Comparative morphological study of peripheral blood cells in tow species of true lizards family Lacertidae

Dr. Nahla Ebrahim*
Dr. Aroub AlMasri**
Hassan Mhanna***

(Received 19 / 9 / 2021. Accepted 17 / 12 /2021)

□ ABSTRACT □

This present study aimed to compare between two species of lizards *Phoenicolacerta laevis* and *Ophisops elegans* that belong to the true lizards family Lacertidae, by studying the morphology of peripheral blood cells (red blood cells - white blood cells - platelets) by making blood smears and coloring them with a Wright stain. The results showed that there were noticeable differences between the blood smears of each species, where the values measurements were greater in *phoenicolacerta laevis* in addition to the absence of neutrophils in it. The difference also appeared between the smears of the same species in different sampling areas.

Keywords: Lacertidae; blood cell morphology; blood smears; Wright's stain.

* **Associate Professor, Zoology Departmen, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria. d.alya-n@hotmail.com**
****Research Professor at The National Commission For Biotechnology, Damascus, Syria. aalmasri69@hotmail.com**
*****Postgraduate Student, Zoology Departmen, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria. hassan95mhanna@gmail.com**

دراسة مورفولوجية مقارنة لخلايا الدم المحيطية عند نوعين من فصيلة السحالي الحقيقية Lacertidae

د. نهلة ابراهيم*

د. عروب المصري**

حسان مهنا***

(تاريخ الإيداع 19 / 9 / 2021. قبل للنشر في 17 / 12 / 2021)

□ ملخّص □

هدفت الدراسة الحالية للمقارنة بين نوعين من السحالي *Phoenicolacerta laevis* و *Ophisops elegans* التابعين لفصيلة السحالي الحقيقية Lacertidae وذلك من خلال دراسة مورفولوجيا خلايا الدم المحيطية (كريات الدم الحمراء – كريات الدم البيضاء – الصفيحات الدموية) عن طريق اجراء مسحات دموية وتلوينها بملون رايت. أظهرت النتائج وجود اختلافات ملحوظة بين المسحات الدموية التابعة لكل نوع حيث كانت قيم قياسات خلايا الدم أكبر في *Phoenicolacerta laevis* بالاضافة الى عدم وجود العدلات فيها. وظهر الاختلاف أيضاً بين المسحات التابعة لنفس النوع باختلاف مناطق الاعتيان.

الكلمات المفتاحية: السحالي الحقيقية – مورفولوجيا خلايا الدم – ملون رايت – مسحات دموية.

*أستاذ مساعد– قسم علم الحيوان – كلية العلوم– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.d.alya-n@hotmail.com

**باحثة– الهيئة العامة للتقانة الحيوية– وزارة التعليم العالي والبحث العلمي– دمشق– سورية.aalmasri69@hotmail.com

***طالب دراسات عليا(ماجستير)– قسم علم الحيوان – كلية العلوم –جامعة تشرين – اللاذقية –سورية. hassan95mhanna@gmail.com

مقدمة

إن المجموعة الحيوانية البرمائية والزاحفة السورية هي الأقل دراسة بالمقارنة مع الدول المحيطة. واعتمدت الدراسات السابقة على استكشافات قصيرة الأمد ومحدودة في أجزاء محددة من سورية، تتوزع الزواحف والبرمائيات في سورية في كل البيئات ويبلغ عددها أكثر من مئة نوع على أقل تقدير(AlMassri, 2002). يعتبر *Phoenicolacerta laevis* نوع من السحالي صغيرة الجسم الموجودة في شرق البحر المتوسط، ينتشر جغرافياً من جنوب تركيا عبر غرب سوريا ولبنان إلى شمال فلسطين وشمال غرب الأردن.(Lymberakis and Kalionzopoulou, 2013).

أجرى Arnold وزوملاؤه في عام 2007 تحليلًا جزيئيًا ومورفولوجيًا شاملاً على الفصيلة الفرعية Lacertinae وحددوا 7 أجناس جديدة. وقام بوضع أربعة أنواع *(Lacerta laevis* و *L. kulzeri* و *L. cyanisparsa* و *L. troodica)* كانت تعتبر سابقًا جزءًا من جنس Lacerta في جنس متميز جديد باسم Phoenicolacerta. كما درس Arıkan واخرون في عام 2009 مورفولوجيا وأحجام خلايا الدم المحيطية (كريات الدم الحمراء- كريات الدم البيضاء- صفيحات) على مسحات دموية ملونة بملون رايت لدى 16 نوع من فصيلة lacertidae في تركيا ومن ضمنها *Ophisops elegans*. وفي دراسة إجريت في إيران من قبل Vaissi وأخرون في عام 2013 على أربعة انواع من الزواحف ومن ضمنها *Ophisops elegans* حيث قاموا بدراسة مورفولوجية كريات الدم الحمراء فقط ومقارنتها بين الفصائل المختلفة التابعة لها . تُستخدم تقنيات التحاليل الدموية مع العديد من أنواع حيوانات الحياة البرية وخاصة بالنسبة للمجموعات المهددة بالانقراض وتساعد في الإشارة إلى صحة النظام البيئي (Deem *et al.*, 2006)، بالرغم من ذلك، فإن الكثير من معرفتنا بشأن الدم وخلايا الدم تستند إلى مراجع الثدييات (Claver and Quaglia, 2009).حيث تعتبر دراسات الدم غير الثديية جديدة نسبيًا (Canfield, 1998; Campbell, 2004; Allwander and Fry, 2008). تتكون خلايا الدم المحيطية عند البرمائيات والزواحف من كريات الدم الحمراء والكريات البيض والصفيحات الدموية. تضم كريات الدم البيض الحبيبية Granulocytes كل من العدلات (Neutrophils) والحمضات (Eosinophils) والأسسات (Basophils)، بينما تضم اللاحبيبية Agranulocytes اللِمفاويات (lymphocytes) والوحيدات (Monocytes) (Arıkan and Çiçek,2010).

قمنا في هذا البحث بإجراء دراسة الصفات التصنيفية بالإضافة إلى القياسات المورفولوجية لخلايا الدم المحيطية عند نوعين من فصيلة السحالي الحقيقية *Phoenicolacerta laevis* و *Ophisops elegans* وتعتبر هذه الدراسة هي الأولى من نوعها التي اهتمت بدراسة الدم عند الزواحف في الانواع التابعة لفصيلة Lacertidae المتواجدة في سوريا.

أهمية البحث وأهدافه

تكمن أهمية البحث في كونه الاول الذي عني بدراسة مورفولوجيا خلايا الدم ومقارنتها عند بعض أنواع السحالي (نوعين من السحالي) في سوريا، بهدف الكشف عن وجود اختلافات محتملة بينها.

طرائق البحث ومواده

- تم جمع عينات *Phoenicolacerta laevis* من عدة أماكن مختلفة من المنطقة الساحلية السورية (اللاذقية /جامعة تشرين- البصة – الدعتور / الحفة / جبلة/حوران البودي /القرداحة / طرطوس/الشيخ بدر- الدريكيش – القدموس) (12 انثى و 8 ذكور بالغين)؛ اما بالنسبة لـ *Ophisops elegans* (القرداحة / جبلة/حوران البودي – طرطوس/الشيخ بدر) (5 إناث و3 ذكور بالغين)، خلال أشهر حزيران وتموز و آب من عام 2021 م وتم نقلها الى مخابر كلية العلوم في جامعة تشرين.

- تم وضع العينات ضمن البراد لفترة زمنية قصيرة دون قتلها من أجل سهولة التعامل معها كونها من متغيرة درجة الحرارة.
- قمنا بتحضير مسحات دموية مأخوذة مباشرة من الحيوان وتلوينها بملون رايت لدراسة مورفولوجية كريات الدم المحيطية وفحصها بالمجهر الضوئي.
- تم اختيار 40 كرية دم حمراء عشوائياً لأخذ أبعادها، الطول Erythrocyte Length (L)، العرض Erythrocyte Width (W)، طول النواة Nucleus Length (NL)، عرض النواة Nucleus Width (NW). تم حساب أحجام كريات الدم الحمراء Erythrocyte Size (ES) وحجم النواة Nucleus Size (NS) من ES = L.W. π/4 و NS = NL.NW.π/4. إجراء مقارنات بين الأشكال الخلوية والنووية من نسب L/w و NL / NW ونسبة النواة/السيتوبلازم من نسبةNS/ ES. من مسحات الدم لكل نوع، وإجراء قياسات الكريات البيض والصفيحات لتحديد حجمها(Arıkan *et al.*,2009) .

الشكل (1) ***Ophisops elegans*** **الشكل (2)** ***Phoenicolacerta laevis***

النتائج والمناقشة

قمنا بإجراء مسحات دموية وتلوينها بملون رايت لنوعين من السحالي وكان الشكل المميز لخلايا الدم الحمراء في السحالي الحقيقية بيضاوية وذات نوى مثل تلك الموجودة في جميع الفقاريات الأخرى باستثناء الثدييات كما تكون النوى أيضًا بيضاوية الشكل، حيث تتوضع بشكل منتظم وموضعي في مركز الخلية. وعند تلوين المحضرات الدموية بصبغة رايت، ظهرت السيتوبلاسما ذات لون وردي فاتح مصفر وتكون النوى المحبة للكروموفيل ملونة بلون أزرق داكن.

الجدول (1) قياسات كريات الدم الحمراء (L=طول الكرية الحمراء. W= عرض الكرية الحمراء. ES= حجم الكرية).

النوع	L, µm	W, µm	L/W	ES, µm²
Ph. laevis	15.14	8.84	1.71	104.57
O. elegans	13.33	7.74	1.72	81.29

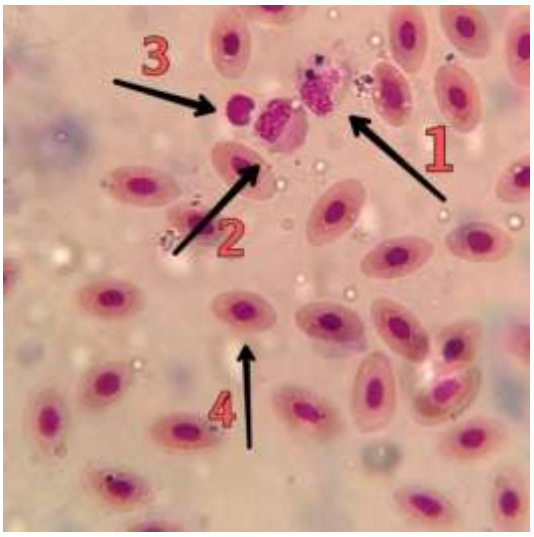
الجدول(2) قياسات أبعاد نوى الكريات الدم الحمراء(NL= طول النواة.NW=عرض النواة.

NS=حجم النواة. NS/ES= نسبة حجم النواة إلى حجم السيتوبلاسما nucleocytoplasmic).

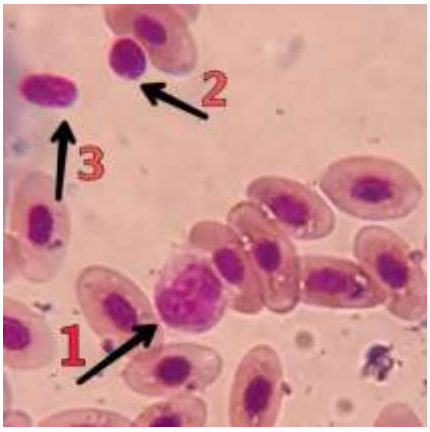
النوع	NL, µm	NW, µm	NL/NW	NS, µm²	NS/ES
Ph. laevis	5.19	3.94	1.27	16.17	0.1571
O. elegans	7.34	4.13	1.55	20.65	0.25

أظهرت الدراسة الحالية اختلاف في المسحات الدموية التي قمنا بإجراها على كل من *O. elegans* و *P. laevis* و وفقا للعديد من الباحثين (Sevinç *et al*., 2000؛ Atatür *et al*., 2001) تختلف أحجام كريات الدم الحمراء في السحالي ليس فقط بين الفصائل المختلفة، بل وحتى أحيانًا بين الأنواع المختلفة في نفس العائلة.

تم في دراسة (Arıkan *et al*,2009) ملاحظة أن حجم كريات الدم الحمر يختلف أيضًا في مسحات الدم المختلفة من نفس النوع ويعتقد أن هذه الفروق نشأت من اختلاف العوامل البيئية. تمت ملاحظة هذه الفروق والاختلافات في دراستنا وخصوصا في السحالي التي جمعت من مناطق وارتفاعات مختلفة وذكر Arıkan وزملائه (2009) أن *O. elegans* تمتلك أصغر وأقصر وأضيق كريات حمر في الأنواع التي تمت دراستها وفي دراستنا أبدت الكريات في *O. elegans* حجم أقل من *Ph. laevis*. حيث تمت دراسة مورفولوجيا خلايا دم *Ph. laevis* لأول مرة في دراستنا هذه. وفي دراسة (Vaissi et al., 2013) التي أجريت على كريات الدم الحمراء عند *O. elegans* في إيران كانت النتائج أقل بنسبة صغيرة و لكن يمكن تفسير ذلك بسبب البعد الجغرافي بين سوريا و إيران واختلاف العوامل البيئية.



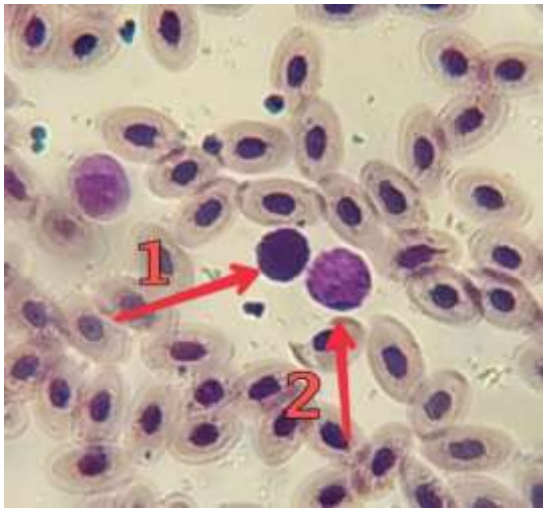
الشكل (3) صورة لمسحة دموية ملونة بملون رايت لـ *Ph. laevis*
(1و2 وحيدات- 3 صفيحة دموية كروية الشكل- 4 كرية دم حمراء).



الشكل (4) صورة لمسحة دموية توضح أنواع الكريات الدموية البيضاء لـ *Ph. laevis* (١ لمفاوية كبيرة- ٢ لمفاوية صغيرة- ٣ صفيحة دموية مغزلية الشكل).

الشكل (5) صورة لمسحة دموية توضح شكل الكريات البيضاء القاعدية عند *Ph. laevis*.

لوحظ أن الخلايا الليمفاوية كانت سائدة بين الخلايا البيض المختلفة ولوحظت أنواع من الكريات البيض صغيرة وكبيرة، كما لوحظ في الخلايا الليمفاوية الصغيرة نوى كروموفيلية تملأ الخلية بأكملها تقريبًا. لوحظ ظهور السيتوبلازم في الخلايا الليمفاوية الصغيرة كمنطقة طرفية صغيرة أما في الخلايا الليمفاوية الكبيرة فقد وجد اتساع نسبي في منطقة السيتوبلازم وكانت ذات لون أزرق باهت ونوى زرقاء داكنة. أما بالنسبة للكريات البيض الحبيبية، فقد كانت الوحيدات مماثلة تقريبا للخلايا الليمفاوية الكبيرة في الحجم ولكن يمكن تمييزها بسهولة عن طريق النوى كلوية الشكل وذات سيتوبلازما ملونة بالرمادي الفاتح والنواة باللون الأزرق الداكن.



الشكل(6) صورة لمسحة دموية توضح بعض أنواع الكريات البيض(1قاعدية – 2حامضية) عند *O. elegans*.

ظهرت العدلات بشكل كروي لدى النوع *O. elegans* وكانت نواتها تتكون من 2 – 4فصوص في حين غابت لدى النوع *Ph. laevis*. كما تم تمييز الحمضات بسهولة مع حبيبات حمراء زاهية كبيرة في السيتوبلازم وكان من الصعب تمييز شكل النواة بسبب كثرة الحبيبات السيتوبلاسمية. لاحظنا ندرة وجود الخلايا القاعدية وكذلك صعوبة تمييز نواتها بسبب كثرة الحبيبات السيتوبلاسمية. أما بالنسبة للصفيحات تنوعت بين الشكل الكروي إلى المغزلي تقريباً وشغلت النواة معظم حجم الخلايا.

الجدول (3) متوسط قيم أبعاد الكريات البيضاء.

النوع	Lymphocyte (small) , µm	Lymphocyte (Large) , µm	Monocyte, µm	Neutrophil, µm	Eosinophil , µm	Basophil, µm
Ph. laevis	7.54	10.43	11.25	---	9.88	9.47
O. elegans	7.23	9.83	10.43	9.91	9.65	8.58

أثبتت الدراسة الحالية أيضًا أن حجم الكريات البيض يختلف بين الأنواع. و كانت الخلايا اللا الحبيبية هي الخلايا السائدة. لم يكن من السهل رؤية نوى الخلايا الحبيبية الحمضات والقاعدية بسبب التحبحب الكثيف للسيتوبلازم وهذا يتوافق مع كل من (Saint Girons 1970 ; Arıkan *et al*.,2004 ; Arıkan *et al*.,2009).

كما توافق غياب العدلات من النوع *P. laevis* مع غياب هذا النوع من الكريات البيض في الأنواع التي تمت دراستها سابقا *A. danfordi, D. praticola, D. uzzelli, P. parva* حسب (Arıkan *et al*., 2009) وبعض أنواع السحالي الأخرى (Cannon *et al*., 1996).

الجدول (4) متوسط أبعاد الصفيحات الدموية.

النوع	Thrombocyte L, µm	Thrombocyte W, µm
Ph. laevis	6.32	5.23
O. elegans	6.52	4.45

أما في ما يخص الصفيحات الدموية فقد ظهرت في شكلين (كروي و مغزلي) كما تم وصفها من قبل (Arıkan *et al*., 2009).

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات :

أظهرت أحجام الكريات الحمراء عند *Ph. laevis* حجم أكبر من *O. elegans* ، بينما كانت النواة أطول في *O. elegans* وذات حجما أصغر في *Ph. laevis* وكانت نسبة السيتوبلازما فيها أكبر وبالتالي نسبة NS/ES كانت أقل. أما بالنسبة لحجم الكريات البيض والصفيحات الدموية كانت النتائج متقاربة بفروقات بسيطة مع العلم أن كريات *Ph. laevis* هي الأكبر حجماً.

التوصيات :

1- متابعة الدراسات الدموية لدى السحالي لما تشكله من أهمية بالنسبة لهذه الكائنات ومقارنتها مع صفوف الفقاريات الأعلى.

2- الاهتمام بدراسة الخلايا الجذعية لدى الزواحف.

Reference

1. ALLWNDER, M. C., & FRY, M. M. *Amphibian hematology*. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, Vol. 11,Nº 3, 2008, 463-480.

2. ALMASRI, A. *The state of reptiles and amphibians in Syria*. Ministry of State for Environmental Affairs, Damascus, Syria, 2002.

3. ARIKAN, H.; KUMLUTAS, Y.; TURKOZAN, O.; BARAN, İ., ; ILGAZ, Ç. *The morphology and size of blood cells of some viperid snakes from Turkey*. Amphibia–Reptilia, Vol. 25, 2004, 465-470.

4. ARIKAN, H.; GOCMEN, B.; YILDIZ, M. Z.; ILGAZ, Ç., ; KUMLUTAS, *Y. Morphology of peripheral blood cells from some lacertid lizards from Turkey*. Russian Journal of Herpetology, Vol. 16, Nº 2, 2009, 101-106.

5. ARIKAN, H.; ÇICEK, K. *Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish Herpetofauna*. Acta Herpetol, Vol. 5 ,Nº 2, 2010, 179-198.

6. ARNOLD, E. N.; ARRIBAS, O.; CARRANZA, S. *Systematics of the Palaearctic and Oriental lizard tribe Lacertini (Squamata: Lacertidae: Lacertinae), with descriptions of eight new genera*. Zootaxa, Vol. 1430 ,Nº 1, 2007, 1-86.

7. ATATÜR, M. K.; ARIKAN, H.; ÇEVİK, İ. E.; MERMER, A. *Erythrocyte measurements of some scincids from Turkey*. Turkish Journal of Zoology, Vol. *25* ,Nº 2, 2001, 149-152.

8. CAMBELL, T. W. *Hematology of lower vertebrates. American College of Veterinary Pathologists & American Society for Veterinary Clinical Pathology*, Middleton, WI, 2004, 1104-1108.

9. CANFIELD, P. J. *Comparative cell morphology in the peripheral blood film from exotic and native animals a*. Australian Veterinary Journal, Vol. 76 ,Nº 12, 1988, 793-800.

10. CANNON, M. S., FREED, D. A., & FREED, P. S. *The Leukocytes of the Roughtail Gecko Cyrtopodion scabrum: a Bright-field and Phasecontrast Study*. Anatomia, histologia, embryologia, Vol. 25 ,Nº 1, 1966, 11-14.

11. CLAVER, J. A.; QUAGLIA, A. I. *Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates*. Journal of exotic pet medicine, Vol. 18 ,Nº 2, 2009, 87-97.

12. DEEM, S. L.; DIERENFELD, E. S.; SOUNGUET, G. P.; ALLWMAN, A. R.; CRAY, C.; POPPENGA, R. H.; et al. *Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (Dermochelys coriacea) on the coast of the Republic of Gabon*. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, Vol. 37, Nº 4, 2006, 464-472.

13. LYMBERAKIS, P., & KALIONZOPOULOU, A. *Additions to the herpetofauna of Syria*. *Zoology in the Middle East*, Vol. 29 ,Nº 1, 2003, 33-39.

14. SAINT GIRONS, M. C. *Morphology of the circulating blood cells.* Biology of the Reptilia, Vol. 3 ,Nº 2, 1970, 73-92.

15. SEVINC, M., UĞURTAŞ, İ. H., & YILDIRIMHAN, H. S. *Erythrocyte measurements in Lacerta rudis (Reptilia, Lacertidae).* Turkish Journal of Zoology, Vol. 24 ,Nº 2, 2000, 207-210.

16. VAISSI, S., FATHIPOUR, F., SALAMAT, M. A., PARTO, P., & SHARIFI, M. *Variations in the Size of Erythrocytes and Morphology of Four Lizard Species (Laudakia nupta, Trapelus lessonae, Mabuya aurata and Ophisops elegans) from Western Iran*. Global Veterinaria,Vol. 11 ,Nº 3, 2013, 297-301.