

Оригинальная статья

УДК 598.132.4:591.111.1

<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-1-79-93>

**ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ СОСТАВ КРОВИ ЧЕРЕПАХ
EMYS ORBICULARIS И *MAUREMYS CASPICA*
(REPTILIA: TESTUDINES: EMYDIDAE, GEOEMYDIDAE)
ПРИ СИНТОПИИ**

Е. Б. Романова^{1✉}, И. А. Столярова¹, А. Г. Бакиев², Р. А. Горелов²

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

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

² Самарский федеральный исследовательский центр РАН,

Институт экологии Волжского бассейна РАН

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

Поступила в редакцию 26.01.2022 г., после доработки 22.02.2022 г., принята 27.02.2022 г.

Аннотация. Приводятся данные по лейкоцитарному составу крови совместно обитающих двух видов пресноводных черепах – *Emys orbicularis* и *Mauremys caspica* из Республики Дагестан (Россия). Преобладающими клетками в крови самок и самцов обоих видов являлись лимфоциты. Среди гранулоцитов преобладали гетерофилы. Методом двухфакторного многомерного дисперсионного анализа показано значимое влияние на лейкоцитарный состав крови черепах: вида (λ Wilks = 0.459, $p < 0.001$), пола (λ Wilks = 0.809, $p = 0.019$) и взаимодействия этих двух факторов (λ Wilks = 0.000001, $p < 0.001$). В периферической крови самок *E. orbicularis* выявлено более высокое содержание эозинофилов ($z = 3.040$, $p = 0.001$) и базофилов ($z = 5.394$, $p < 0.001$), пониженное содержание гетерофилов ($z = 3.579$, $p < 0.001$) и лимфоцитов ($z = 3.391$, $p < 0.001$) по сравнению с самками *M. caspica*. Самцы *E. orbicularis* отличались от самцов *M. caspica* повышенной долей эозинофилов ($z = 2.716$, $p = 0.003$) и базофилов ($z = 4.829$, $p < 0.001$), пониженным содержанием гетерофилов ($z = 3.474$, $p < 0.001$). При общих адаптивных реакциях межвидовые различия четко выражены: изменчивость лейкоцитарной системы крови *E. orbicularis* более касалась перераспределения соотношения клеток гранулоцитарного ряда (гетерофилов, эозинофилов и базофилов); в иммунных реакциях *M. caspica* установлено преобладание специфической составляющей. Изменения в формуле крови пресноводных черепах были связаны с изменением соотношения числа агранулоцитов к гранулоцитам, что подтверждалось статистически значимыми различиями по лейкоцитарным индексам. Лейкоцитарный профиль крови *E. orbicularis* свидетельствовал о недостаточном ресурсе адаптационных механизмов организма в конкретных условиях среды. С другой стороны, формулы крови и индексы реактивности организмов двух видов показали и возможности активного иммунного ответа, более выраженного у *M. caspica* по сравнению с *E. orbicularis*.

Ключевые слова: *Emys orbicularis*, *Mauremys caspica*, лейкоцитарные индексы, лейкоцитарная формула крови, синтопия, Дагестан

✉ Для корреспонденции. Институт биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета 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: <https://orcid.org/0000-0002-0219-2734>, 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.

Для цитирования. Романова Е. Б., Столярова И. А., Бакиев А. Г., Горелов Р. А. Лейкоцитарный состав крови черепах *Emys orbicularis* и *Mauremys caspica* (Reptilia: Testudines: Emydidae, Geoemydidae) при синтопии // Поволжский экологический журнал. 2022. № 1. С. 79 – 93. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-1-79-93>

ВВЕДЕНИЕ

Пресноводные черепахи в фауне Дагестана представлены двумя видами: болотная черепаха *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) из семейства американских пресноводных черепах Emydidae и каспийская черепаха *Mauremys caspica* (Gmelin, 1774) из семейства азиатских пресноводных черепах Geoemydidae, которое ранее включалось в семейство Emydidae. Два вида совместно встречаются в некоторых водоемах. При синтопии прямая конкуренция за пищевые ресурсы смягчается межвидовыми эколого-биологическими особенностями. Так, болотная черепаха менее теплолюбива по сравнению с каспийской, она раньше последней выходит с зимовки и позже уходит на зимовку, менее активна при высоких летних температурах; у болотной черепахи в рационе питания меньше растительных кормов, чем у каспийской (Банников, 1951; Банников и др., 1977; Алекперов, 1978; Атаев, 1985; Магомедова, 2001; Новрузов, 2014 а, б).

Для изучения физиологической реакции и адаптации черепах все чаще используются морфологические и цитохимические подходы: определение гематокрита, количества и размер эритроцитов и лейкоцитов, концентрации гемоглобина (Lukakis, 1974; Vasse, Beaupain, 1981; Cicek et al., 2015), кислотной и осмотической устойчивости эритроцитов (Магомедова, 2001; Байрамбекова и др., 2017; Knotkova et al., 2002; Metin et al., 2006; Colagar, Jafari, 2007), ферментативной активности (Perpinan, Sanchez, 2009) и формулы крови (Васильев, 2016; Романова и др., 2021; Bolten, Bjorndal, 1992; Davis et al., 2008; Javanbakht et al., 2013; Arikan, Cicek, 2014). Многие исследователи отмечают, что с точки зрения морфологии клеток крови рептилии составляют гетерогенную группу позвоночных и демонстрируют значительные различия между таксонами различных рангов (Лобода, 1998; Hartman, Lessler, 1964; Szarski, Czopek, 1966; Saint Girons, 1970; Arikan et al., 2015), в том числе между пресноводными черепахами родов *Emys* и *Mauremys* (Arikan, Cicek, 2010; Cicek et al., 2015).

Интерес к изучению систематически близких видов животных, обитающих синтопично, связан со специфичностью межвидовых отношений, статических популяционных показателей (Segurado, Araujo, 2008), особенностями трофических связей, репродуктивного поведения (Jablonski et al., 2017; Hart et al., 2018). Синтопия заставляет виды приспосабливаться к комплексу специфических экологических условий, используя набор универсальных эффекторных клеток, взаимовлияние которых поддерживает гомеостаз организма. Тем не менее изучение адаптивных реакций системы крови синтопических видов, в том числе пресноводных черепах, не проводилось. Между тем актуальность таких исследований заключается в выявлении специфики иммунного реагирования разных видов рептилий в изменяющихся условиях среды, когда темпы антропогенных и климатических изменений требуют постоянной мобилизации адаптационных резервов организма.

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ СОСТАВ КРОВИ ЧЕРЕПАХ

Цель работы – сравнительный анализ лейкоцитарного состава крови болотной и каспийской черепах из популяций северо-восточной части Кавказа в условиях синтопического обитания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования явились половозрелые особи болотной и каспийской черепах очаговых популяций, обитающие совместно в двух рядом расположенных водоемах (диаметром 30 – 35 м), организованных для водопоя на временно пересыхающем ручье (Республика Дагестан, Карабудахкентский район, кошара Кутан Салтыбак Первый). Координаты верхнего (большого по размеру) водоема 42°37'38,32"N, 47°38'14,39"E; координаты нижнего – 42°37'36.87"N, 47°38'13.10"E (рис. 1).

Все работы проводились в соответствии с «Международными руководящими принципами для биомедицинских исследований на животных» (International Guiding..., 2012). В период с 4 по 6 мая 2021 г. добыто 25 особей болотных черепах (10 самок и 15 самцов) и 24 особи каспийской черепахи (15 самок и 9 самцов). У каждой особи из хвостовой вены брали кровь. Затем 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 до окрашивания хранили 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 MT 4000 с иммерсией (Meiji Techno, Japan), при увеличении $\times 1500$, 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).

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

индекс сдвига лейкоцитов, ИСЛ = $\Sigma \text{гранулоцитов} / \Sigma \text{агранулоцитов}$;

индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов, ИСЛЭ = L / ε ;

индекс соотношения гетерофилов и эозинофилов, ИСГЭ = G / ε ;

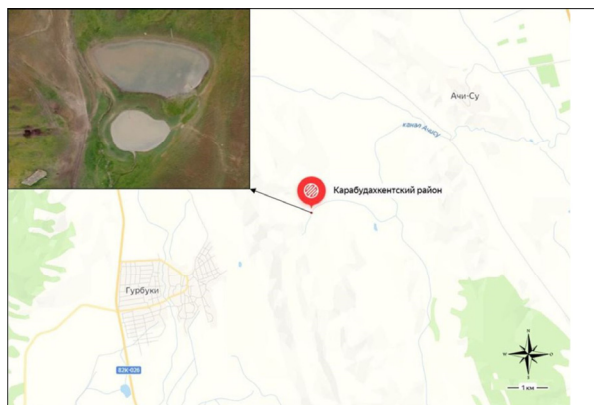


Рис. 1. Карта-схема мест отлова *Emys orbicularis* и *Mauremys caspica* в Дагестане

Fig. 1. A schematic map of *Emys orbicularis* and *Mauremys caspica* catching in Dagestan

лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс, $ИЛГ = Л \times 10 / \mathcal{E} + Г + Б$;
индекс соотношения гетерофилов и лимфоцитов, $ИСГЛ = Г / Л$,
где $Л$ – лимфоциты; $\mathcal{E}$ – эозинофилы; $Г$ – гетерофилы; $Б$ – базофилы.

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

Полученные первичные данные проверяли на нормальность распределения по критериям Шапиро – Уилка, Лиллиефорса, Колмогорова – Смирнова. Анализ данных проводили методами непараметрической статистики с расчетом критериев: Краскела – Уоллиса (H) (при множественном сравнении независимых групп по одному признаку), множественным критерием Данна (z) (при попарном сравнении групп), Манна – Уитни (u) при сравнении двух групп в пакете прикладных программ «Статистика» и среде RStudio. Для выявления отличий между группами объектов по совокупности показателей использовался многомерный дисперсионный анализ с использованием лямбды Уилкса ($\lambda Wilks$) в качестве критериальной статистики. Ввиду несоответствия первичных данных нормальному распределению значимость отличий (p -значения) рассчитывалась путем рандомизации с использованием перестановочной процедуры (Шитиков, Розенберг, 2014). Классификацию исследованных выборок проводили методом главных компонент. За величину статистической значимости принимали $\alpha = 0.05$. С учетом вида распределения центральные тенденции и рассеяние показателей лейкограммы описывали медианой (Me) и интерквартильным размахом (IQR) (значения 25-го и 75-го процентилей).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При попарном сравнении черепах по длине карапакса по критерию Манна–Уитни показано, что самки болотной черепахи в среднем (107.60 ± 2.06) крупнее самцов (97.73 ± 1.24 , $p = 0.006$). По длине карапакса самцы (93.00 ± 3.71) и самки (115.14 ± 7.81) каспийской черепахи статистически значимо не различались. Множественное сравнение с использованием критерия Краскела – Уоллиса не выявило межвидовых половых различий по длине карапакса между исследованными видами черепах, размеры самок ($z = 1.802$, $p = 0.179$) и самцов ($z = 1.723$, $p = 0.127$) были одинаковыми.

Кровь и кроветворная система весьма чувствительны к действию любых факторов окружающей среды, обеспечивая тонкую настройку иммунного ответа в изменяющихся условиях среды (Галактионов, 2004; Рабсон и др., 2006; Хаитов, 2019). Черепахи, как все позвоночные, подвергаются атаке самых разнообразных инфекционных и неинфекционных агентов, действию которых препятствуют две формы иммунного реагирования организма: неспецифический (врожденный) иммунитет и специфический (адаптивный, приобретенный) иммунитет. Врожденная иммунная система черепах представлена клеточными механизмами неспецифической резистентности: моноцитами, базофилами, эозинофилами и гетерофилами (Davis et al., 2008), характеризуется более высоким развитием, быстро и эффектив-

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ СОСТАВ КРОВИ ЧЕРЕПАХ

но реагирует на широкий спектр патогенных антигенов среды обитания по сравнению с адаптивными ответами. Специфический (адаптивный) иммунитет черепах представлен клонами иммунокомпетентных клеток (лимфоцитами), имеющими соответствующие антигенраспознающие рецепторы (Галактионов, 2004). Агранулоциты были доминирующими клетками в периферической крови обоих видов черепах. Процентное содержание агранулоцитов в крови каспийских черепах составляло $55.75 \pm 0.83\%$, болотных черепах – $50.80 \pm 0.87\%$. У обоих видов не выявлено значимых межполовых различий по лейкоцитарному профилю (табл. 1, 2).

Таблица 1. Лейкоцитарный состав крови *Emys orbicularis*

Table 1. Leukocyte blood count of *Emys orbicularis*

Показатель лейкограммы / Leukogram indicator	Самцы / Males <i>n</i> = 15		Самки / Females <i>n</i> = 10		Статистические показатели / Statistical indicators	
	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	<i>Me</i>	<i>IQR</i>	Критерий Манна–Уитни, <i>u</i> / Mann–Whitney test, <i>u</i>	Уровень значимости, <i>p</i> / Significance level, <i>p</i>
Гетерофилы, % / Heterophils, %	27.000	11.250	29.500	4.250	381.500	0.108
Эозинофилы, % / Eosinophils, %	9.500	7.500	9.000	7.500	259.500	0.427
Базофилы, % / Basophils, %	11.000	8.750	12.500	6.500	324.000	0.641
Моноциты, % / Monocytes, %	4.000	3.750	4.000	3.250	291.000	0.865
Лимфоциты, % / Lymphocytes, %	49.000	8.000	44.500	9.500	373.500	0.148
Гранулоциты, % / Granulocytes, %	47.500	10.250	52.000	9.250	243.000	0.262
Агранулоциты, % / Agranulocytes, %	52.500	10.500	48.000	9.250	357.000	0.262
ИСЛ, отн. ед. / Leukocyte shift index, arb. un.	0.905	0.395	0.980	0.412	342.000	0.410
ИСЛЭ, отн. ед. / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio, arb. un.	5.500	4.825	5.372	5.387	297.000	0.961
ИСГЭ, отн. ед. / Index of the heterophils and eosinophils ratio, arb. un.	2.625	3.331	2.806	3.730	364.500	0.205
ИЛГ, отн. ед. / Lymphocyte – granulocyte index, arb. un.	10.213	3.448	8.762	3.029	222.000	0.125
ИСГЛ, отн. ед. / Index of the heterophils and lymphocytes ratio, arb. un.	0.562	0.285	0.704	0.201	418.500	0.019

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

Note. *Me* – median, *IQR* – interquartile range.

Сравнение лейкоцитарных показателей крови пресноводных дагестанских черепах методом многомерного дисперсионного анализа показало значимый эффект факторов: вид (λ Wilks = 0.459, $p < 0.001$), пол (λ Wilks = 0.809, $p = 0.019$) и взаимодействия этих двух факторов (λ Wilks = 0.000001, $p < 0.001$). Установлены статистически значимые межвидовые различия по всем лейкоцитарным показателям крови пресноводных черепах, кроме количественного содержания моноцитов ($z = 1.19$, $p = 0.118$; $z = 0.358$, $p = 0.36$) (табл. 3).

Формула крови самцов и самок каспийских черепах по сравнению с формулой крови болотных черепах отличалась повышенным содержанием гетерофилов ($z = 5.50$, $p < 0.001$) (рис. 2, а) и лимфоцитов ($z = 3.72$, $p < 0.001$) (рис. 2, б). Доля

эозинофилов ($z = 4.49$, $p = 0.000007$) (рис. 2, в) и базофилов ($z = 7.34$, $p < 0.001$) (рис. 2, з) оказалась значимо выше в крови болотных черепах.

Таблица 2. Лейкоцитарный состав периферической крови *Mauremys caspica*

Table 2. Leukocyte blood count of the peripheral blood of *Mauremys caspica*

Показатель лейкограммы / Leukogram indicator	Самцы / Males $n = 9$		Самки / Females $n = 15$		Статистические показатели / Statistical indicators	
	Me	IQR	Me	IQR	Критерий Манна – Уитни, u / Mann– Whitney test, u	Уровень значимости, p / Significance level, p
Гетерофилы, % / Heterophils, %	34.000	5.750	37.000	5.500	353.000	0.077
Эозинофилы, % / Eosinophils, %	5.000	4.500	4.500	3.750	222.000	0.307
Базофилы, % / Basophils, %	3.000	3.000	3.000	3.750	275.500	0.914
Моноциты, % / Monocytes, %	4.000	2.000	3.000	3.000	305.500	0.448
Лимфоциты, % / Lymphocytes, %	50.500	7.750	51.500	8.750	281.500	0.814
Гранулоциты, % / Granulocytes, %	44.000	8.500	46.000	7.750	252.500	0.717
Агранулоциты, % / Agranulocytes, %	56.000	8.500	54.000	7.750	287.500	0.717
ИСЛ, отн. ед. / Leukocyte shift index, arb. un.	0.786	0.265	0.852	0.256	287.500	0.717
ИСЛЭ, отн. ед. / Index of the lym- phocytes and eosinophils ratio, arb. un.	10.700	8.821	11.875	11.315	312.500	0.371
ИСГЭ, отн. ед. / Index of the heter- ophils and eosinophils ratio, arb. un.	5.700	6.948	8.300	7.119	326.500	0.233
ИЛГ, отн. ед. / Lymphocyte – granulocyte index, arb. un.	11.477	4.439	11.075	4.012	252.500	0.717
ИСГЛ, отн. ед. / Index of the hetero- phils and lymphocytes ratio, arb. un.	0.702	0.231	0.705	0.223	320.500	0.287

Примечание: Me – медиана, IQR – интерквартильный размах.

Note. Me – median, IQR – interquartile range.

Изменения в формуле крови пресноводных черепах были связаны с изменением соотношения числа агранулоцитов к гранулоцитам, что подтверждалось статистически значимыми различиями по лейкоцитарным индексам: ИСЛ, ИСЛЭ, ИСГЭ, ИЛГ и ИСГЛ (табл. 4).

Таблица 3. Сравнительный анализ лейкоцитарного состава периферической крови *Emys orbicularis* и *Mauremys caspica*

Table 3. Comparative analysis of the leukocyte composition of the peripheral blood of *Emys orbicularis* and *Mauremys caspica*

Показатель лейкограммы, % / Leukogram indicator, %	Критерий Краскела – Уоллиса / Kruskal– Wallis test	p	Самки / Females		Самцы / Males	
			z	p	z	p
Гетерофилы, / Heterophils	33.177	<0.001	3.579	<0.001	3.474	<0.001
Эозинофилы / Eosinophils	22.147	<0.001	3.040	0.001	2.716	0.003
Базофилы / Basophils	54.144	<0.001	5.394	<0.001	4.829	<0.001
Моноциты / Monocytes	1.925	0.588	1.190	0.118	0.358	0.360
Лимфоциты / Lymphocytes	15.815	0.001	3.391	<0.001	2.066	0.019

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Note. Statistically significant differences are shown in bold.

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ СОСТАВ КРОВИ ЧЕРЕПАХ

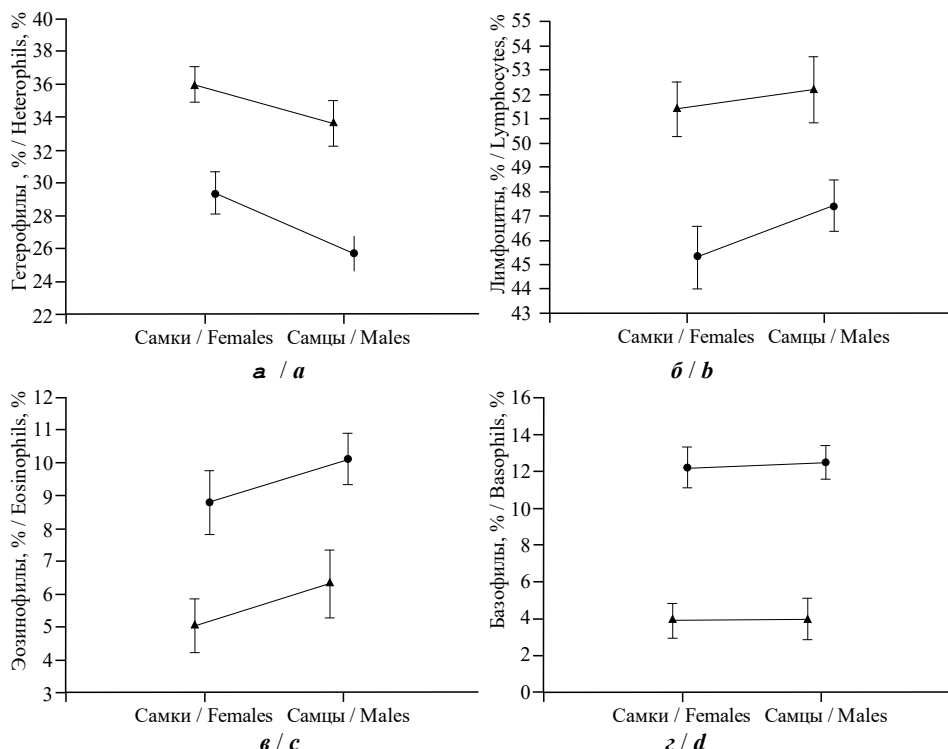


Рис. 2. Доля лейкоцитарных клеток в формулах крови *Emys orbicularis* (●) и *Mauremys capsica* (▲), %: а – гетерофилы, б – лимфоциты, в – эозинофилы, г – базофилы

Fig. 2. Percentage of leukocytes in the blood formula (WBC) of *Emys orbicularis* (●) and *Mauremys capsica* (▲), %: а – heterophils, б – lymphocytes, в – eosinophils, г – basophils

Адекватность и своевременность иммунного ответа клеток крови отражал индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ), сбалансированность этого ответа характеризовал лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ЛИГ).

С целью преобразования тринадцати изученных показателей лейкоцитарного профиля крови к меньшей размерности использовали метод главных компонент, целью которого является изучение взаимосвязи между показателями для выявления факторов, которые упростили бы процесс классификации изученных выборок черепах. Для этой цели вначале были определены факторные оси (компоненты) в пространстве меньшей размерности, на которые проецировали изученные показатели (факторы), наиболее важные с точки зрения содержательной интерпретации. Первая главная компонента с собственным значением 287.13 описывала приблизительно 67.16% общей вариации и имела высокие факторные нагрузки по переменным лимфоциты (0.95) и суммарному содержанию гранулоцитов (0.98). Вторая главная компонента с собственным значением 112.88 описывала 26.40% вариации

Таблица 4. Сравнительный анализ интегральных лейкоцитарных индексов самцов и самок *Emys orbicularis* и *Mauremys caspica*

Table. 4. Comparative analysis of the integral leukocyte indices of *Emys orbicularis* and *Mauremys caspica* males and females

Лейкоцитарный индекс / Leukocyte index	Критерий Краскела – Уоллиса / Kruskal– Wallis test	<i>p</i>	Самки / Females		Самцы / Males	
			<i>z</i>	<i>p</i>	<i>z</i>	<i>p</i>
ИСЛ / Leukocyte shift index	11.539	0.01	2.717	0.003	2.037	0.020
ИСЛЭ / Index of the lymphocytes and eosinophils ratio	26.001	<0.001	3.715	<0.001	2.867	0.002
ИСТЭ / Index of the heterophils and eosinophils ratio	32.419	<0.001	3.715	<0.001	3.316	<0.001
ИЛГ / Lymphocyte–granulocyte index	15.152	<0.001	3.314	<0.001	2.000	0.023
ИСТЛ / Index of the heterophils and lymphocytes ratio	11.189	0.010	0.454	0.325	1.811	0.035

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Note. Statistically significant differences are shown in bold.

и, наоборот, имела низкие факторные нагрузки по этим переменным и теснее связана с переменными гетерофилы (0.80) и эозинофилы (-0.71). Поэтому субъективно обозначили первую выделенную факторную ось как характеризующую агранулоцитарную составляющую крови, а вторую ось интерпретировали как гранулоцитарную составляющую. Лейкоцитарные индексы также отражали структуру выделенных главных компонент. В первую компоненту вносил наибольший вклад лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс ИЛГ (0.97), вторая компонента сильнее коррелировала с индексом соотношения гетерофилов ИСТЭ (0.85) и лимфоцитов

ИСЛЭ (0.73) с эозинофилами (рис. 3).

Распределение особей болотных и каспийских черепах в пространстве выделенных главных компонент показало, что особи болотной черепахи «близки» друг к другу по изученным показателям лейкоцитарного профиля и занимают в основном первый и четвертый квадрант, группируясь в области переменной Гранулоциты, доля которых в периферической крови болотных черепах статистически значимо ($z = 3.40$, $p = 0.0006$) превышала аналогичный по-

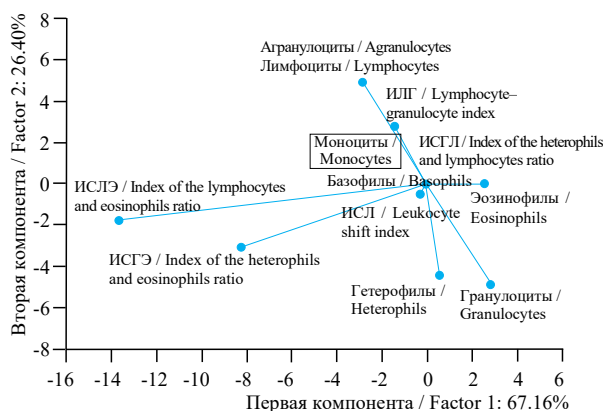


Рис. 3. Показатели лейкоцитарного состава крови *Emys orbicularis* и *Mauremys caspica* в пространстве главных компонент

Fig. 3. Indicators of the leukocyte composition of *Emys orbicularis* and *Mauremys caspica* blood in the space of first two principal components

казатель каспийских черепах (рис. 4). У особей этого вида не наблюдалось сильного разброса в показателях лейкоцитарного профиля.

Диаграмма разброса лейкоцитарных показателей крови каспийской черепахи указывала на значительное перекрытие между двумя видами, однако в целом каспийские черепахи занимали большую часть факторного пространства, что иллюстрировало более разносторонний характер адаптивных гематологических и иммунных ответов у особей этого вида при синтопии.

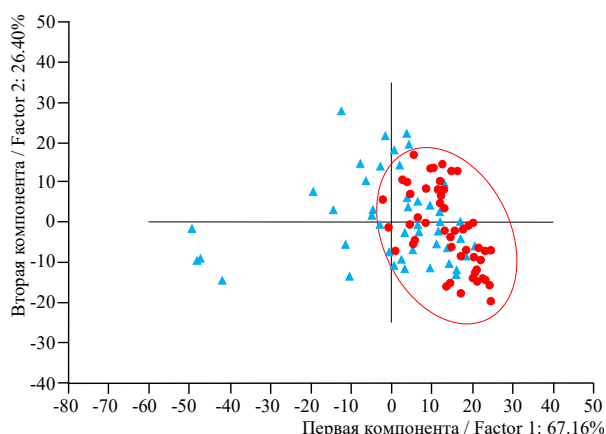


Рис. 4. Распределение особей *Emys orbicularis* (●) и *Mauremys caspica* (▲) в пространстве двух первых главных компонент

Fig. 4. Scatter plot for *Emys orbicularis* (●) and *Mauremys caspica* (▲) samples in the space of first two principal components

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из важных проблем экологии является определение факторов, влияющих на распространение видов (абиотические условия, ограничения распространения и/или биотические взаимодействия). Абиотические условия часто используются в качестве индикаторов пригодности среды обитания и распространения видов. Однако сама по себе окружающая среда не может полностью объяснить распространение видов и на распределение видов в пространстве существенно влияют биотические взаимодействия, например отношения хищник/жертва или конкуренция. Животные, обитающие в одном регионе (симпатрия), могут использовать одну и ту же среду обитания (синтопию) в этом регионе. Стоит отметить, что оценка степени синтопических биотических взаимодействий очаговых популяций может быть более сложной, чем классификация переменных окружающей среды. Полученные данные по лейкоцитарным показателям системы крови двух видов пресноводных черепах показали видоспецифическую адаптивную реакцию в условиях синтопии и иллюстрировали активацию естественного иммунитета самок и самцов *M. caspica* по сравнению с самками и самцами *E. orbicularis*. Повышенное значение ИСЛ у болотной черепахи свидетельствовало, что в иммунном ответе доминирует роль гранулоцитов при некотором отставании клеток лимфоцитарно-моноцитарного звена, являющихся основными клетками в реализации адаптивного ответа. Такое отставание в реагировании на факторы среды обитания со стороны моноцитов и лимфоцитов может приводить к запаздыванию, с одной стороны, фагоцитоза, а с другой, к поздней активации лимфоцитов как эффекторного звена иммунного ответа. Следовательно, повышение ИСЛ у болотной черепахи, по сравнению с каспийской, является сигналом несвоевременного реагирования си-

стемы иммунитета в целом. При этом пониженное значение ИСЛ у каспийской черепахи можно рассматривать как благоприятный показатель активного, адекватного и своевременного иммунного ответа клеток крови.

Повышенное значение другого лейкоцитарного индекса (ИЛГ) у каспийских черепах, по сравнению с болотными, можно трактовать как фактор активной сбалансированной ответной реакции. Понижение ИЛГ является негативным моментом, свидетельствует о наличии воспалительных процессов и неполноценной иммунной реакции.

Таким образом, при анализе полученных результатов обращают на себя внимание, по крайней мере, два обстоятельства: во-первых, при общих адаптивных реакциях двух синтопических видов пресноводных черепах межвидовые различия четко выражены: изменчивость лейкоцитарной системы крови болотной черепахи более касалась перераспределения соотношения клеток гранулоцитарного ряда (гетерофилов, эозинофилов и базофилов); в иммунных реакциях каспийской черепахи установлено преобладание специфической составляющей.

Во-вторых, лейкоцитарный профиль крови болотных черепах, а также разнонаправленное изменение интегральных лейкоцитарных показателей (повышение ИСЛ и понижение ИЛГ) свидетельствовало о недостаточном ресурсе адаптационных механизмов в конкретных условиях среды обитания. С другой стороны, формулы крови и индексы реактивности организма показали и возможности активного ответа, более выраженного у каспийских черепах по сравнению с болотными.

Приведенными фактами ограничиваются сведения о состоянии популяционного иммунитета пресноводных черепах при синтопии и для правильной оценки взаимовлияния *M. caspica* и *E. orbicularis* на жизненный анамнез друг друга, необходимо иметь более полную информацию о различиях между видами в использовании ресурсов, выживании, плодовитости, поведенческих взаимодействиях, морфофизиологических и биохимических параметрах. Продолжение изучения того, как антропогенная нагрузка влияет на эколого-физиологические особенности изученных видов, станет ключевым дополнением к пониманию факторов, позволяющих им выживать, расширять ареал и существовать рядом с человеком, что будет способствовать совершенствованию методов регуляции численности рептилий.

Авторы благодарят А. А. Клёнину и Л. Ф. Мазанаву за помощь в организации и проведении экспедиции в Республику Дагестан.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алекперов А. М. Земноводные и пресмыкающиеся Азербайджана. Баку : Элм, 1978. 264 с.
- Атаев Ч. А. Пресмыкающиеся гор Туркменистана. Ашхабад : Ылым, 1985. 344 с.
- Байрамбекова С. А., Абдурахманова П. П., Магомедкамилова Р. И. Кислотная и осмотическая устойчивость эритроцитов крови различных популяций болотной черепахи (*Emys orbicularis*) Дагестана // Известия Самарского научного центра РАН. 2017. Т. 19, № 2. С. 220 – 223.
- Банников А. Г. Материалы к познанию биологии кавказских черепах // Ученые записки Московского городского педагогического института им. В. П. Потемкина. 1951. Т. 18, вып. 1. С. 129 – 167.
- Банников А. Г., Даревский И. С., Ищенко В. Г., Рустамов А. К., Щербак Н. Н. Определитель земноводных и пресмыкающихся фауны СССР. М. : Просвещение, 1977. 415 с.

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ СОСТАВ КРОВИ ЧЕРЕПАХ

- Васильев Д. Б. Ветеринарная герпетология. М. : Аквариум-Принт, 2016. 420 с.
- Галактионов В. Г. Иммунология. М. : Издательский центр «Академия», 2004. 528 с.
- Лобода Е. И. Морфологические и цитохимические особенности клеток белой крови у представителей некоторых видов холоднокровных позвоночных // Вестник зоологии. 1998. Т. 32, № 3. С. 54 – 57.
- Магомедова Д. Р. Экологическая и морфофизиологическая характеристика *Emys orbicularis*, *Mauremys caspica*, *Testudo graeca* и их эктопаразиты в условиях Дагестана : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Махачкала, 2001. 26 с.
- Новрузов Н. Э. Некоторые аспекты биологии пресноводных черепах временных водоемов аридной части Восточного Азербайджана // Алтайский зоологический журнал. 2014 а. Вып. 8. С. 15 – 22.
- Новрузов Н. Э. Некоторые особенности питания черепах *Emys orbicularis* и *Mauremys caspica* (Reptilia: Testudines) в водоемах аридных зон восточного Азербайджана // Приволжский научный вестник. 2014 б. № 5. С. 10 – 14.
- Рабсон А., Ройт А., Делз П. Основы медицинской иммунологии. М. : Мир, 2006. 320 с.
- Романова Е. Б., Столярова И. А., Бакиев А. Г., Горелов Р. А. Сравнительный лейкоцитарный профиль *Emys orbicularis* (Reptilia : Emydidae) из двух популяций // Современная герпетология. 2021. Т. 21, вып. 1/2. С. 30 – 42. <https://doi.org/10.18500/1814-6090-2021-21-1-2-30-42>
- Соколова Ф. М., Павлов А. В., Юсупов Р. Х. Гематология пресмыкающихся : методическое пособие по курсу герпетология, большому практикуму и спецсеминарам. Казань : Казанский государственный университет, 1997. 31 с.
- Хаитов Р. М. Иммунология : структура и функции иммунной системы. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2019. 328 с.
- Шутиков В. К., Розенберг Г. С. Рандомизация и бутстреп : статистический анализ в биологии и экологии с использованием R. Тольятти : Кассандра, 2014. 314 с.
- 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. P. 1645 – 1651.
- Arikan H., Cicek K. Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish herpetofauna // Acta Herpetologica. 2010. Vol. 5, № 2. P. 179 – 198. https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-8526
- Arican H., Cicek K. Haematology of amphibians and reptiles : A review // North-Western Journal of Zoology. 2014. Vol. 10, iss. 1. P. 190 – 209.
- Arikan H., Ayaz D., Cicek K., Mermer A. Blood cells morphology of *Testudo graeca* and *Testudo hermanni* (Testudines : Testudinidae) from Turkey // Biharean Biologist. 2015. Vol. 9, iss. 2. P. 113 – 116.
- 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. P. 407 – 413.
- 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. P. 21 – 27.
- 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, № 13. P. 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, iss. 5. P. 760 – 772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

Hart K. M., Iverson A. R., Fujisaki I., Lamont M. M., Bucklin D., Shaver D. J. Sympatry or syntopy? Investigating drivers of distribution and co-occurrence for two imperiled sea turtle species in Gulf of Mexico neritic waters // Ecology and Evolution. 2018. Vol. 8, iss. 24. P. 12656 – 12669. <https://doi.org/10.1002/ece3.4691>

Hartman F. A., Lessler M. A. Erythrocyte measurements in fishes, amphibians and reptiles // Biological Bulletin. 1964. Vol. 126, № 1. P. 83 – 88.

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

Jablonski D., Mrocek J., Gruša D., Christophoryová J. Attempting courtship between *Emys orbicularis* and *Trachemys scripta* (Testudines : Emydidae) // Herpetology Notes. 2017. Vol. 10. P. 123 – 126.

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, № 1. P. 38 – 44.

Knotkova Z., Doubek J., Knotek Z., Hajkova P. Blood cell morphology and plasma biochemistry in Russian tortoises (*Agrionemys horsfieldi*) // Acta Veterinaria, Brno. 2002. Vol. 71, iss. 2. P. 191 – 198. <https://doi.org/10.2754/avb200271020191>

Lukakis J. J. A phylogenetic study on turtle hemoglobins // Comparative Biochemistry and Physiology. Part B : Biochemistry and Molecular Biology. 1974. Vol. 48. P. 231 – 240.

Metin K., Türkozan O., Kargin F., Koca Y. B., Taskavak E., Koca S. Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive european pond turtle *Emys orbicularis* // Acta Veterinaria, Brno. 2006. Vol. 75, iss. 1. P. 49 – 55. <https://doi.org/10.2754/avb200677020163>

Perpinan D., Sanchez C. 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. 2009. Vol. 19, № 4. P. 119 – 127. <https://doi.org/10.5818/1529-9651-19.4.119>

Saint Girons M. C. Morphology of the circulating blood cells // Biology of Reptilia / eds. C. Gans, T. S. Parsons. London : Academic Press, 1970. Vol. 3. P. 73 – 91.

Segurado P., Araujo P. R. Population structure of *Emys orbicularis* in syntopy and allotopy with *Mauremys leprosa* // Revista Española de Herpetología. 2008. Vol. 22. P. 45 – 54.

Szarski H., Czopek G. Erythrocyte diameter in some amphibians and reptiles // Bulletin of the Polish Academy of Sciences Biological Sciences. 1966. Vol. 14. P. 433 – 437.

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

Leukocyte blood composition of *Emys orbicularis* and *Mauremys capsica* (Reptilia: Testudines: Emydidae, Geoemydidae) at syntopy

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

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

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

Received: 26 January 2022 / revised: 22 February 2022 / accepted: 27 February 2022

Abstract. Data on the leukocyte blood composition of two co-habiting species of freshwater turtles, *Emys orbicularis* and *Mauremys caspica*, from the Republic of Dagestan (Russia) are provided. Lymphocytes are the predominant cells in the blood of females and males of both species. Heterophils predominated among granulocytes. Two-way multivariate analysis of variance showed a statistical significance of the influence of two factors on the leukocyte formula of freshwater turtles, namely: species (λ Wilks = 0.459, $p < 0.001$), sex (λ Wilks = 0.809, $p = 0.019$) and their interaction (λ Wilks < 0.001, $p < 0.001$). The blood formula (WBC) of *E. orbicularis* females showed higher levels of eosinophils ($z = 3.040$, $p = 0.001$) and basophils ($z = 5.394$, $p < 0.001$) and reduced levels of heterophils ($z = 3.579$, $p < 0.001$) and lymphocytes ($z = 3.391$, $p < 0.001$) compared to *M. caspica* females. Males of *E. orbicularis* differed from those of *M. caspica* by increased levels of eosinophils ($z = 2.716$, $p = 0.003$) and basophils ($z = 4.829$, $p < 0.001$) and a reduced level of heterophils ($z = 3.474$, $p < 0.001$). With general adaptive responses, interspecific differences were clearly expressed: the variability in the parameters of the white blood cell system of *E. orbicularis* was associated with rearrangement of the ratio of granulocyte cells (heterophils, eosinophils and basophils). The predominance of a specific component of the immune system (lymphocytes) was found in the immune responses of *M. caspica*. Changes in the leukocyte profiles of freshwater turtles were associated with a change in the agranulocyte–granulocyte ratio, which was confirmed by statistically significant differences in the integral leukocyte indices. The leukocyte profile of *Emys orbicularis* testified to the insufficient resource of adaptive mechanisms in specific environmental conditions. On the other hand, the blood formula (WBC) showed the possibility of an active response, more pronounced in *M. caspica* than in *E. orbicularis*.

Keywords: *Emys orbicularis*, *Mauremys caspica*, leukocyte index, WBC (white blood cells), syntopy, Dagestan

For citation: Romanova E. B., Stolyarova I. A., Bakiev A. G., Gorelov R. A. Leukocyte blood composition of *Emys orbicularis* and *Mauremys capsica* (Reptilia: Testudines: Emydidae, Geoemydidae) at syntopy. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2022, no. 1, pp. 79–93 (in Russian). <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-1-79-93>

✉ 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: <https://orcid.org/0000-0002-0219-2734>, 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.

REFERENCES

- Alekperov A. M. *Zemnovodnyye i presmykayushchiyesya Azerbaydzhana* [Amphibians and Reptiles of Azerbaijan]. Baku, Elm Publ., 1978. 264 p. (in Russian).
- Ataev Ch. A. *Presmykayushchiyesya gor Turkmenistana* [Reptiles of the Mountains of Turkmenistan]. Ashkhabad, Ylym Publ., 1985. 344 p. (in Russian).
- 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, pp. 220–223 (in Russian).
- Bannikov A. G. Materials for the knowledge of the biology of Caucasian turtles. *Uchenye zapiski Moskovskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo instituta imeni V. P. Potemkina*, 1951, vol. 18, iss. 1, pp. 129–167 (in Russian).
- Bannikov A. G., Darevsky I. S., Ishchenko V. G., Rustamov A. K., Szczerbak N. N. *Opre-delitel zemnovodnykh i presmykayushchikhsya fauny SSSR* [A Guide of Amphibians and Reptiles of Fauna of USSR]. Moscow, Prosveshchenie Publ., 1977. 415 p. (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 "Akademiiia", 2004. 528 p. (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).
- Magomedova D. R. *Ecological and Morphophysiological Characteristics of Emys orbicularis, Mauremys caspica, Testudo graeca and Their Ectoparasites in Dagestan*. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Makhachkala, 2001. 26 p. (in Russian).
- Novruzov N. E. Some aspects of the biology of freshwater turtles of temporary reservoirs in the arid part of Eastern Azerbaijan. *Altajskij zoologicheskij zhurnal*, 2014 a, iss. 8, pp. 15–22 (in Russian).
- Novruzov N. E. Some peculiarities of feeding of turtles *Emys orbicularis* and *Mauremys caspica* (Reptilia: Testudines) in water bodies of arid zones of eastern Azerbaijan. *Privolzhskij nauchnyj vestnik*, 2014 b, no. 5, pp. 10–14 (in Russian).
- Rabson A., Roitt A., Delves P. *Osnovy meditsinskoy immunologii* [Really Essential Medical Immunology]. Moscow, Mir Publ., 2006. 320 p. (in Russian).
- 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>
- Sokolina F. M., Pavlov A. V., Yusupov R. Kh. *Gematologiya presmykayushchihsya. Metodicheskoe posobie po kursu gerpetologiya, bol'shomu praktikumu i specseminaram* [Hematology of Reptiles. Methodological Manual for the Course of Herpetology, a Large Workshop and Special Seminars]. Kazan', Kazan State University Publ., 1997. 31 p. (in Russian).
- Khaitov R. M. *Immunologiya: struktura i funkcii immunoj sistemy* [Immunology: Structure and Functions of the Immune System]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2019. 328 p. (in Russian).
- Shitikov V. K., Rozenberg G. S. *Randomizatsiya i butstrep: statisticheskij analiz v biologii i jekologii s ispol'zovaniem R*. [Randomization and Bootstrap: Statistical Analysis in Biology and Ecology Using R]. Togliatti, Cassandra Publ., 2014. 314 p. (in Russian).
- 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. https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-8526

- Arıcan H., Cicek K. Haematology of amphibians and reptiles: A review. *North-Western Journal of Zoology*, 2014, vol. 10, iss. 1, pp. 190–209.
- Arikan H., Ayaz D., Cicek K., Mermer A. Blood cells morphology of *Testudo graeca* and *Testudo hermanni* (Testudines: Testudinidae) from Turkey. *Biharean Biologist*, 2015, vol. 9, iss. 2, pp. 113–116.
- 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.
- 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.
- 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, iss. 5, pp. 760–772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>
- Hart K. M., Iverson A. R., Fujisaki I., Lamont M. M., Bucklin D., Shaver D. J. Sympatry or syntopy? Investigating drivers of distribution and co-occurrence for two imperiled sea turtle species in Gulf of Mexico neritic waters. *Ecology and Evolution*, 2018, vol. 8, iss. 24, pp. 12656–12669. <https://doi.org/10.1002/ece3.4691>
- Hartman F. A., Lessler M. A. Erythrocyte measurements in fishes, amphibians and reptiles. *Biological Bulletin*, 1964, vol. 126, no. 1, pp. 83–88.
- International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. Geneva, Switzerland, Council for International Organization of Medical Sciences Publ., 2012. 4 p.
- Jablonski D., Mrocek J., Grul'a D., Christophoryová J. Attempting courtship between *Emys orbicularis* and *Trachemys scripta* (Testudines: Emydidae). *Herpetology Notes*, 2017, vol. 10, pp. 123–126.
- 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.
- Knotkova Z., Doubek J., Knotek Z., Hajkova P. Blood cell morphology and plasma biochemistry in Russian tortoises (*Agrionemys horsfieldi*). *Acta Veterinaria, Brno*, 2002, vol. 71, iss. 2, pp. 191–198. <https://doi.org/10.2754/avb200271020191>
- 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.
- Metin K., Türkozan O., Kargin F., Koca Y. B., Taskavak E., Koca S. Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive european pond turtle *Emys orbicularis*. *Acta Veterinaria, Brno*, 2006, vol. 75, iss. 1, pp. 49–55. <https://doi.org/10.2754/avb200877020163>
- Perpinan D., Sanchez C. 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*, 2009, vol. 19, no. 4, pp. 119–127. <https://doi.org/10.5818/1529-9651-19.4.119>
- Saint Girons M. C. Morphology of the circulating blood cells. In: C. Gans, T. S. Parsons, eds. *Biology of Reptilia*. London, Academic Press, 1970, vol. 3, pp. 73–91.
- Segurado P., Araujo P. R. Population structure of *Emys orbicularis* in syntopy and allotopy with *Mauremys leprosa*. *Revista Española de Herpetología*, 2008, vol. 22, pp. 45–54.
- Szarski H., Czopek G. Erythrocyte diameter in some amphibians and reptiles. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences Biological Sciences*, 1966, vol. 14, pp. 433–437.
- 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.