دراسة وظيفية مقارنة لبعض المعاير المرتبطة بالكلية في نوعين من الفقاريات العراقية

نصير مرزة حمزة سعد حمد عبد الطيف حسين عبد المنعم داود
جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

بحث مستل من أطروحة دكتوراه

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى أجراء مقارنة لبعض المعاير الدموية المرتبطة بالكلية المتمثلة بيوريا الدم وكرياتنين الدم والكتروليتات الدم (الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم) في وسلحفاة المياه العذبة (*Mauremys caspica caspica*) والضفدع العراقي (*Rana ridibunda ridibunda*),أظهرت نتائج الدراسة الفسلجية أن هناك تباين في متوسطات تراكيز المعايير الدموية المدروسة في كل من السلحفاة والضفدع إذ كأن متوسط تركيز يوريا الدم أعلى معنوياً ($P<0.05$) في الضفدع (107.80±2.74mg/dl) مما هو عليه في السلحفاة (29.73±1.40mg/dl) ، كذلك ظهران متوسط تركيز كرياتنين الدم أعلى معنوياً ($P<0.05$) في الضفدع (0.33±0.01mg/dl) مما هوعليه في السلحفاة (0.25±0.01mg/dl)، كما أظهرت نتائج دراسة الكتروليتات الدم (الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم)أن متوسطات تركيزها في دم السلحفاة(7.77±0.11mg/dl, 3.89±0.10mmol/l, 104.87±0.99mmol/l)وبحدود (8.85±0.10mg/dl, 5.14±0.12mmol/l, 96.40±0.84mmol/l) في الضفدع مع وجود فرق معنوي بين تلك المتوسطات عند مستوى ($P<0.05$).

Abstract

The present study aimed to comparative studies of some physiological parameters related by kidney in som of Iraqi vertebrates(*Mauremys caspica caspica*) *and* (*Rana ridibunda ridibunda*) represented by blood urea, blood creatinine and blood electrolytes (Sodium, potassium and calcium),The physiological study revealed that there were some differences in concentration is means of the studied blood parameters in turtle and frog. There were represented by (107.80±2.74mg/dl) and (29.73±1.40mg/dl) for of blood urea frog and the turtle respectively with significance difference ($p<0.05$),The mean of blood creatinine level were (0.33±0.01mg/dl) in frog and (0.25±0.01mg/dl) in turtle with significance differences ($p<0.05$). The results also declear that the mean concentrations (sodium, potassium and calcium) of blood were (7.77±0.11mg/dl, 3.89±0.10mmol/l; 104.87±0.99mmol/l) in turtle and (8.85±0.10mg/dl, 5.14±0.12mmol/l; 96.40±0.84mmol/l) in frog with significance difference ($P<0.05$).

المقدمـــــــة Introduction

يلعب الجهاز الإبرازي في الفقريات دوراً حساساً في الجسم، وفشل هذا الجهاز ممثلاً بفشل الكلية يعني الموت، والكلى في هذا الصدد في نفس أهمية القلب والرئتين والكبد. وعمل الكلية يمثل جزءاً من كثير من العمليات المتشابكة التي تحافظ على ثبات الوسط الداخلي للجسم (ثبات البيئة الداخلية للجسم). ومع هذا فأن مشاركة الكلية في هذا العمل النظامي يعد عملاً كبيراً مضافاً إلى عملها في إزالة العديد من المواد الضارة التي تتناولها الحيوانات عن قصد أو من دون دراية في أثناء الأكل أو الشرب أو التنفس (1),وقد تشد الانتباه الطريقة التي تؤدي بها الكلى وظائفها ، فهذه الأعضاء الصغيرة التي لا تشكل أكثر من (0.5%)من وزن الجسم في الانسان على سبيل المثال, تستقبل حوالي 25% من الضخ الكلي للقلب، والذي يصل إلى (2000)لتر من الدم تقريباً في اليوم الواحد، ويمر هذا الفيض من الدم في تراكيب نبيبية خاصة يطلق عليها بالوحدات الكلوية (النفرونات) والتي يصل عددها حوالي مليونين من الوحدات الكلوية في كليتي الإنسان وكل واحدة منها تمثل وحدة إخراجية دقيقة تتكون من مرشح يعمل بالضغط الكبيبي (الكبيبية والنبيب البولي) (3,2), ومن حيث التكوين فأن الكلى في الفقريات تنشأ من الحروف البولية ضمن النسيج البولي التناسلي (Nephrogenic tissue)، إذ تتميز في الجزء القحفي (الأمامي) من الحرف البولي الكلية الأولية (Pronephros) وهذه الكلية في الغالب تمثل مظهراً انتقالياً إذ تزاح من قبل الكلية المتوسطة خلال مراحل التكوين الجنيني ألا أنها قد تكون عاملة في القليل من بالغات الأسماك، أما الكلية المتوسطة (Mesonephros) فأنها تنشأ في الجزء الوسطي من الحافة أو الحرف البولي وهي تكون عاملة في اللاسلويات البالغة (الأسماك والبرمائيات) في حين تمثل مظهراً انتقالياً في السلويات(الزواحف والطيور واللبائن) حيث تحل محلها الكلية البعدية (Metanephros) والتي تمثل الكلية الأكثر تطوراً وكفاءةً في الفقريات (3), درسة الكلية في العديد من الفقريات ومن نواحي مختلفة منذ أمدٍ ليس بالقريب، فقد درس التكوين الجنيني للكلى من قبل العديد من الباحثين (5,4), ودرسة الكلى تشريحياً ووظيفياً في فقريات مختلفة (7,6) ,أوضحت مراجعة المصادر أن الدراسات المتعلقة بالكلى بصورة عامة في الفقريات الموجودة في البيئة العراقية قليلة نسبياً، فقد تناولت عدد من الدراسات الكلى في الأسماك العراقية

من بينها دراسة (8) الذي أجرى دراسة مقارنة للكليتين في نوعين من الأسماك العظمية واسعة التحمل للملوحة (سمكة الجري اللاسع)(أبو الحكم) *(Heteropneustes fossilis)* وسمكة البعوض (*Gambusia affinis*))، وتناولت دراسات أخرى الجهاز الإبرازي في الطيور والثدييات ومنها دراسة (9) التي أجرت دراسة مقارنة تشريحية ونسيجية للكلى في الدجاج المحلي (*Gallus domesticus*)الوز (*Anser anser*)، ودراسة (10) التي أجرت فيها دراسة لبعض المعاير المرتبطة بالكلية في الجمل ذي السنام الواحد (*Camelus dromedaries*) مع التأكيد على الكلية، ودراسة (11) التي درس فيها التغيرات الوظيفية والنسجية الموسمية في كلية الجمل وحيد السنام (*Camelus dromedaries*) في وسط العراق, ودراسة (12) الذي أجرى دراسة وظيفية وتشريحية، نسجية وشعاعية لكلية في الجاموس العراقي نوع(*Bubalus bubalis*)،إن مراجعة الدراسات أظهرت الحاجة إلى المزيد من عناية الباحثين العراقيين بهذا الجانب لما تشكله الكلية في الفقريات كافة وبضمنها الإنسان من أهمية بالغة، وهذا شكل حافزاً لأجراء الدراسة الحالية التي تهدف الى دراسة المعايير الفسلجية المرتبطة بالكلية في فقريات عراقية تنتمي إلى أصناف مختلفة (البرمائيات والزواحف)، وقد أختيرت الأنواع بحيث تقدم صورة عن مدى ارتباط بعض المعايير الكيموحيوية للدم باختلاف نوع الكلية في الفقريات.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

أجريت الدراسة الحالية للتعرف على بعض المعايير الفسلجية الخاصة بالكلية لنوعين من الفقريات العراقية ممثلةً بسلحفاة المياه العذبة (*Mauremys caspica caspica* Mertens and Wermuth,1961) كمثال لصنف الزواحف (Reptilia) والضفدع العراقي (*Rana ridibunda ridibunda* Pallas,1771) كمثال لصنف البرمائيات (Amphibia).

تصنيف العينات:- تم تصنيف عينات الدراسة بأستخدام المفاتيح التصنيفية المتوفرة (Khalaf,(1959, وتم تأكيد التصنيف من قبل مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد، بموجب كتابهم ذي العدد (1022) في (2011/12/8).

تحضير العينات للدراسة الفسلجية:

السلحفاة:- بعد صيد العينات جلبت إلى المختبر وتم وضعها في حوض زجاجي بإبعاد (75×30×30 cm)، للطول والعرض والارتفاع على التوالي ثم أجريت القياسات التالية:-

1. تم وزن الحيوان باستخدام ميزان الكتروني نوع (Sartorius)
2. سحب الدم: السلاحف من الحيوانات التي يكون جسمها محاطاً بتركيب صلب يتألف من جزء ظهري يدعى بالدرع (Carapace) وآخر بطني يدعى الصدار (Plastron) ويربط بينهما درع حافي فضلاً عن امتلاكها قدرة على سحب رأسها وأرجلها إلى داخل الدرع ، لذلك تعذر سحب الدم الا بعد تشريح الحيوان وتحديداً من القلب، إذ يتخذ القلب موقعاً بطنياً سطحياً بالنسبة للأحشاء, تم سحب الدم باستخدام محقنة طبية حجم (5 ml) إذ وضع الدم في أنابيب لدائنية وفصل منه المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة (6000 RPM) ولمدة (5 min) ومن ثم سحب المصل باستخدام (Micropipette) ووضع في ابندروف تيوب وحفظت العينات في جهاز التبريد (الثلاجة) للدراسة الفسلجية.

الضفدع:- بعد جمع العينات أودعت في أحواض زجاجية بإبعاد (75×30×30 cm)، للطول والعرض والارتفاع على التوالي، يكون مفتوحاً من الأعلى ومحمياً بمشبك معدني للحفاظ على الحيوان من القفز خارج الحوض، وأجريت القياسات التالية:

1. تم وزن الحيوان باستخدام ميزان الكتروني نوع (Sartorius).
2. سحب الدم: تم تنخيع الحيوان وتشريحه لسحب الدم من القلب بشكل مباشر، ولكن تعذر ذلك لصغر حجم القلب وعدم ثبوته لكونه نابض، لذلك تم أتباع طريقة أخرى في الحصول على الدم تمثلت بقطع أحدى الأرجل الخلفية من نهاية القدم ووضعها في أنبوب لدائني بعد ان يتم مسك الحيوان باليد بشكل جيد لمدة (3 min) إذ اخذ ما مقداره (3 ml) وفصل (Serum) بجهاز الطرد المركزي وحفظ في ابندروف تيوب في جهاز التبريد (ثلاجة) للدراسة الفسلجية.

الدراسة الفسلجية (Physiological Study)

تضمنت الدراسة الفسلجية حساب المعايير الوظيفية المتمثلة بما يلي :

1. تقدير مستوى اليوريا في المصل

تم تقدير مستوى اليوريا في المصل بحسب طريقة (13).

المبدأ الأساسي :

يعتمد على التحلل المائي لليوريا بوجود أنزيم اليوريز (Urease) على وفق المعادلة التالية:

$$\mathbf{Urea + H_2O \xrightarrow{Urease} 2\,NH_3 + CO_2}$$

ايون الأمونيوم يتفاعل مع السليكات (Salicylate) والهايبوكلوريت (Hypochlorite) ليكون معقداً اخضر اللون من 2-2 ثنائي كاربوكسيل اندوفينول (2.2 dicarboxylindophenol).

Reagent type	Material	Concentration
Reagent (1) a	Urease	≥5000µ/L
Reagent (1) b	Phosphate buffer Sodium salicylate Sodium nitroprusside EDTA	120 mmol/L, pH 7 63.4 mmol/L 500 mmol/L 1.5 mmol/L
Reagent (2)	Sodium Hypochlorite Sodium Hydroxide	18 mmol/L 750 mmol/L
CAL.	Standard	

طريقة العمل:

محلول العمل: Working Reagent

ويتم تحضيره بمزج (R1a) مع (R1b).

Reagent	Blank	Standard	Test
Standard	////	10 µL	////
Serum	////	////	10 µL
Working Reagent (1)	1 ml	1 ml	1 ml

يمزج وتحضن الأنابيب لمدة (3 min) في حمام مائي بدرجة ($37\ C^o$).

Reagent (2)	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml

يمزج وتحضن الأنابيب لمدة (5 min) في حمام مائي بدرجة ($37\ C^o$). بعدها يتم قراءة الامتصاصية على الطول ألموجي (600 nm).

الحسابات:

$$\text{تركيز اليوريا } (\boldsymbol{mg/dl}) = \boldsymbol{n} \times \frac{\text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية القياسي}}$$

$\boldsymbol{n}$ = تركيز القياسي

2. تقدير مستوى الكرياتنين في المصل

تم تقدير مستوى الكرياتنين في المصل بإستخدام طريقة (14)

المبدأ الأساسي:

يعتمد على تفاعل الكرياتنين في وسط قاعدي مع حامض البكريك (Picric acid) ليكون معقداً لونياً أحمر.

$$\textbf{Creatinine} + \textbf{Picric acid} \xrightarrow{\textbf{PH>12}} \textbf{Red complex}$$

Reagent type	Material	Concentration
Reagent (1)	Picric acid	25 mmol/L
Reagent (2)	Alkaline buffer (phosphate buffer) SDS	300 mmol/L 2.0 g/L
CAL	Standard	

طريقة العمل:

محلول العمل: Working Reagent

ويتم تحضيره بمزج نسب متساوية من (R1) و(R2) في أنبوبة زجاجية ويحفظ بعيداً عن الضوء.

Reagent	Blank	Standard	Sample
Standard	////	0.1 ml	////
Sample	////	////	0.1ml
Working Reagent	1ml	1ml	1ml

يمزج ويترك لمدة (25 min) في ($25\ C^o$). بعدها يتم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي (510 nm) بعد (30 sec) (A1) بعدها تأخذ الامتصاصية الثانية بعد مرور (60 sec) (A2).

الحسابات:

$$n \times \frac{(A_1 - A_2)}{(B_1 - B_2)} = (mg/dl) \text{ تركيز الكرياتنينين}$$

A_1= الامتصاصية الأولى للنموذج. A_2= الامتصاصية الثانية للنموذج.
B_1= الامتصاصية الأولى للقياسي. B_2= الامتصاصية الثانية للقياسي.
n = تركيز القياسي.

3. تقدير مستوى ايونات الكالسيوم في المصل

تم تقدير مستوى ايونات الكالسيوم في المصل باستخدام طريقة (15).

المبدأ الأساسي:

يعتمد قياس ايونات الكالسيوم في المصل على أساس تكوين المعقد اللوني بين ايونات الكالسيوم و(O – Cresolphtalein) في وسط قاعدي وفق المعادلة التالية:

$$Ca^{+2} + O - \text{Cresolphthalein} \xrightarrow{OH^+} red\ complex$$

Reagent type	Material	Concentration
Reagent (1) Buffer solution	(2 amino-2methyl-1-propanol)	500 mmol/L, PH 7.
Reagent(2) Chromogen solution	Cresolphthalein complex 8-hydroxyquinoline	0.62 mmol/L 69 mmol/L
Reagent (3) standard	Calcium standard	2.5 mmol/L

طريقة العمل:

محلول العمل: Working Reagent

تخلط حجوم متساوية من (R1) مع (R2).

Reagents	Blank	Standard	Sample
Working Reagent	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Standard	////	20 µl	////
Sample	////	////	20 µl

تمزج الأنابيب جيداً وتترك لمدة (5 min) بعدها يتم قياسها طيفياً على طول موجي (570 nm) بعد تصفير الجهاز بواسطة البلانك.

الحسابات: $n \times \frac{\text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية القياسي}} = (m/dl)$ تركيز الكالسيوم

n = تركيز القياسي.

4. تقدير مستوى ايونات البوتاسيوم في المصل

تم تقدير مستوى ايونات البوتاسيوم في المصل باستخدام طريقة (16).

المبدأ الأساسي :

يتفاعل ايون البوتاسيوم الحر في الوسط القاعدي مع رباعي فينايل بورون الصوديوم (Sodium tetraphenylboron) لينتج معلق عكر من رباعي فنايل بورون البوتاسيوم (Potassium tetraphenylboron)، تعتمد هذه العكورة الناتجة كقياس لتركيز البوتاسيوم عند القياس الضوئي.

Reagent type	Material	Concentration
PREC (Precipitant)	Trichloroacetic acid (TCA)	0.3 mol/L
Reagent 1(TPB)	Sodium tetraphenylboron (TPB – NA)	0.2 mol/L
Reagent 2(NAOH)	Sodium hydroxide (NaOH)	2.0 mol/L
STD.	Standard potassium (K^+)	5.0 mmol/L

طريقة العمل:

تحضير الراشح Supernatant

يتم مزج (50 µl) من مصل النموذج مع (500 µl) من (PREC) في أنبوبة زجاجية ويخلط بعناية, ويدور باستخدام جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة (6000 RPM) لمدة (5-10 min).

محلول العمل Working reagent

ويتم تحضيره بمزج نسب متساوية من (R1) و(R2) في أنبوبة زجاجية ويترك لمدة (15-30 min) قبل الاستعمال.

Reagents	Blank	Standard	Sample
Working reagent	**1ml**	**1ml**	**1ml**
Standard	////	**0.1ml**	////
Supernatant	////	////	**0.1ml**

يمزج ويترك لمدة (5 min). بعدها يتم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي (578 nm).

الحسابات:

$$\text{تركيز البوتاسيوم } (\boldsymbol{mmol/l}) = \boldsymbol{n} \times \frac{\text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية القياسي}}$$

$\boldsymbol{n}$ = تركيز القياسي.

5. تقدير مستوى ايونات الصوديوم في المصل

تم تقدير مستوى ايونات الصوديوم في المصل باستخدام طريقة (17).

المبدأ الأساسي:

يترسب الصوديوم مع خلات يورانيل المغنسيوم (Mg- uranyl acetate). إذ يكون ايون اليورانيل مع حامض ثايوكلايكولك (Thioglycolic acid) معقداً أصفر – بني اللون.

Reagent type	Material	Concentration
PREC (Precipitant solution)	**Uranyl acetate** **Magnesium acetate**	**19 mmol/L** **140 mmol/L**
R1	**Ammonium thioglycolate** **Ammonia**	**550 mmol/L** **550 mmol/L**
STD.	**Standard sodium (Na^+)**	**150 mmol/L**

طريقة العمل:

Reagent	blank	Standard	Sample
Standard	////	20 µl	////
Serum	////	////	**20 µl**
PREC	////	1000 µl	**1000 µl**

تغلق الأنابيب وتمزج وتترك لمدة 5 دقائق في (25 C^o). بعدها ترج الأنابيب لمدة (30 sec) وتترك لمدة (30 min)، تدور الأنابيب في جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة (6000 RPM) لمدة (5-10 min).

Reagent	blank	Standard	Sample
PREC	**20 µl**	////	////
Clear Supernatant	////	**20 µl**	**20 µl**
Reagent 1	**1000 µl**	**1000 µl**	**1000 µl**

تخلط جيداً لمدة (5 min) بدرجة حرارة الغرفة، ويتم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي (410 nm).

الحسابات :

$$\text{تركيز الصوديوم } (\boldsymbol{mmol/l}) = \boldsymbol{n} \times \frac{\text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية القياسي}}$$

$\boldsymbol{n}$ = تركيز القياسي.

التحليل الإحصائي (Statics Analysis)

تم حساب متوسطات المعايير الفسلجية للأنواع قيد الدراسة, كذلك أعتمد أختبار (t-test) لبيان تأثير النوع على المعايير الفسلجية (الساهوكي, 1990).

النتائج Results

تم في الدراسة الحالية دراسة بعض المعايير الفسلجية الممثلة بيوريا الدم (Blood urea) وكرياتنين الدم (Blood creatinine) والكتروليتات الدم (Blood electrolate) في كلا سلحفاة المياه العذبة (*Mauremys caspica caspica*) والضفدع العراقي نوع (*Rana ridibunda ridibunda*).

اولاً. سلحفاة المياه العذبة *Mauremys caspica caspica*

1. يوريا الدم Blood Urea:- أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن متوسط تركيز يوريا الدم في السلحفاة موضوع الدراسة الحالية مساوياً الى (29.73 ± 1.4 mg/dl) وتراوح مدى التركيز (22-42mg/dl)، (جدول-1).

2. كرياتنين الدم Blood Creatinine:- أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن متوسط تركيز كرياتنين الدم في السلحفاة موضوع الدراسة الحالية مساوياً الى ($0.25 \pm 0.01 mg/dl$) وبمدى (0.20-0.30 *mg/dl*), (جدول-1).

3. ألكتروليتات الدم Blood Electrolate :- أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن متوسطات تراكيز ألكتروليتات الدم (الصوديوم, بوتاسيوم والكالسيوم) في السلحفاة كانت مساوية الى (7.77±0.11mg/dl,3.89±0.10mmol/L, 104.87±0.99mmol/L) على التوالي، (جدول-1).

ثانياً. الضفدع العراقي *Rana ridibunda ridibunda*

1. يوريا الدم Blood Urea

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن متوسط تركيز يوريا الدم في الضفدع العراقي مساوياً الى (107.80±2.74mg/dl) وتراوح مدى التركيز (98-130mg/dl)، (جدول-1).

2. كرياتنين الدم Blood Creatinine

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن متوسط تركيز كرياتنين الدم في السلحفاة موضع الدراسة الحالية مساوي الى ($\pm$ 0.33) ($0.01 mg/dl$ وبمدى (0.30-0.40 *mg/dl*), (جدول-1).

3. ألكتروليتات الدم Blood Electrolate

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن متوسطات تراكيز ألكتروليتات الدم (الصوديوم, بوتاسيوم والكالسيوم) في السلحفاة كانت مساوية (8.85±0.10mg/dl, 5.14±0.12mmol/L, 96.40±0.84mmol/L) على التوالي (جدول-1).

الدراسة الفسلجية المقارنة Comparative Physiological Study

1. يوريا الدم:- ظهر أن اعلى متوسط لتركيزها في الضفدع العراقي نوع (*Rana ridibunda ridibunda*) في حين انخفض متوسط تركيزها في سلحفاة المياه العذبة نوع (*Mauremys caspica caspica*) مع ملاحظة وجود فرق معنوي بين المتوسطين عند مستوى ($P<0.05$) (جدول -2).

2. كرياتنين الدم:- ظهر أن أعلى متوسط لتركيزه في الضفدع العراقي عند المقارنة بمتوسط تركيزه في سلحفاة المياه العذبة, وان تلك التراكيز اختلفت معنوياً عند مستوى ($P<0.05$) (جدول -2).

3. ألكتروليتات الدم (Na^+, K^+, Ca^+):- ظهر اعلى متوسط لتركيز الصوديوم في سلحفاة المياه العذبة عند المقارنة بالضفدع العراقي, في حين كان متوسط تركيز البوتاسيوم والكالسيوم اقل في سلحفاة المياه العذبة عنه في الضفدع العراقي وان تلك التراكيز اختلفت معنوياً عند مستوى ($P<0.05$) (جدول -2).

جدول (1) متوسط ومدى بعض معايير الدم الفسلجية لسلحفاة المياه العذبة *Mauremys caspica caspica* والضفدع العراقي *Rana ridibunda ridibunda*

المعايير الفسلجية / النوع		تركيز الكالسيوم في الدم mg/dl	تركيزالبوتاسيوم في الدم mmol/l	تركيز الصوديوم في الدم mmol/l	تركيز الكرياتنين في الدم mg/dl	تركيز اليوريا في الدم mg/dl
السلحفاة	المتوسط	7.77±0.11	3.89±0.10	104.87±0.99	0.25±0.01	29.73±1.40
	المدى	7.1---8.6	3.0---4.7	100---112	0.2---0.3	22---42
الضفدع	المتوسط	8.85±0.10	5.14±0.12	96.40±0.84	0.33±0.01	107.80±2.74
	المدى	8.2---9.5	4.5---6.0	90---105	0.3---0.4	98---130

Mean ±SE

جدول (2) الفروقات الإحصائية المحسوبة بين بعض معايير الدم الفسلجية التي استخدمت في الدراسة الحالية في سلحفاة المياه العذبة *Mauremys caspica caspica* والضفدع العراقي*Rana ridibunda ridibunda*

المعايير الفسلجية / النوع	تركيز الكالسيوم في الدم mg/dl	تركيزالبوتاسيوم في الدم mmol/l	تركيز الصوديوم في الدم mmol/l	تركيز الكرياتنين في الدم mg/dl	تركيز اليوريا في الدم mg/dl
السلحفاة	7.77±0.11 a	3.89±0.10 a	104.87±0.99 a	0.25±0.01 a	29.73±1.40 a
الضفدع	8.85±0.10 b	5.14±0.12 b	96.40±0.84 b	0.33±0.01 b	107.80±2.74 b
T - المحسوبة	6.75	8.33	6.42	4.00	27.72
T- الجدولية	2.05	2.05	2.05	2.05	2.07
L.S.D	0.31	0.30	2.69	0.04	6.62

*** الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند (P<0.05).**

المناقشة Discussion

1. يوريا الدم Blood Urea

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تباين واضح في متوسط تركيز يوريا الدم في سلحفاة المياه العذبة (*Mauremys caspica caspica*) والضفدع العراقي نوع (*Rana ridibuna ridibuna*)، إذ لوحظ متوسط تركيزها بحدود($\pm$ 29.73 1.4 mg/dl) في السلحفاة وبلغ (107.80 $\pm$ 2.74 mg/dl) في الضفذع مع وجود فرق معنوي بين المتوسطين عند مستوى (P<0.05).

شَخصت العديد من الدراسات عدد من العوامل التي تؤثر في متوسط تركيز يوريا الدم ومن بين هذه العوامل الظروف البيئية المحيطة بالحيوان ونوع الحيوان وحالته الغذائية وعمره وجنسه (ذكر أم أنثى) وفصول السنة فضلاً عن الحالة الفسلجية للحيوان كما أشارت الدراسات الى أن تأثير هذه العوامل يكون اكثر شدة في الحيوانات متغيرة الحرارة مما في الحيوانات ثابتة الحرارة (19,18).

أشار (20) الى أن الزواحف تمتلك كلية تحتوي وحدات بولية بسيطة (Simple nephrons) ترتبط بنظام أنبوبي فاقد لعروة هنلي يجعلها غير قادرة على تركيز الادرار, أضف الى ذلك أن الفضلات النيتروجينية (Nitrogenous wastes) المطروحة من قبل الكلى في الزواحف تتضمن كميات متنوعة من حامض اليوريك واليوريا والامونيا معتمدة بشكل أساسي على الظروف البيئية للحيوان, إذ تطرح سلاحف المياه العذبة كميات متساوية من الامونيا واليوريا في حين تطرح السلاحف الارضية فضلاتها النيتروجينية بشكل غير ذائب (Insoluble) بهيئة حامض اليوريك وأملاح يوريا (Urate Salt), إذ يحتاج تحويلها الى الشكل السائل فقدان الجسم كميات كبيرة من الماء لا يمتلك الحيوان القدرة على توفيرها إذ تعني فقدان الحيوان لسوائله الجسمية كافة.

وأوضحت دراسات عديدة وجود تباين في تركيز اليوريا في دم الانواع المختلفة من السلاحف ففي السلاحف الاوربية (*Emys orbicularis*) سجل تركيز يوريا الدم (11.23±1.03mg/dl) في الذكور في حين كان التركيز في الاناث (10.66±0.77mg/dl) (21), وفي السلاحف البحرية من نوع (*Caretta caretta*) بلغ تركيز يوريا الدم (22.27±6.87mg/dl) (22). وأورد (23) في دراستهم السلاحف نوع (*Trachemys scripta elegans*) أن تركيز يوريا الدم يبلغ (16.5±1.0mg/dl), أن النتائج أعلاه لا تتوافق مع نتائج الدراسة الحالية ويبدو أن السبب في عدم التوافق ربما يعود الى اختلاف طبيعة تغذية الحيوان, إذ يترافق ارتفاع يوريا الدم مع تناول الغذاء عالي البروتين أو ربما يكون ناتج من تحطم بعض الانسجة نتيجة عمليات الجوع التي يمر بها الحيوان واختلاف معدل التمثيل الغذائي.(25,24),وفي اتجاه آخر أوردت العديد من الدراسات توافقاً في تركيز يوريا الدم مع نتائج الدراسة الحالية كما هو الحال في السلاحف الخضراء من نوع (*Chelonia testudinaria*) التي يبلغ متوسط تركيز يوريا الدم فيها (27.5 mg/dl) (26) والسلاحف من نوع (*Chelonian mydas*) التي تركيز يوريا الدم فيها (30.0 mg/dl) (27), ويبدو أن التوافق النسبي في تركيز يوريا الدم ربما يرتبط بنوع غذاء الحيوان وعمره (28).

وكما هو الحال في السلاحف فقد شخصت الدراسات التي تناولت تركيز يوريا الدم في الضفادع تراكيز مختلفة وعوامل مؤثرة عديدة, فقد سجل (29) في دراسته للضفدع نوع (*Rana pipiens*) أن تركيز يوريا الدم بحدود (115 mg/dl), وأورد(30) في دراسته للتنظيم الاوزموزي في الضفدع آكل الأسماك من نوع (*Rana cancrivora*) أن تركيز يوريا الدم يصل الى (110±1mg/dl), وأشار الى أن نسبة يوريا الدم ترتفع مع ارتفاع تركيزالاملاح في بيئة الحيوان. وسجلت في الضفدع (*Rana temporaria*) تراكيز تصل الى (56 mg/dl) (Conway & Kane, 1935),أن نتائج الدراسة الحالية تتفق مع ما أورده كل من (29)و(30) , في حين اختلفت مع ما أورده(31) وهذا ربما يعود الى تغير الظروف البيئية أو مدى نشاط الحيوان وطبيعة تغذيته.

2. كرياتنين الدم Blood Creatinine

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تباين في متوسط تركيز كرياتنين الدم في النوعين موضوع الدراسة, إذ وجد أنه في السلحفاة (*Mauremyes caspica caspica*) يبلغ (0.25±0.01mg/dl) في حين كان في الضفدع العراقي (*Rana ridibunda ridibunda*) بحدود (0.33±0.01mg/dl).

أن نتائج الدراسة الحالية تُظهر توافقاً مع العديد من الدراسات السابقة وتأتي تأكيداً لما توصل اليه العديد من الباحثين الذين تناولوا في دراساتهم تركيز كرياتنين الدم في سلحفاة البرك حرة المعيشة (*Mauremys leprosa*) (32). والسلحفاة الاوربية (*Emys orbicularis*) (33), والسلاحف ضخمة الرأس (*Caretta caretta*) (22) والسلاحف الكبيرة العاضة للتماسيح (*Macrochelys temminckii*) (34), والسلاحف الخضراء (*Chelonian mydas*) (35), وغيرها من الدراسات.

وفي اتجاه آخر لم تُظهر نتائج الدراسة الحالية توافقاً مع دراسات أخرى, فقد درس الباحثان(36) , تركيز الكرياتنين في دم السلاحف الافريقية الغربية (*Kinixys erosa*) و أورد الى انه يصل الى (42.75±0.96mg/dl), وكان تركيز كرياتنين الدم في السلاحف ضخمة الرأس من نوع (*Caretta caretta*) مساوياً الى(35.36±3.5mg/dl), وانخفض تركيز كرياتنين الدم في السلاحف النيجيرية حرة المعيشة من نوع (*Pelusios simuatus*) الى (22.1±0.14mg/dl) في الذكور و(19.1±0.13mg/dl) في الاناث (37).

إن عدم التوافق في نتائج المجموعة الاخيرة من الدراسات مع نتائج الدراسة الحالية ربما متأتٍ من اختلاف درجة حرارة الماء (35) أو من اختلاف معدل التمثيل الغذائي للحيوان (22) , او قد يكون ناتج عن التباين في نشاط وسلوك الحيوان(39) , أو قد يكون ناتج عن اختلاف طبيعة الغذاء الذي يتناوله الحيوان (38,27).

أما في البرمائيات فقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن متوسط تركيز الكرياتنين بلغ (0.35 mg/dl) وان ذلك يتفق مع ما أشار إليه الباحث (40) في دراسته لتركيز الكرياتنين في الضفدع نوع (*Rana ridibunda ridibunda*) إلى انه بحدود ($0.36\ mg/dl$) في الذكور، أما في الإناث فكان بحدود ($0.50mg/dl$)، وان ذلك التركيز يتأثر باختلاف جنس الحيوان، ومقدار النشاط العضلي للحيوان إذ يعد الكرياتنين المصدر الرئيسي للطاقة بعد ارتباطه بالفوسفات (42,41).

لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار إليه الباحثون (43) عند دراستهم لتركيز الكرياتنين في الضفدع نوع (*Caught xenopus*) إلى أن تركيز الكرياتنين في الدم بحدود ($0.4 \pm 0.1\ mg/dl$) وان ذلك الاختلاف قد يكون ناتج عن اختلاف درجات الحرارة واختلاف جنس الحيوان.

أشار الباحثون (44) في دراستهم للمعايير الدموية في الضفدع نوع (*Rana catesbeiana*) إلى أن تركيز الكرياتنين في الدم يتغير تبعاً لتغير طبيعة غذاء الحيوان والذي ربما يكون مرتبطاً بشكل معنوي بالظروف الفسلجية للحيوان، إذ ظهر أن تركيز الكرياتنين بحدود (45) ($4.83 \pm 1.22mg/dl$) ولوحظ وجود تأثير معنوي لعمر ووزن الحيوان على تركيز الكرياتنين والذي ربما يعد ذلك احد الأسباب الرئيسية لتفاوت التراكيز (47,46).

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار إليه (48) في دراستهم للمعايير الدموية والكيموحيوية في الضفدع الثور الهندي نوع (*Rana tigrina*) إلى أن مستوى الكرياتنين في دم الضفدع الذكر بحدود (0.22-0.80mg/dl) في حين كان في الإناث بحدود (0.24-0.44 mg/dl)،وربما يعود السبب في تباين تركيز الكرياتنين إلى ارتباطه بكتلة الجسم، وعمر الحيوان، وجنسه أو انه ربما يكون ناتج عن تغير الشروط البيئية. (50,49).

3. الكتروليتات الدم Blood Electrolate

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تباين واضح في تركيز الكتروليتات الدم (الصوديوم ، بوتاسيوم و الكالسيوم) في النوعين موضوع الدراسة، إذ لوحظ أن تركيزها في سلحفاة المياه العذبة نوع (*Mauremyes caspica caspica*) فكان تركيزها بحدود (7.77±0.11mg/dl, 3.89±0.10mmol/l, 104.87±0.99mmom;/l) على التوالي, أما الضفدع العراقي نوع (*Rana ridibunda ridibunda*) كان مساوياًإلى (8.85±0.10mg/dl, 5.14±0.12mmol/l, 96.40±0.84mmol/l) للصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم على التوالي، وان تلك التراكيز اختلفت معنوياً عند ($p<0.05$) عند المقارنة بين النوعين.

أشار العديد من الباحثين الى أن تركيز الكتروليتات الدم في الزواحف يُظهر مدى واسعاً من التباين اعتماداً على مدى التوازن المائي للجسم والذي يرتبط بالظروف البيئية المحيطة بالحيوان من درجة حرارة ورطوبة واللتان تمثلان محددات لمدى استهلاك الحيوان للماء, فضلاً عن عوامل مؤثرة أخرى مرتبطة بالتنظيم الاوزموزي للحيوان, وبطبيعة غذائه وجنس الحيوان وفترة الجمع (52,51) وفسر الباحث (19) في دراسته لسلاحف البرك المائية نوع (*Mauremys Leprosa*) الاختلاف في تركيز الكالسيوم على اساس اختلاف جنس الحيوان إذ أورد أن تركيز الكالسيوم في دم الإناث بحدود ($4.3mmol/L$) في حين كان بحدود ($1.7\ mmol/L$) في دم الذكور، واستنتج أن ذلك الارتفاع في الإناث ربما مرتبط بشكل مباشر بفصل جمع العينات وتهيأ الإناث لوضع البيض ولم يسجل أي فروق معنوية في تركيز الصوديوم والبوتاسيوم مرتبطة باختلاف الجنس.

كما أشار عدد من الباحثين في دراستهم لتركيز الكتروليتات الدم في السلاحف البحرية نوع (*Lepidochelys olivacea*) الى أن تركيز الصوديوم مساوياً الى (146 mmol/l) اما تركيز البوتاسيوم فكان (4.7mmol/l) في حين ظهر أن تركيز البوتاسيوم (3.05mmol/l) (55,54).

نتائج الدراسة الحالية لا تتفق مع نتائج الباحثين أعلاه وهذا ربما يعود الى التباين بالظروف البيئية وطبيعة التغذية للسلحفاة موضوع الدراسة الحالية (56,55).

وفي اتجاه آخر أظهرت نتائج الدراسة الحالية توافقاً مع ما أورده العديد من الباحثين الذين درسوا الكتروليتات الدم في سلاحف مختلفة, فقد دَرس (34) المعايير الكيموحيوية في السلحفاة (*Macrochelys temminckii*) وتوصلوا الى أن نسبة الصوديوم في الدم كانت بحدود (128.2±0.53mmol/l) وبلغت نسبة البوتاسيوم (3.7±0.05mmol/l) في حين كانت نسبة الكالسيوم (9.3±0.05mg/dl) وأشاروا الى عدم وجود اي تأثير معنوي لأختلاف الجنس على تركيز المعايير الكيموحيوية في الدم, في حين كان هنالك تأثير معنوي مرتبط باختلاف فصول السنة وبشكل خاص فصل التكاثر على تلك المعايير, إذ كان تركيز كلا الصوديوم والبوتاسيوم مرتفعاً خلال فصل التكاثر, ونتائج الدراسة الحالية تؤكد هذا الاستنتاج, إذ أن تقارب التراكيز مرتبط بفصل التكاثر وهو الفصل الذي جمعت فيه عينات الدراسة.

من جانب آخر أظهرت مراجعة المصادر المتوفرة وجود تفاوت بسيط بين نتائج البحث الحالي مع دراسات كل من(57) الذين درسوا المعايير الكيموحيوية في السلاحف ضخمة الرأس نوع (*Caretta caretta*), ودراسة (59), للسلاحف البحرية الخضراء (*Chelonia mydes*) ودراسات أخرى, وإن ذلك ربما يكون مرتبط بالعديد من العوامل المتمثلة بالظروف البيئية ونوع الحيوان ونوع التغذية واختلاف جنس الحيوان وعمره وهذا ما أكدته كثير من الدراسات السابقة (35,19).

أمـــا فيـما يخـص البـرمـائـيـات فـقـد أظـهـرت نـتـائـج الـدراسـة الـحـالـيـة تـفاوتاً مع نتائج الدراسات السابقة, فقد درس الباحثون (60)عملية التنظيم الاوزموزي في الضفدع (*Rana cancrivora*), وأشاروا إلى أن تركيز الالكتروليتات في الدم يرتبط بشكل أساسي مع مدى تأقلم الحيوان مع بيئته التي يتواجد فيها، وظهر أن تركيز الصوديوم بحدود ($125 \pm 17\ mEq/L$) في ضفادع البيئة المائية التي يكون تركيز أملاحها مساوياً (25%)، وارتفع تركيز الصوديوم ليصل إلى (161 ± 13 mEq/L) عندما ارتفع تركيز الأملاح ليصل إلى (50%)، وان ذلك الارتفاع في تركيز الأملاح داخل جسم الحيوان متأتٍ من عملية تنظيم دخول وخروج الماء إلى جسم الحيوان في الوسط الذي يعيش فيه، إذ يتم دخول الأملاح بعملية النقل الفعال وعن طريق الجلد (61).

كما لوحظ أن هنالك تأثيراً معنوياً لاختلاف تركيز الأملاح في الوسط الذي يعيش فيه الحيوان على تركيز البوتاسيوم في الدم ، إذ لوحظ أن تركيز البوتاسيوم كان بحدود ($9 \pm mEq/L$) عندما كان تركيز الأملاح في الوسط (25%)، وارتفع ليصل ($14 \pm 0.5\ mEq/L$) عندما ارتفع تركيز الأملاح إلى (80%) وان تلك الزيادة النسبية جاءت عن طريق السيطرة النفوذية لجلد الحيوان إذ تنخفض عملية النقل الفعال لأخذ الصوديوم من المحيط وبالتالي قدرتها على العيش في وسط عالي التركيز (63,62).

اتفقت نتائج الدراسة الحالية في الضفدع العراقي مع ما أشار إليه الباحثون (43)في دراستهم لتركيز الكتروليتات الدم في الضفدع نوع (*Xenopus laevis*) ، إذ بلغ متوسط تركيز الصوديوم (123 ± 1 mmol/L) وبلغ تركيز البوتاسيوم (4.0 ± 0.1 mmol/L) في حين ظهر أن تركيز الكالسيوم متساوياً إلى (8.9 ± 0.2 mg/dl) ، مع ملاحظة أن تلك التراكيز تتباين وفقاً للعديد من العوامل تتضمن الحالة الصحية للحيوان، والعمر، ونوع الغذاء وعوامل بيئية أخرى منها نوع الماء ودرجة حرارته وشدة الإضاءة (65,64). كما اتفقت مع نتائج دراسة الباحثين (44)لتركيز الكتروليتات الدم في ضفدع المزرعة نوع (*Rana catesbeiana*) إلى أن تركيز الصوديوم بحدود (118.6 ± 11.2 mmol/L)، في حين ظهر أن تركيز الصوديوم في ضفدع المياه العذبة بحدود (109 ± 0.9 mmol/L) وفقاً لما أشار إليه (66).

أما الباحث (67) فأشار إلى أن تركيز الصوديوم بحدود ($92 - 125$ mmol/L) في حين بلغ تركيز البوتاسيوم مساوياً إلى ($2.4 - 6.7$ mmol/L) وان تلك التراكيز اتفقت مع ما أشار إليه (68) عند دراسته لضفادع المياه العذبة.

وتأتي نتائج الدراسة الحالية تأكيداً لما أشار إليه العديد من الباحثين عند وصفهم لتركيز الكالسيوم في ضفدع المياه العذبة ، إذ أشار (68) إلى أن تركيز الكالسيوم في ضفدع المياه العذبة كان بحدود (8.3 ± 1.4 mg/dl) وذلك مقارب لما تم تسجيله في الأنواع الأخرى من الضفادع ، إذ ظهر أن تركيز الكالسيوم بحدود (8.4 mg/dl) (66) ، وظهر أن تركيزه (9.2 mg/dl)، كما أشار إليه (67).

فسّر معظم التباين في الكتروليتات دم الضفادع من خلال امتلاك الحيوان جلداً اختياري النفوذية يسمح بدخول الماء وخروجه بالاعتماد على الضغط الأوزموزي الداخلي والخارجي للحيوان، إذ يمتاز الجلد في الضفدع بكونه يمتلك قابلية على التحسس بدرجة الأوزموزية المحيطة به (66) ، وتمتلك ضفادع المياه العذبة أوزموزية داخلية عالية (Hyperosmotic)عند المقارنة بيئتها الخارجية وان ذلك يفسر دخول كميات كبيرة من الماء داخل جسم الحيوان مما يجعل الحيوان يطرح بولاً مخففاً وبلازما يحتوي على تركيز عالي من الالكتروليتات (67,46), ونتائج الدراسة في توافقها وعدم توافقها يمكن أن تفسر ضمن هذا السياق من خلال التباين في التحسس بدرجة الاوزموزية المحيطة.

المصادر

1-Hickman, Jr. C.P. and Roberts, L.S.(1994). Integrated principles of zoology (6^{th} ed). WCB, England.

2-Kent, G.C. and Carr, R.K. (2001). Comparative anatomy of the vertebrata, (9^{th} ed.) McGraw Hill, New York.

3-Kardong, K.V. (1998). Vertebrates, comparative anatomy, function, evolation. (2^{nd} ed). McGraw Hill, New York.

4-Overton, J.(1959). Studies on the mode of outgrowth of the amphibian pronephric, J. Embryol. Exp. Morph, 7(1) :86-93.

5-Meier, S.(1980). Development of chick embryo mesoblast , pronephros, Lateral plate and early vasculature. J.Embryol. Exp. Morph., 55:291-306.

6-Schmidt- Nielsen, B. and O'Dell, R. (1961). Structure and concentrating mechanism in the mammalian kidney. Amer. J. physiol, 200(11): 19-29.

7-Bracegirdle, B. and Miles , P.H.(1978). An Atlas of chordate structure. Heinemann Educational books Ltd. The university press. Oxford: 119-300.

8-الفريجي، عبد حسن براج (1992). دراسة مقارنة للكليتين في نوعين من الأسماك العظمية واسعي التحمل للملوحة، سمكة الجري اللاسع (ابو الحكم) و سمكة البعوض: دراسة مقارنة نسيجية، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

9-Al- Azawy, N.H. (2005). Comparative anatomical and histological study of kidney in domestic fowls and geese (*Gallus domesticus* and *Anser anser*). M. Sc. Thesis, College of Veterinary Medicine, Baghdad University.

10-السلامي، نجاة مطر عريبي (1992). دراسة مجهرية لبعض أجزاء الجهاز البولي في الجمل ذي السنام الواحد *Camelus dromedarius* مع التأكيد على الكلية: دراسة نسيجية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

11-حسين، عامر متعب (2003). التغيرات النسجية الموسمية في كلية الجمل وحيد السنام *Camelus dromedaries* في وسط العراق. دراسة تشريحية ونسجية. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

12-Al- Kinanny, Ali Fiadh (2006). Anatomical, histological and radiological study of the kidney and the ureter of Buffalo (*Bubalus bubalus*) in Iraq. M.Sc. Thesis, College of Veterinary Medicine Baghdad University.

13-Patton, C.J. and Crouch, S.R.(1977). For the quantitative invitro determination of urea in serum, plasma and urine. Anal. Chem., 49:464-469.

14-Tietz, N.W.(1995). Clinical Guide to Laboratory Tests (3rd ed). W.B. Saunders Co. Philadelphia.

15-Ste, J. and Lewis, W.H.(1957). Guide to laboratory Tests. Clin. Chim. Act, 2:576.

16-Tietz, N.W.(1976). Fundamentals of clinical chemistry (2nd ed). W.B. Saunders Co., Philadelphia: 876.

17-Henry, R.J.(1974). Clinical chemistry. (2nd ed). Harper and Row New York: 643.

18-Osman, T. E. A. and AL-Busadah, K.A.(2003). Normal concentration of twenty biochemical parameters of she camels, cow and ewes in Saudi Arabia. Pakistan J. Biological Sciences, (14): 1253-1256.

19-Campbell , T.W.(2004) . clinical chemistry of reptiles in veterinary hematology clinical chemistry , D.B. Troy (ed) . Lippincott Williams and wilkins , Baltimore , Maryland : 493-498.

20-Davies, P.M. (1981) . Anatomy and physiology of reptilia . San Die go academic , i:9-10.

21- Metin, K.; Turkozan, O.; Kargin, F.; Basimoglu, Koca; Taskavak, E. and Koca, S. (2006). Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive european pond turtle (*Emys orbicularis*). Acta. Vet, 75:49-55.

22-Stein , G.(1996) . Hematologic and blood chemistry values in reptiles (1st ed.) . saunders , Philadelphia : 473-483.

23-Kono, N. ; Hyodo , S. ; Matsuda , K. and uchiyama , M. (2006) . Effect of osmotic stress on expression of a putative facilitative urea transporter in the kidney and urinary bladder of the marine toad (Bufo marinus) , J. Exp . Biol , 209: 1207-1216.

24-Pages , T; peinado , VI. And viscor, G.(1992) . Seasonal changes in hematology and blood chemistry of the freshwater turtle (*Mauremys caspica leprosa*). Com. Biochemphysiol , 103:275-278.

25-Whitelock, R.H.; Kessler. M.J. and Tasker, J.B.(1975). Biochemistry and Physiology. Cornell Vet, 65: 512-526.

26-Losey, G. S. ; Balazs , G. and J. Privitera , L. A. (1994) . Cleaning symbiosis between the wrasse , Thalassoma duperry , and the green turtle , chelonia mydas L , j. A. Wyneken, 2: 199-224.

27-Bjorndal , K.A. (1997) . Foraging ecology and nutrition of sea turtles In : Lutz pL , Musick , J. A. editors . The Biology of sea Turtles . CRC P`ress , 1997: 199-231.

28-Reich, K.J. ; Bjornadal , K. A.and Botten , A.B. (2007) . The Lost years of green turtles : using stable isotopes to stud cryptic lifestages . Biology Letters , 3(6) : 712-714.

29-Wearn , J. T. and Richards , A.N. (1925) . Glomerular elimination of urea in frogs . J. Biol , Chem. , 66:247.
30-Forster, R.P. (1954) . Active cellular transport of urea by frog renal tubules Amer . J. physiol , 179 :372.
31-Conway, E.J. and Kane, F.(1935). Diffusion equilibria for the isolated frog's kidney. Journal of Biochemistry, 27: 1446-1458.
34-Dessauer, H.C.(1970) , Blood chemistry of reptiles : physiological and evolution aspects in Biology of the reptilia . C. Gans and T. parson (eds). Academy press , London , UK, 3:1-72.
35- Kolle, P. ; Lamnek , H. and Hoffmann , R.(1999) . Blutwerte bei der europaischen sumpfchildkrote (Emys orbicularis) Tierarztl prax , 27: 198-201.
36-Chaffin, K.; Norton , T.M.; Gilardi, K.; Poppenga, R.; Jensen, J.B.; Carolyn, P.m.; Dierenfeld, E.S.; Marcie Oliva, T.C.; Origgi, F.C.; Gibbs, S.; Mazzaro, L. and Mazet, J.(2008). Health assessment of free- ranging alligator snapping turtles (*Macrochelys temminckii*) in Georgia and Florida. Journal of Wildlife Diseases, 44(3): 670-686.
37-Anderson, E.T.; Minter, L.J.; Clarke, E.O.; Raymond, M.; Beasley, J.F. and Harms, C.A. (2011). The Effects of Feeding on Hematological and Plasma Biochemical Profiles in Green turtle (*Chelonia mydas*) and Kemp's Ridley (*Lepidochlys kempii*). Veterinary Medicine International. 1: 1-7.
38-Mlynarski , M. and Wermuth , H. (1975) . The turtles In : Grzimek's animal life encyclopedia . (B. Grzimek , Ed) . Van nostrad Reinhold Company , New York , 6: 75-123.
39-Omonona, A.O.; Olukole, S.G. and Fushe, F.A.(2011). Heamatology and serum biochemical parameters in free- ranging African side neck turtle (*Pelusios sinuatus*) in Ibadan, Nigeria. Acta Herpetologica, 6(2): 267-274.
40-Anderson, N.L.; Wack, R.F. and Hatcher, R.(1997) . Hematology and clinically chemistry reference ranges for clinically normal , captive New Guinea snapping turtle (*Elseya novaeguineae*) and the effects of temperature, sex and sample type . Journal of Zoo Wildlife Medicine , 28:394-403.
41-Fong , Chia- Ling; Chen, Ho. and Cheng, I. (2010). Blood profiles from wild populations of green sea turtles in Taiwan. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health, 2(2) : 8-10.
42-Al-Atta,A.M. (2010). Hematological, Biochemical and histopathological studies on marsh frog,(*Rana ridibunda*) naturally infected with waltonella duboisi. International Journal of Zoological Research, 6: 199-213.
43-Martin, D. W.; Mayes , P.A. and Rodwell , V.W.(1983) . Harper's Review of Biochemistry . lange Medical publication , los Ahos , CA., USA : 613-622.
44-Mc Lauchlan, D.M. (1988) . Creatinine , urate and urea . In : varley's practical clinical biochemistry , Gowenlock , A.D. (ED) . Heinemann Medical Books , London : 350.
45-Wilson, Sabrina; Felt, Stephen; Torreilles Stephanie; Howard , Antwain; Behan, Colleen; Moorhead Reberta and Green, Sherril (2011). Serum Clinical Biochemical and Hematologic Reference Ranges of Laboratory Reared and Wild – Caught (*Xenopus laevis*). J. Am. Lab. Anim., 50(5): 635-640.
46-Coppo, J. A; Mussart, Norma B. and Fioranelli, Santiago A. (2005). Blood and urine physiological values in farm –cultured (*Rana catesbeiana*) Anura: Randidae in Argentina . Revista de Biologia Tropical, 53(3-4): 1-10.
47-Busk , M. ; Jensen , F. B. and Wang , T. (2000) . Effects of feeding on metabolism , gas transport , and acid – base balance in the bullfrog . (Rana catesbeiana) . comp . Biochem. physiol. , 278: 185-195.
48-Goldstein , L.(1982) . Comparative physiology . Saunders . Philadelphia ; 454pp.
Kaneko, J.J. (1989) . Clinical biochemistry of domestic animals . Academic Press .San di ego ; 832pp .
49-Alikhan, Bakht Yawar; Saeed, Muhammad Qamar; Ali, Faheem and Iqbal Furhan (2012). Blood biochemistry. Anat Anz, 143(`2): 6-161.

50-Ryan , K.J. ; Ray , C.G. and Sherries , A. (2004) . Medical microbiology : An introduction to infection diseases . McGraw Hill Publisher , New York: 304-306.

51-Zulfiqar , S.; Shahnawaz , S. ; Ali, M. ; Bhutta , AM. ; Iqbal , S. ; Hayat S.; Qadir , S. ; Latif , M. ; Kiran , N. ; Saeed , A. ; Ali , M. and Iqbal , F.(2012) . Detection of Bobesia bovis in blood samples and its effect on the hematobgical serum biochemical profile in large ruminants from Southern Punjab (Pakistan) . J. Trop . Biomed , 2(2) : 104-108.

52-Gottdenker , N.L . and Jacobson , E.R.(1995) . Effect of venipuncture sites on hematologic and clinical biochemical values in desert tortoises (Gopherus agassizii) . Am. J. Res , 56:19-21.

53-Stoskopf , M.K. (2000) . Normal hematology of elasmobranches . In: Feldman, B., J. ziniki and N. Jain (eds) . Schalm's veterinary hematology . Lippincott Williams and willkins , Philadelphia , Pennsylvania : 375-377.

54-Christopher , M.M. ; Berry , K.H. ; Wallis , I.R.; Nagy , K.A. ; Henen , B. I. and Peterson, C.C.(1999) . Referenci intervals and physiologic alteration in hematologic and biochemical values of free – ranging desert tortoises in the Mojare desert – Journal of wildlife Diseases , 35 :212-238.

55-Hamann, M. , Limpus , C.J. and Whittier , J.M.(2000) . Patterns of lipid storage and mobilization in the female green sea turtle (chelonia mydas L) Journal of comparative physiology , 172: 485-493

56-Bolten , A.B., Jacobson , E.R. and Bjorndal , K.A. (1992) . Effect of anticoagulant and autoanalyzer on blood biochemical values of Loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) . American Journal of veterinary Research , 53; 2224-227.

57-Elias, E.N. and Yagil, R.(1984). Hematological and biochemical values in lactating and their new borns. Refuah. Vet., 41:7-13.

58-Harris , J.A. (1972) . Seasonal variation in some hematological characteristics or Rana pipuens . comp . Biochem . physiol. , 43 : 975-989.

59- Kakizoe , Y. Sakaok , K., Kakizoe , F. , Yoshi , M. and Nakamura , H. (2007) . successive changes of hematologic characteristics and plasm chemistry values of juvenile Loggerhead turtles (*Caretta caretta*) . J. Zoo . Wild . Med , 38(1) : 77-84.

60-Gordon, Malcolm S.; Nielsen, Knut S. and Kelly, H. M. (1961). Osmotic regualation in the crab-eating frog (*Rana cancrivora*). J. Exp. Biol., 38: 659-678.

61-Reichling,H.(1957).Transpiration and vorzugstemperatur mitteleuropdischer reptilian and amphibien . J. zool . physiol. , 67: 1-64.

62-Neill , W. T. (1958) . The occurrence of amphibians and reptiles in salt water areas and a bibliography Bull . Mar . Sci . Gulf Caribbean , 8; 1-97.

63-Ruibal ,R.(1959).The ecology of brackish water population of Rana pipiens . Copeia , 4: 315-22.

64-Green, S.L. , Moohead , RC. And Bouley , D M(2003) . Thermal shock in acolony of the south African clawed frogs (Xeopus laevis) Vet Res , 152: 336-337.

65-Wilson , J.A. (1989) . Principles of animal physiology . Mcmillan . New York: 984.

66-Cathers , T. ; Lewbart , G. A., ; Correa , M. and Stevens , J.B. (1997) . Serum chemistry and hematology values for anesthetized American bullfrog (Rana catesbeiana) . J. Zoo. Wildl Med , 28 : 171-174.

67-Eckert, R. (1992) . Animal physiology , New York : 683.

68-Voyles, Jamie; Young, Sam; Berger, Lee; Campbell, Craig; Voyles, Wyatt F.; Dinudom, Anuwat; Cook, David; Webb, Rebecca; Alford, Rossa.; Skerratt, Lee F. and Speare Rick. (2009). pathogenesis of chytridiomycosis, a cause of catastrophic amphibian declines. Journal of Science, 326:1-10.