слова: *Emys orbicularis*, лейкоцитарные индексы, периферическая кровь, лейкоцитарная формула крови, Оренбургская область, Астраханская область

Образец для цитирования: Романова Е. Б., Столярова И. А., Бакиев А. Г., Горелов Р. А. 2021. Сравнительный лейкоцитарный профиль крови *Emys orbicularis* (Reptilia: Emydidae) из двух популяций // Современная герпетология. Т. 21, вып. 1/2. С. 30 – 42. <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-30-42>

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; Столярова Ирина Александровна: irinaisto75@gmail.com; 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

Болотная черепаха *Emys orbicularis* внесена в Красный список МСОП с категорией таксона, находящегося в состоянии, близком к угрожаемому – «Near Threatened» (NT) (Red List..., 2020). Восточная часть ареала заходит в речные бассейны Волги и Урала, где вид представлен популяциями гаплолинии I номинативного подвида *E. o. orbicularis* (Дуйсебаева и др., 2019; Lenk et al., 1999). Адаптации этой наиболее широко распространенной внутривидовой формы (Joos et al., 2017) к различным природно-географическим условиям отягощаются в настоящее время возрастающим пресом антропогенных и климатических изменений на среду обитания.

Исследования крови особей, представляющих отдельные популяции болотной черепахи, носят разрозненный и фрагментарный характер (Лобода, 1998; Большакова, Бакиев, 2005; Байрамбекова и др., 2017; Alder, Huber, 1923; Duguay, 1967; Lukakis, Haritos, 1973; Lukakis, 1974; Musquera et al., 1976; Palomeque et al., 1977; Vasse, Beaupain, 1981; Uğurtaş et al., 2003; Metin et al., 2006; Colagar, Jafari, 2007; Arikan, Cicek, 2010; Javanbakht et al., 2013). Между тем гематологические исследования предоставляют ценный диагностический материал для мониторинга состояния природных популяций при решении природоохранных задач и совершенствовании методов регуляции численности экотермных животных. Сравнительные исследования физиологических показателей здоровых и больных черепах являются весьма информативными при оценке состояния здоровья этих животных как из природных популяций, с целью сохранения их численности, так и содержащихся в неволе, при их лечении (Васильев, 2016; Bolten, Bjorndal, 1992; Hasbun et al., 1998; Knotkova et al., 2002; zvegy et al., 2015).

Актуальность нашего исследования определяется и необходимостью изучения эколого-физиологических особенностей природных популяций болотных черепах, позволяющих им выживать и расширять ареал, важных для решения фундаментальных и прикладных вопросов о роли иммунных реакций и системы крови в адаптации к изменяющимся условиям среды обитания.

Целью работы являлась сравнительная оценка лейкоцитарного профиля болотной черепахи из популяций Уральского бассейна (Оренбургская область) и Волжского бассейна (Астраханская область).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования явились половозрелые особи болотной черепахи, добытые в Рос-

сийской Федерации: Оренбургской области (Беляевский район, окрестности участка «Буртинская степь» Оренбургского заповедника; 16 – 17 июня 2020 г.; 16 особей – 11 самок и 5 самцов) и Астраханской области (Красноярский район, окрестности пос. Комсомольский; 27 – 29 августа 2020 г.; 48 особей – 28 самок и 20 самцов).

Все работы проводились в соответствии с «Международными руководящими принципами для биомедицинских исследований на животных» (International Guiding..., 2012). Кровь у черепах брали путем прокола хвостовой вены. После взятия крови все особи были возвращены в места отлова. Мазки крови (по два от каждой особи) готовили с помощью гематологического штапеля, высушивали на воздухе, затем фиксировали в спирто-эфирной смеси (1:1). Зафиксированные мазки хранили до окрашивания при комнатной температуре. Мазки окрашивали в течение 20 мин красителем Гимза азур-эозин по Романовскому (10 – 12-кратный раствор (фирма «Биолот», Россия), приготовленном на фосфатном буфере (рН 6.8 – 7.2). Готовые мазки просматривали на микроскопе Meiji Techno серии МТ 4000 с иммерсией, при увеличении $\times 1500$ («Meiji Techno», Япония) с дифференцированным подсчетом лейкоцитов (Соколина и др., 1997; Alleman et al., 1992). С учетом морфологических особенностей определяли пять типов лейкоцитарных клеток (в %): гранулоциты (гетерофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (моноциты, лимфоциты). Цифровые изображения препаратов выполняли камерой Vision CAM («Vision», Япония) для тринокулярного микроскопа Meiji Techno с использованием интегрированного адаптера и разъема C-mount (увеличение $\times 1500$).

На основании лейкоцитарной формулы крови рассчитали интегральные лейкоцитарные индексы в относительных единицах:

1) индекс сдвига лейкоцитов, ИСЛ = $\frac{\Sigma \text{гранулоцитов}}{\Sigma \text{агранулоцитов}}$;

2) индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов, ИСЛЭ = $\frac{Л}{Э}$;

3) индекс соотношения гетерофилов и эозинофилов, ИСГЭ = $\frac{Г}{Э}$;

4) лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс, ИЛГ = $\frac{Л \cdot 10}{Э + Г + Б}$;

5) индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов, ИСГЛ = $\frac{Г}{Л}$, где Л – лимфоциты, Э – эозинофилы, Г – гетерофилы, Б – базофилы.

Измеряли длину карапакса (в мм) черепах по его прямой средней линии от переднего края загривкового щитка до заднего конца шва между надхвостовыми щитками штангенциркулем.

Данные сравнивали методами непараметрической статистики с расчетом критериев: Краскела – Уоллиса (*H*) (при множественном сравнении независимых групп по одному признаку), Данна (*D*) (множественный критерий при по-парном сравнении групп), Манна – Уитни (*u*) при сравнении двух групп в пакете прикладных программ «Статистика», критерием *z* при сравнении долей. За величину статистической значимости принимали $\alpha = 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическую дифференциацию лейкоцитарных клеток проводили на основе ранее опубликованных описаний (Соколова и др., 1997; Alleman et al., 1992; Campbell, 2006; Metin et al., 2006; Perpinan, Sanchez, 2009; Cicek et al., 2015 и др.). К гранулоцитам относили гетерофилы, эозинофилы и базофилы. Наиболее крупными гранулоцитами являлись гетерофилы. Они имели одно темноокрашенное ядро овальной или круглой формы, расположенное эксцентрически. Цитоплазма (за исключением области вокруг ядра) окрашивалась от бледно-сиреневого цвета до оранжевого и содержала в различном количестве овальные или веретеновидные гранулы разного размера.

Эозинофилы были представлены крупными клетками с эксцентрически расположенным ядром овальной или эллипсоидной формы. Вся ци-

топлазма в клетке заполнена круглыми, одинаково окрашивающимися эозинофильными гранулами. По сравнению с гранулами гетерофилов гранулы эозинофилов окрашивались слабее.

Базофилы представляли собой круглые клетки среднего размера. Ядро круглое, располагалось в центре клетки, имело однородный темный хроматин. Крупные округлые гранулы окрашивались с разной интенсивностью и часто полностью скрывали ядро.

Среди агранулоцитов дифференцировали два типа клеток: моноциты и лимфоциты. Моноциты – крупные округлые клетки. Ядро большое дольчатое, имело светлый хроматин. Цитоплазма серо-голубая, часто с мелкими гранулами. Лимфоциты были представлены клетками разного размера. В центре малых лимфоцитов располагалось темно-синее интенсивно окрашенное ядро, окруженное небольшой зоной синей цитоплазмы. В крупных лимфоцитах круглое ядро было локализовано в определенной области клетки, цитоплазма бледно-голубого цвета занимала большой объем.

Преобладающими клетками в периферической крови болотных черепах из Оренбургской области являлись лимфоциты. Среди гранулоцитов доминировали гетерофилы. Статистически значимых половых различий в лейкоцитарном составе периферической крови этой выборки не выявлено (табл. 1).

Таблица 1. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава периферической крови самцов и самок *Emys orbicularis* из Оренбургской области

Table 1. Comparative analysis of the peripheral blood leukocyte composition of *Emys orbicularis* males and females from the Örenburg region

Показатели лейкограммы / Leukogram indicators	Самцы / Males, <i>n</i> = 5		Самки / Females, <i>n</i> = 11		Статистические сравнения / Statistical comparisons	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	Критерий Манна– Уитни / Mann– Whitney criterion, <i>u</i>	Уровень значимости / Significance level, <i>p</i>
Гетерофилы / Heterophils, %	23.00	6.00	23.00	13.00	1.21	0.22
Эозинофилы / Eosinophils, %	8.00	10.00	14.00	12.00	0.26	0.79
Базофилы / Basophils, %	14.00	10.00	12.00	8.00	1.41	0.15
Моноциты / Monocytes, %	10.00	6.00	13.00	8.00	0.79	0.236
Лимфоциты / Lymphocytes, %	42.00	6.00	40.00	7.00	0.88	0.14
ИСЛ, отн. ед. / Leukocyte shift index	0.85	0.24	0.92	0.29	0.53	0.61
ИСЛЭ, отн. ед. / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	5.71	4.18	3.13	3.83	0.88	0.14
ИСГЭ, отн. ед. / Index of the heterophils and eosinophils ratio	2.87	3.06	1.75	2.57	0.65	0.44
ИЛГ, отн. ед. / Lymphocyte-granulocyte index	9.33	2.87	8.04	2.60	0.82	0.22
ИСГЛ, отн. ед. / Index of the heterophils and lymphocytes ratio	0.54	0.24	0.63	0.34	0.27	1.09

Примечание. *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах.

Note. *Me* – median, *IQR* – Inter-quartiles range.

Отсутствие различий в количественных показателях формулы крови и интегральных лейкоцитарных индексах самцов и самок свидетельствовало о сопоставимом уровне воздействия и идентичности физиологических механизмов адаптации, протекающих в организме болотных черепах оренбургской выборки.

В периферической крови болотных черепах из Астраханской области доминирующими клетками также являлись малые и большие лимфоциты. Однако среди гранулоцитов в крови самок и самцов преобладали базофилы. Анализ лейкоцитарных формул выявил внутривидовые межполовые различия, проявляющиеся в повышенном содержании моноцитов в крови самцов по сравнению с самками ($u = 3.13, p = 0.001$) (табл. 2). Моноциты являются крупными мононуклеарными клетками, выполняют фагоцитирующую, антигенпрезентирующую функции, продуцируют эндогенные регуляторы иммунного ответа (Coico et al., 2003). Полученные результаты свидетельствовали об активации естественного иммунитета самцов астраханской выборки. Статистически значимых различий по количественному содержанию в крови гранулоцитов и интегральным лейкоцитарным индексам между самками и самцами астраханской выборки не обнаружено.

Можно заметить, что средняя длина карапакса самок (156.7 ± 8.93 мм) и самцов (154.0 ± 6.06 мм) из оренбургской выборки статистически значимо не различались ($u = 0.39, p = 0.69$), а в

астраханской выборке по средней длине карапакса самки (130.0 ± 6.73 мм) были мельче ($u = 2.45, p = 0.01$) самцов (154.0 ± 2.50 мм). Межполовые различия подтверждались и непараметрическим критерием корреляции (ассоциации) Спирмана. Умеренную ассоциацию с качественным признаком (полом особи) обнаружили моноциты ($r = 0.34, R^2 = 0.12, p = 0.0008$) и средняя длина карапакса ($r = 0.35, R^2 = 0.12, p = 0.0007$). Самцы из двух выборок не различались как по размерам ($u = 0.08, p = 1.00$), так и доле моноцитов в лейкограмме ($u = 0.79, p = 0.99$).

Колесание физиологических показателей отдельных компонентов иммуногематологической системы при онтогенезе и под воздействием разнообразных факторов позволяет сохранить функциональную целостность всего организма экотермных животных как сложной биологической системы в постоянно изменяющихся условиях среды. Поэтому при анализе иммуногематологических параметров особое внимание следует обратить на системные показатели, включающие результат взаимодействия нескольких компонентов. В этой связи представлялось интересным изучить взаимозависимость между морфологическими и гематологическими показателями болотных черепах. Методом регрессионного анализа показана статистически значимая корреляция количества эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов в периферической крови с размерами тела черепах (табл. 3).

Таблица 2. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава периферической крови самцов и самок *Emys orbicularis* из Астраханской области

Table 2. Comparative analysis of the peripheral blood leukocyte composition of *Emys orbicularis* males and females from the Astrakhan region

Показатели лейкограммы / Leukogram indicators	Самцы / Males, <i>n</i> = 20		Самки / Females, <i>n</i> = 28		Статистические сравнения / Statistical comparisons	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	Критерий Манна–Уитни / Mann–Whitney criterion, <i>u</i>	Уровень значимости / Significance level, <i>p</i>
Гетерофилы / Heterophils, %	11.50	9.50	12.00	10.00	0.72	0.47
Эозинофилы / Eosinophils, %	12.00	7.50	10.50	10.00	0.27	0.78
Базофилы / Basophils, %	21.50	13.50	23.50	10.00	0.22	0.82
Моноциты / Monocytes, %	10.00	8.00	7.50	3.00	3.13	0.001
Лимфоциты / Lymphocytes, %	42.00	8.50	45.00	11.00	1.56	0.11
ИСЛ, отн. ед. / Leukocyte shift index	0.89	0.33	0.88	0.37	0.43	0.66
ИСЛЭ, отн. ед. / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	3.41	3.45	4.15	5.40	0.75	0.45
ИСГЭ, отн. ед. / Index of the heterophils and eosinophils ratio	1.15	0.91	1.27	1.50	1.04	0.29
ИЛГ, отн. ед. / Lymphocyte-granulocyte index	9.29	3.38	9.36	4.53	0.53	0.59
ИСГЛ, отн. ед. / Index of the heterophils and lymphocytes ratio	0.26	0.23	0.24	0.25	0.18	0.85

Примечание. *Me* – медиана, *IQR* – интерквартильный размах. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Note. *Me* – median, *IQR* – Inter-quartile range. Statistically significant differences are highlighted in bold..

Таблица 3. Связь количественных показателей формулы крови с размерами тела *Emys orbicularis*
Table 3. Relationship of quantitative indicators of the blood formula with the body size of *Emys orbicularis*

Показатель / Indicator, %	Уравнение регрессии / Regression equation	<i>r</i>	<i>R</i> ²	<i>p</i>
Гетерофилы / Heterophils	$y = 16.86 - 0.0024x$	-0.008	0.0001	0.92
Эозинофилы / Eosinophils	$y = 0.5135 + 0.0772x$	0.36	0.13	0.00002
Базофилы / Basophils	$y = 26.09 - 0.049x$	-0.178	0.031	0.038
Моноциты / Monocytes	$y = 3.93 + 0.0425x$	0.269	0.072	0.001
Лимфоциты / Lymphocytes	$y = 53.04 - 0.0709x$	-0.277	0.076	0.001

Примечание. *r* – коэффициент корреляции, *R*² – коэффициент детерминации, *p* – достигнутый уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Note. *r* – correlation coefficient, *R*² – determination coefficient, *p* – achieved significance level. Statistically significant differences are highlighted in bold.

В свою очередь, анализ полученных зависимостей показал, что примерно на 13% (показатель детерминации *R*² = 0.13) дисперсия содержания эозинофилов в крови объясняется дисперсией размера тела болотных черепах. Для моноцитов и лимфоцитов этот показатель детерминации был еще меньше: 0.072 и 0.076 соответственно, и только на 7% дисперсия содержания в крови агранулоцитов объяснялась размерами тела. Полученный результат показывает, что при анализе и оценивании адаптационных возможностей организма наряду с простыми детализированными показателями полезно иметь в виду и зависимости одного признака от одного или нескольких других признаков (количественных или качественных).

Сравнительный анализ лейкоцитарного профиля болотных черепах из разных популяций выявил различия по содержанию как гранулоцитов, так и агранулоцитов. Самцы оренбургской

выборки отличались от самцов астраханской выборки повышенной долей гетерофилов и пониженным содержанием базофилов. Самки обеих выборок различались по всем показателям формулы крови, кроме эозинофилов, доля которых была одинакова. В периферической крови самок оренбургской выборки выявлено более высокое содержание гетерофилов, моноцитов и пониженное содержание базофилов и лимфоцитов по сравнению с самками астраханской выборки (табл. 4).

Лейкоцитарные клетки периферической крови рептилий ответственны за проявление как реакций естественного иммунитета (гетерофилы, базофилы и эозинофилы), так и адаптивного иммунного ответа (лимфоциты). По изменениям соотношения разных типов лейкоцитов под воздействием внутренних или внешних факторов судят о состоянии и функциональной активности иммун-

Таблица 4. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава периферической крови самцов и самок *Emys orbicularis* в выборках из двух популяций

Table 4. Comparative analysis of the peripheral blood leukocyte composition of *Emys orbicularis* males and females in samples from two populations

Показатели лейкограммы / Leukogram indicators	Самки / Females		Самцы / Males	
	<i>z</i>	<i>p</i>	<i>z</i>	<i>p</i>
Гетерофилы / Heterophils, %	4.52	<0.001	3.32	0.0086
Эозинофилы / Eosinophils, %	0.71	1.00	0.48	0.99
Базофилы / Basophils, %	4.98	<0.001	3.83	0.0012
Моноциты / Monocytes, %	3.91	<0.001	0.79	1.00
Лимфоциты / Lymphocytes, %	2.84	0.044	0.75	0.99
ИСЛ, отн. ед. / Leukocyte shift index	0.71	1.00	0.26	1.00
ИСЛЭ, отн. ед. / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	1.27	0.98	0.40	0.97
ИСГЭ, отн. ед. / Index of the heterophils and eosinophils ratio	2.38	0.17	2.17	0.29
ИЛГ, отн. ед. / Lymphocyte-granulocyte index	1.87	0.60	0.66	1.00
ИСГЛ, отн. ед. / Index of the heterophils and lymphocytes ratio	4.59	<0.001	3.08	0.02

Примечание. Критерий *z* – сравнение долей; *p* – достигнутый уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Note. *z* – comparison of shares; *p* – the achieved level of significance. Statistically significant differences are highlighted in bold.

ного реагирования организма (Arıcan, Cicek, 2014). Полученные результаты свидетельствовали об активации естественного иммунитета самок и самцов оренбургской выборки по сравнению с самками астраханской выборки. Известно, что невысокое содержание базофилов в периферической крови повышается при поступлении в организм дополнительных антигенов. На мембране этих клеток содержатся антиген-специфические рецепторы, активация которых приводит к дегрануляции базофилов и выбросу гистамина в ответ на поступление антигена в организм, что вызывает формирование воспалительной реакции и реализацию основных функций врожденного иммунитета рептилий. Процесс зависит от концентрации антигена и температуры (Syprek et al., 1984). Повышенная доля базофилов в крови самок и самцов астраханской выборки могла быть вызвана разными причинами: загрязнением среды обитания, заболеваниями или кровепаразитарными инвазиями (Васильев, 2016).

Информативными интегральными показателями реактивности организма являются интегральные индексы: ИСЛ, ИСЛЭ, ИСГЭ, ИЛГ и ИСГЛ. Так, известно, что увеличение соотношения гетерофилов к лимфоцитам наряду с другими изменениями в формуле крови свидетельствует о развитии стрессорных реакций в организме животных (Davis et al., 2008). Более высокое значение индекса ИСГЛ у особей оренбургской выборки может свидетельствовать о дополнительном стрессовом воздействии на болотных черепах.

Известно, что различные характеристики окружающей среды (температура, скорость течения, рН среды и т. д.) могут повлиять на возникновение, распространенность и интенсивность заболеваний и инвазий животных (Marcogliese, Sone, 1997). При проведении гематологического анализа в периферической крови черепах обеих выборок были выявлены измененные эритроциты удлиненной формы с эксцентрическими ядрами. В цитоплазме этих эритроцитов обнаруживались гемопаразиты. По внутриклеточному расположению, внешнему виду, форме и морфологии гемопаразиты соответствовали роду *Haemogregarina* из семейства *Haemogregarinidae* (Мкртчян, 1966; Telford, 2009). Хорошо известно, что представители данного рода инфицируют рептилий в качестве промежуточных хозяев (Siddall, Dessler, 1992; Ozvegy et al., 2015), и различные стадии жизненного цикла гемопаразита развиваются в эритроцитах периферической крови черепах, обитающих в пресных водах (Мкртчян, 1966; Olsen, 1986; Ozvegy et al., 2015) (рис. 1).

Сравнительный анализ распространенности гемопаразитов в обеих выборках показал, что в астраханской выборке было больше незараженных самок. Отметим, тем не менее, что в литературе имеются данные о преимущественном поражении гемопаразитами самок по сравнению с самцами (Molla et al., 2013). В целом по выборке доли зараженных и незараженных гемопаразитами особей статистически значимо не различались. В оренбургской выборке распространенность *Haemogregarina* sp. среди самок и самцов была одинаковой, но при этом в целом по выборке доля зараженных особей оказалась выше по сравнению с астраханскими черепахами (табл. 5).

Вопрос об изменении гематологических показателей у рептилий при инвазии остается открытым, что связано, в первую очередь, с отсутствием показателей условной нормы для различных видов в зависимости от возрастных, половых и сезонных особенностей. Анализ литературных сведений показывает, что болотные черепахи, инфицированные *Haemogregarina stepanowi*, имели более низкие значения гематокрита, гемоглобина, эритроцитов по сравнению с незараженными особями (Ozvegy et al., 2015). Ряд авторов отмечают изменение формы и размера эритроцитов при инвазиях (Мкртчян, 1966; Хайрутдинов, Соколина, 2010). Имеются данные о повышении в крови содержания плазматических клеток, гетерофилов, азурофилов и лимфоцитов ящериц, в крови которых зафиксированы паразиты (Хайрутдинов, Соколина, 2010).



Рис. 1. *Haemogregarina* sp.: U-образной формы в эритроците болотной черепахи, хорошо видно эксцентрично смещенное ядро эритроцита

Fig. 1. U-shaped *Haemogregarina* sp. in an erythrocyte of *Emys orbicularis*, the eccentrically displaced nucleus of the erythrocyte is clearly visible

Таблица 5. Встречаемость гемопаразитов в эритроцитах *Emys orbicularis* в выборках из двух популяций
Table 5. Occurrence of hemoparasites in *Emys orbicularis* erythrocytes in samples from two populations

Место отлова черепах / <i>Emys orbicularis</i> capture site	Самки / Females		Самцы / Males		Вся выборка / The entire selection	
	Без паразитов / No parasites	С паразитами / With parasites	Без паразитов / No parasites	С паразитами / With parasites	Без паразитов / No parasites	С паразитами / With parasites
Астраханская область (1) / Astrakhan region (1)	14/0.61*	9/0.39	5/0.27	13/0.73	19/0.46	22/0.54
	$z = 5.11, p < 0.001$		$z = 1.87, p = 0.1$		$z = 0.8, p = 0.5$	
Оренбургская область (2) / Orenburg region (2)	1/0.09	10/0.99	1/0.2	4/0.8	2/0.125	14/0.875
	$z = 2.61, p = 0.01$		$z = 1.36, p = 0.2$		$z = 3.01, p = 0.002$	
Статистические показатели / Statistical indicators	$z_{1-2} = 2.88,$ $p = 0.005$	$z_{1-2} = 3.00,$ $p = 0.005$	$z_{1-2} = 0.31, p >$ 0.5	$z_{1-2} = 0.36,$ $p > 0.5$	$z_{1-2} = 2.39,$ $p = 0.02$	$z_{1-2} = 2.57,$ $p = 0.01$

Примечание. * – в числителе число особей, в знаменателе доля на выборку; критерий z – сравнение долей; p – достигнутый уровень значимости. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Note. * – the number of individuals in the numerator, the proportion per sample in the denominator; criterion z – comparison of shares; p – the achieved level of significance. Statistically significant differences are highlighted in bold.

По нашим данным, в астраханской выборке лейкоцитарный профиль самцов болотных черепах с инвазией и без инвазии не различался. Напротив, в лейкограммах самок болотных черепах с гемопаразитами в эритроцитах (9 особей) установлено повышенное содержание моноцитов ($u = 2.67, p = 0.007$) и гетерофилов ($u = 2.02, p = 0.04$) по сравнению с лейкограммами самок без гемопаразитов (14 особей). Высокий показатель индекса ИСГЛ для самок с гемопаразитами ($Me = 0.30, IQR = 0.20$) ($u = 2.34, p = 0.01$) обуславливался приростом в периферической крови доли гетерофилов.

В целом по выборке астраханских черепах лейкоцитарные профили зараженных и незараженных особей различались содержанием гетеро-

филов ($u = 2.08, p = 0.03$), моноцитов ($u = 2.63, p = 0.008$) и лимфоцитов ($u = 2.34, p = 0.018$). В крови особей с гемопаразитами выявлено повышенное содержание гетерофилов, моноцитов и снижение доли лимфоцитов (рис. 2).

Таким образом, наличие гемопаразитов в эритроцитах сопровождалось изменением показателей крови болотных черепах. При этом в крови уменьшалось содержание лимфоцитов и увеличивалось количество гетерофилов и моноцитов. Картина крови является симптоматическим отражением патологического процесса, протекающего в организме животного при инвазии гемопаразитами, и характеризует биологические взаимоотношения паразит – хозяин. Лейкоцитарные показатели крови, в первую очередь гетерофилы и лимфоциты, указывают на иммунную реактивность организма хозяина, которая находится под влиянием многочисленных факторов внешней среды и всевозможных патогенных агентов. Развиваясь в организме болотных черепах, гемопаразиты как биологический раздражитель оказывают на него стрессорное воздействие, формы которого разнообразны и зависят от совокупности биологических и физиологических процессов, происходящих при инвазионных болезнях, а также от защитных свойств и ответных реакций организма хозяина. Гематологическим параметром развития стресса (Davis et al., 2008) у болотных черепах с гемопаразитами в эритроцитах крови можно считать и повышенное значение интегрального лейкоцитарного индекса ИСГЛ ($u = 2.66, p = 0.007$) по сравнению с особями без гемопаразитов.

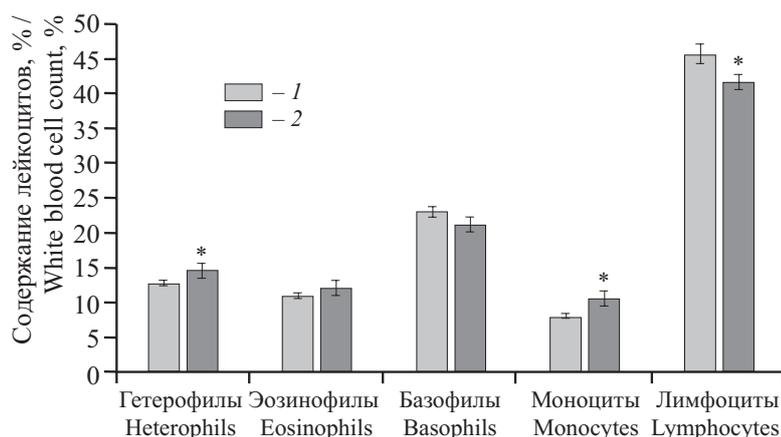


Рис. 2. Изменения лейкоцитарного состава крови *Emys orbicularis* астраханской выборки при наличии в эритроцитах гемопаразитов; 1 – без гемопаразитов, 2 – с гемопаразитами

Fig. 2. Changes in the leukocyte composition of the blood of *Emys orbicularis* of the Astrakhan sample in the presence of hemoparasites in red blood cells: 1 – without hemoparasites, 2 – with hemoparasites

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сутью аутоэкологических исследований является выявление факторов и механизмов функционирования и адаптации организмов в постоянно изменяющихся условиях среды на уровне видов. Такой подход необходим как для изучения разных популяций одного вида, так и экосистем, элементами которых являются виды. В адаптации организмов к условиям среды, возникающих при воздействии экстремальных факторов, в том числе и при инвазионных болезнях, непосредственно участвует система крови, обеспечивающая важнейшие гомеостатические функции организма. Несмотря на имеющиеся литературные данные по изучению гематологических и биохимических показателей, практически отсутствуют исследования по сравнительному анализу адаптивных реакций системы крови и различий со стороны иммунной системы у болотных черепах, обитающих в близких и качественно различных условиях среды.

Преобладающими лейкоцитарными клетками в периферической крови болотных черепах являлись лимфоциты (40 – 45%). Среди гранулоцитов доминировали гетерофилы (оренбургская выборка), обеспечивающие реакции неспецифической естественной защитной системы организма, или базофилы (астраханская выборка), обладающие высокоспецифичными функциями, связанными с активным высвобождением гистамина при поступлении антигенов. У болотных черепах оренбургской выборки межполовых различий по лейкоцитарным показателям не выявлено. Периферическая кровь самцов болотных черепах по сравнению с самками (астраханская выборка) характеризовалась повышенным содержанием моноцитов, что иллюстрировало активацию естественного иммунитета.

Анализ лейкоцитарного состава крови болотных черепах выявил количественно-качественные изменения в иммунологических показателях при инвазии гемопаразитами. При этом снижалась специфическая иммунная реакция (содержание лимфоцитов), что компенсировалось повышением неспецифической защитной системы (содержание гетерофилов). Поддержание иммунологической реактивности организма болотных черепах в условиях инвазии определялось функциональной активностью гетерофилов, что подтверждалось более высоким значением индекса ИСГЛ.

Полученные данные расширяют наши представления о закономерностях изменения

общей реактивности организма болотных черепах и путей адаптации на уровне системы крови. Хорошо известно, что большинство изменений в организме, если не напрямую детерминированы влиянием иммунологических факторов, то являются иммунно-опосредованными (Галактионов, 2004). Иммунологические взаимоотношения организма со средой обитания являются результатом воздействия, с одной стороны, антигенов, а с другой – распознавания и реагирования на эти антигены иммунной системы организма. Любые воздействия, изменяющие иммунологическую реактивность организма животных, в том числе инвазионные болезни, могут нарушать формирование сложных механизмов обеспечения гомеостатического равновесия между организмом и средой обитания.

Благодарности

Авторы признательны кандидату биологических наук, доценту, старшему научному сотруднику Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника Алексею Владиленовичу Павлову за консультации при определении гемопаразитов в эритроцитах болотных черепах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Байрамбекова С. А., Абдурахманова П. П., Магомедкамилова Р. И. 2017. Кислотная и осмотическая устойчивость эритроцитов крови различных популяций болотной черепахи (*Emys orbicularis*) Дагестана // Известия Самарского научного центра РАН. Т. 19, № 2 (2). С. 220 – 223.
- Большакова О. Е., Бакиев А. Г. 2005. Випроциты в крови пресмыкающихся Волжского бассейна (предварительное сообщение) // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. Тольятти. Вып. 8. С. 5 – 7.
- Васильев Д. Б. 2016. Ветеринарная герпетология. М. : Аквариум-Принт. 420 с.
- Галактионов В. Г. 2004. Иммунология. М. : Издательский центр «Академия». 528 с.
- Дуйсебаева Т. Н., Доронин И. В., Малахов Д. В., Кукушкин О. В., Бакиев А. Г. 2019. ГИС-анализ распространения и условий обитания *Emys orbicularis orbicularis* (Testudines, Emydidae) : методические аспекты // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. № 1. С. 28 – 40.
- 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.
- Мкртчян З. А. 1966. Материалы к изучению паразитов крови рептилий Армении // Биологический журнал Армении. Т. XIX, № 10. С. 92 – 100.

- Соколина Ф. М., Павлов Ф. В., Юсупов Р. Х. 1997. Гематология пресмыкающихся. Методическое пособие по курсу герпетология, большому практикуму и спецсеминарам. Казань : Казан. ун-т. 31 с.
- Хайрутдинов И. З., Соколина Ф. М. 2010. Характеристика крови рептилий и ее связь с условиями обитания. Казань : Казан. ун-т. 44 с.
- Alder A., Huber E. 1923. Untersuchungen über Blutzellen and Zellbildung bei Amphibien und Reptilien // Folia Haematologica. Bd. 29. S. 1 – 22.
- Alleman A. R., Jacobson E. R., Raskin R. E. 1992. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*) // American Journal of Veterinary Research. Vol. 53. P. 1645 – 1651.
- Arikan H., Cicek K. 2010. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna // Acta Herpetologica Vol. 5, № 2. P. 179 – 198.
- Arican H., Cicek K. 2014. Haematology of amphibians and reptiles : A review // North-Western Journal of Zoology. Vol. 10, iss. 1. P. 190 – 209.
- Bolten A. B., Bjorndal K. A. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas : Size-specific and sex-specific relationships // Journal of Wildlife Diseases. Vol. 28. P. 407 – 413.
- Campbell T. W. 2006. Clinical pathology of reptiles // Reptile Medicine and Surgery / ed. D. R. Mader. St. Louis, MO : Saunders Elsevier. P. 453 – 470.
- Cicek K., Arikan H., Ayaz D. 2015. Blood cell morphology and erythrocytes count of two freshwater turtles, *Emys orbicularis* and *Mauremys rivulata*, from Turkey // Ecologia Balkanica. Vol. 7, iss. 1. P. 21 – 27.
- Coico R., Sunshine G., Benjamini E. Immunology : A Short Course. Hoboken : Wiley-Liss Publications, 2003. 500 p.
- Colagar H., Jafari N. 2007. Red blood cell morphology and plasma proteins electrophoresis of the European pond terrapin *Emys orbicularis* // African Journal of Biotechnology. Vol. 6, № 13. P. 1578 – 1581.
- Davis A. K., Maney D. L., Maerz J. C. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists // Functional Ecology. Vol. 22. P. 760 – 772.
- Duguy R. 1967. Le cycle annuel des e'le'ments figure's dus sang chez *Emys orbicularis* L., *Lacerta muralis* Laur., et *Natrix maura* L. // Bulletin de la Société Zoologique de France. Vol. 92. P. 23 – 37.
- Hasbun C. R., Lawrence A. J., Naldo J., Samour J. H., Al-Ghais S. M. 1998. Normal blood chemistry of free-living green sea turtle *Chelonia mydas* from the United Arab Emirates // Comparative Haematology International. Vol. 8. P. 174 – 177.
- International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. 2012. Geneva, Switzerland : Council for International Organization of Medical Sciences Publ. 4 p.
- Javanbakht H., Vaissi S., Parto P. 2013. The morphological characterization of the blood cells in the three species of turtle and tortoise in Iran // Research in Zoology. Vol. 3, № 1. P. 38 – 44.
- Joos J., Kirchner M., Vamberger M., Kaviani M., Rahimibashar M. R., Fritz U., Muller J. 2017. Climate and patterns of body size variation in the European pond turtle, *Emys orbicularis* // Biological Journal of the Linnean Society. Vol. 20. P. 1 – 15.
- Knotkova Z., Doubek J., Knotek Z., Hajkova P. 2002. Blood cell morphology and plasma biochemistry in Russian tortoises (*Agrionemys horsfieldi*) // Acta Veterinaria, Brno. Vol. 71. P. 191 – 198.
- Lenk P., Fritz U., Joger U., Wink M. 1999. Mitochondrial phylogeography of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) // Molecular Ecology. Vol. 8, iss. 11. P. 1911 – 1922.
- Lukakis J. J. 1974. A phylogenetic study on turtle hemoglobins // Comparative Biochemistry and Physiology. Part B : Biochemistry and Molecular Biology. Vol. 48. P. 231 – 240.
- Lukakis J. J., Haritos A. A. 1973. Electrophoretic and antigenic properties of turtle myoglobins // Comparative Biochemistry and Physiology. Part B : Biochemistry and Molecular Biology. Vol. 46. P. 117 – 122.
- Marcogliese D., Cone D. R. 1997. Parasite communities as indicators of ecosystem stress // Parasitologia. Vol. 6. P. 65 – 89.
- Metin K., Türkozan O., Kargin F., Koca Y. B., Tas-kavak E., Koca S. 2006. Blood Cell Morphology and Plasma Biochemistry of the Captive European Pond Turtle *Emys or-bicularis* // Acta Veterinaria, Brno. Vol. 75, iss. 1. P. 49 – 55.
- Molla S. H., Bandyopadhyay P. K., Gurelli G. 2013. On the Occurrence of a Haemogregarinae (Apicomplexa) Parasite from Freshwater Turtles of South 24 Parganas, West Bengal, India // Turkiye Parazitoloji Dergisi. Vol. 37. P. 118 – 122.
- Musquera S., Massegú J., Planas J. 1976. Blood proteins in turtles (*Testudo hermanni*, *Emys orbicularis* and *Caretta caretta*) // Comparative Biochemistry and Physiology. Part A : Physiology. Vol. 55. P. 225 – 230.
- Olsen O. W. 1986. Animal Parasites : Their Life Cycles and Ecology. New York : Dover Publication. 564 p.
- Özvegy J., Marinković D., Vučićević M., Gajić B., Stevanović J., Krnjaić D., Aleksić-Kovačević S. 2015. Cytological and molecular identification of *Haemogregarina stepanowi* in blood samples of the European pond turtle (*Emys orbicularis*) from quarantine at Belgrade Zoo // Acta Veterinaria (Beograd). Vol. 65, iss. 4. P. 443 – 453.
- Palomeque J., Sesé P., Planas J. 1977. Respiratory properties of the blood of turtles // Comparative Biochemistry and Physiology. Part A : Physiology. Vol. 57. P. 479 – 483.
- Perpinan D., Sanchez C. 2009. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the European pond turtle (*Emys orbicularis*) and mediterranean pond turtle (*Mauremys leprosa*) // Journal of Herpetological Medicine and Surgery. Vol. 19, № 4. P. 119 – 127.

Red List (Version 2020-3). 2020. URL: <https://www.iucnredlist.org/> (дата обращения: 27.01.2020).

Siddall M. E., Desser S. S. 1992. Prevalence and intensity of *Haemogregarina balli* (Apicomplexa ; Adeleina ; Haemogregarinidae) in three turtle species from Ontario, with observations on intraerythrocytic development // Canadian Journal of Zoology. Vol. 70, № 1. P. 123 – 128.

Sypek J. P., Borysenko M., Findlay S. R. 1984. Anti-immunoglobulin induced histamine release from naturally abundant basophils in the snapping turtle, *Chelydra serpentina*

// Developmental and Comparative Immunology. Vol. 8, iss. 2. P. 359 – 366.

Telford S. R. 2009. Hemoparasites of the Reptilia : Color Atlas and Text. Boca Raton : CRG Press. 376 p.

Uğurtaş I. H., Sevinç M., Yildirimhan H. S. 2003. Erythrocyte size and morphology of some tortoises and turtles from Turkey // Zoological Studies. Vol. 42, № 1. P. 173 – 178.

Vasse J., Beaupain D. 1981. Erythropoiesis and haemoglobin ontogeny in the turtle *Emys orbicularis* L. // Journal of Embryology and Experimental Morphology. Vol. 62. P. 129 – 138.

Comparative leukocyte blood profile of *Emys orbicularis* (Reptilia: Emydidae) from two populations

E. B. Romanova ^{1✉}, I. A. Stolyarova 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/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-30-42>

Received 7 February 2021,
revised 4 March 2021,
accepted 28 March 2021

Abstract. A comparative estimation of the leukocyte profile of the marsh turtle *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) living in the Ural river basin (Orenburg region, Belyaevsky district, 11 females and 5 males) and in the Volga river basin (Astrakhan region, Krasnoyarsk district, 28 females and 20 males) was made. The blood formula (WBC) of males and females was calculated together with the calculation of integral leukocytal indices (the lymphocyte-granulocyte index, the leukocyte shift index, the heterophile/lymphocyte ratio, the heterophil/eosinophil ratio, and the lymphocyte/eosinophil ratio). Lymphocytes were the predominant leukocyte cells in the peripheral blood of *Emys orbicularis* (40–45%). Among granulocytes, heterophiles (the population from the Orenburg region) or basophils (the population from the Astrakhan region) predominated. The absence of any differences in the quantitative indicators of the blood formula and integral indices for males and females indicated a comparable level of impact and identity of the physiological adaptation mechanisms occurring in the animals in the Orenburg region. Intersexual differences were manifested in an increased content of monocytes ($u = 3.13$, $p = 0.001$), which indicated activation of the natural immunity of males in comparison with females from the Astrakhan region. The leukocyte composition of the *Emys orbicularis* blood differed in the content of granulocytes and agranulocytes in different populations. The males from the Orenburg region differed from those from the Astrakhan region by an increased proportion of heterophiles and a reduced content of basophils. Females differed in all blood count parameters, except for eosinophils whose fraction was equal ($u = 0.71$, $p = 1.00$). In the peripheral blood of females from the Orenburg region, a higher content of heterophiles, monocytes and a lower content of basophils and lymphocytes were found in comparison with those from the Astrakhan region. Quantitative-qualitative changes were detected in the leukocyte composition of the blood during the invasion of hemoparasites. The specific immune response (the content of lymphocytes) decreased, and the nonspecific defense system (the content of heterophiles) increased. The maintenance of the immunological reactivity of the organism under the conditions of invasion was determined by the functional activity of heterophiles, which was confirmed by a higher value of the heterophil/lymphocyte index. The blood formula (WBC) and the dynamics of leukocytal indexes of *Emys orbicularis* reflected the active response of the organism to a complex of environmental factors, including parasitic invasions.

Keywords: *Emys orbicularis*, leukocytal index, peripheral blood, WBC (white blood cells), Orenburg region, Astrakhan region

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., Stolyarova I. A., Bakiev A. G., Gorelov R. A. Comparative leukocyte blood profile of *Emys orbicularis* (Reptilia: Emydidae) from two populations. *Current Studies in Herpetology*, 2021, vol. 21, iss. 1–2, pp. 30–42 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-30-42>

REFERENCES

Bayrambekova S. A., Abdurakhmanova P. P., Magomedkamilova R. I. Acid and osmotic resistance of erythrocytes in blood of various populations of *Emys orbicularis*

of Dagestan. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2017, vol. 19, no. 2 (2), pp. 220–223 (in Russian).

Bolshakova O. E., Bakiev A. G. Viprocytes in the blood of reptiles of the Volga basin (preliminary report).

✉ 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; Irina A. Stolyarova: irinaisto75@gmail.com; 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.

- Problems of Herpetology and Toxinology*, 2005, iss. 8, pp. 5–7 (in Russian).
- Vasiliev D. B. *Veterinarnaya gerpetologiya* [Veterinary Herpetology]. Moscow, Akvarium-Print Publ., 2016. 420 p. (in Russian).
- Galaktionov V. G. *Immunologiya* [Immunology]. Moscow, Izdatel'skii tsentr "Akademii", 2004. 528 p. (in Russian).
- Duysebaeva T. N., Doronin I. V., Malakhov D. V., Kukushkin O. V., Bakiev A. G. GIS analysis of the distribution and habitat of *Emys orbicularis orbicularis* (Testudines, Emydidae): Methodological aspects. *Proceedings. Volga Region. Natural Sciences*, 2019, no. 1, pp. 28–40 (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).
- Mkrtychyan Z. A. Materials for the study of blood parasites of reptiles in Armenia. *Biologicheskij zhurnal Armenii*, 1966, vol. XIX, no. 10, pp. 92–100 (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).
- Khairutdinov I. Z., Sokolina F. M. *Kharakteristika krovi reptilii i ee svyaz' s usloviyami sredy obitaniia* [Reptile Blood Characteristics and their Connection with Environmental Conditions]. Kazan, Kazanskii universitet Publ., 2010. 44 p. (in Russian).
- Alder A., Huber E. Untersuchungen über Blutzellen und Zellbildung bei Amphibien und Reptilien. *Folia Haematologica*, 1923, Bd. 29, S. 1–22.
- Alleman A. R., Jacobson E. R., Raskin R. E. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *American Journal of Veterinary Research*, 1992, vol. 53, pp. 1645–1651.
- Arikan H., Cicek K. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna. *Acta Herpetologica*, 2010, vol. 5, no. 2, pp. 179–198.
- Arican H., Cicek K. Haematology of amphibians and reptiles: A review. *North-Western Journal of Zoology*, 2014, vol. 10, iss. 1, pp. 190–209.
- Bolten A. B., Bjorndal K. A. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: Size-specific and sex-specific relationships. *Journal of Wildlife Diseases*, 1992, vol. 28, pp. 407–413.
- Campbell T. W. Clinical pathology of reptiles. In: D. R. Mader, ed. *Reptile Medicine and Surgery*. St. Louis, MO, Saunders Elsevier, 2006, pp. 453–470.
- Cicek K., Arikan H., Ayaz D. Blood cell morphology and erythrocytes count of two freshwater turtles, *Emys orbicularis* and *Mauremys rivulata*, from Turkey. *Ecologia Balkanica*, 2015, vol. 7, iss. 1, pp. 21–27.
- Coico R., Sunshine G., Benjamini E. *Immunology: A Short Course*. Hoboken, Wiley-Liss Publications, 2003. 500 p.
- Colagar H., Jafari N. Red blood cell morphology and plasma proteins electrophoresis of the European pond terrapin *Emys orbicularis*. *African Journal of Biotechnology*, 2007, vol. 6, no. 13, pp. 1578–1581.
- Davis A. K., Maney D. L., Maerz J. C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Functional Ecology*, 2008, vol. 22, pp. 760–772.
- Duguy R. Le cycle annuel des éléments figurés du sang chez *Emys orbicularis* L., *Lacerta muralis* Laur., et *Natrix maura* L. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 1967, vol. 92, pp. 23–37.
- Hasbun C. R., Lawrence A. J., Naldo J., Samour J. H., Al-Ghais S. M. Normal blood chemistry of free-living green sea turtle *Chelonia mydas* from the United Arab Emirates. *Comparative Haematology International*, 1998, vol. 8, pp. 174–177.
- International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals*. Geneva, Switzerland, Council for International Organization of Medical Sciences Publ., 2012. 4 p.
- Javanbakht H., Vaissi S., Parto P. The morphological characterization of the blood cells in the three species of turtle and tortoise in Iran. *Research in Zoology*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 38–44.
- Joos J., Kirchner M., Vamberger M., Kaviani M., Rahimibashar M. R., Fritz U., Muller J. Climate and patterns of body size variation in the European pond turtle, *Emys orbicularis*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2017, vol. 20, pp. 1–15.
- Knotkova Z., Doubek J., Knotek Z., Hajkova P. Blood cell morphology and plasma biochemistry in Russian tortoises (*Agriemys horsfieldi*). *Acta Veterinaria, Brno*, 2002, vol. 71, pp. 191–198.
- Lenk P., Fritz U., Joger U., Wink M. Mitochondrial phylogeography of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology*, 1999, vol. 8, iss. 11, pp. 1911–1922.
- Lukakis J. J. A phylogenetic study on turtle hemoglobins. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1974, vol. 48, pp. 231–240.
- Lukakis J. J., Haritos A. A. Electrophoretic and antigenic properties of turtle myoglobins. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1973, vol. 46, pp. 117–122.
- Marcogliese D., Cone D. R. Parasite communities as indicators of ecosystem stress. *Parassitologia*, 1997, vol. 6, pp. 65–89.
- Metin K., Türkozan O., Kargin F., Koca Y. B., Taskavak E., Koca S. Blood Cell Morphology and Plasma Biochemistry of the Captive European Pond Tur-

tle *Emys orbicularis*. *Acta Veterinaria, Brno*, 2006, vol. 75, iss. 1, pp. 49–55.

Molla S. H., Bandyopadhyay P. K., Gurelli G. On the Occurrence of a Haemogregarinae (Apicomplexa) Parasite from Freshwater Turtles of South 24 Parganas, West Bengal, India. *Turkiye Parazitoloji Dergisi*, 2013, vol. 37, pp. 118–122.

Musquera S., Masegú J., Planas J. Blood proteins in turtles (*Testudo hermanni*, *Emys orbicularis* and *Caretta caretta*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Physiology*, 1976, vol. 55, pp. 225–230.

Olsen O. W. *Animal Parasites: Their Life Cycles and Ecology*. New York, Dover Publication, 1986. 564 p.

Özvegy J., Marinković D., Vučićević M., Gajić B., Stevanović J., Krnjaić D., Aleksić-Kovačević S. Cytological and molecular identification of *Haemogregarina stepanowi* in blood samples of the European pond turtle (*Emys orbicularis*) from quarantine at Belgrade Zoo. *Acta Veterinaria, Beograd*, 2015, vol. 65, iss. 4, pp. 443–453.

Palomeque J., Sesé P., Planas J. Respiratory properties of the blood of turtles. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Physiology*, 1977, vol. 57, pp. 479–483.

Perpinan D., Sanchez C. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the European pond turtle (*Emys orbicularis*) and mediterranean pond tur-

tle (*Mauremys leprosa*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 2009, vol. 19, no. 4, pp. 119–127.

Red List (Version 2020-3). 2020. Available at: <https://www.iucnredlist.org/> (accessed 27 January 2020).

Siddall M. E., Desser S. S. Prevalence and intensity of *Haemogregarina balli* (Apicomplexa; Adeleina; Haemogregarinidae) in three turtle species from Ontario, with observations on interaerythrocytic development. *Canadian Journal of Zoology*, 1992, vol. 70, no. 1, pp. 123–128.

Sypek J. P., Borysenko M., Findlay S. R. Anti-immunoglobulin induced histamine release from naturally abundant basophils in the snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *Developmental and Comparative Immunology*, 1984, vol. 8, iss. 2, pp. 359–366.

Telford S. R. *Hemoparasites of the Reptilia: Color Atlas and Text*. Boca Raton, CRG Press, 2009. 376 p.

Uğurtaş I. H., Sevinç M., Yildirimhan H. S. 2003. Erythrocyte size and morphology of some tortoises and turtles from Turkey. *Zoological Studies*, 2003, vol. 42, no. 1, pp. 173–178.

Vasse J., Beaupain D. Erythropoiesis and haemoglobin ontogeny in the turtle *Emys orbicularis* L. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 1981, vol. 62, pp. 129–138.