

بررسی برخی پارامترهای یونی و هورمونی سرم خون لاک پشت عقابی *Eretmochelys imbricata* خارج از فصل تخم گذاری در جزیره قشم (خلیج فارس)

مریم احسان پور^{(۱)*}؛ محمد رضا احمدی^(۲)؛ امیر هوشنگ بحری^(۱)؛ مجید افخمی^(۱)

Mehsanpour@yahoo.com

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندر عباس، بندرعباس، ایران. صندوق پستی: ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

۲- استاد دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۱

چکیده

در این مطالعه برخی پارامترهای یونی سرم خون (سدیم، پتاسیم، کلر، آهن، کلسیم و فسفر) و پارامترهای هورمونی (استرادیول، پروژسترون، FSH و LH) لاک پشت عقابی در خارج از فصل تخم گذاری (پاییز) پرداخته شده است. براساس نتایج بدست آمده ارتباط معنی داری بین اغلب فاکتورهای یونی و هورمونی با پارامترهای زیست سنجی (وزن، طول و عرض کاراپاس) وجود داشت ($P < 0/01$). دامنه پارامترهای یونی شامل سدیم، پتاسیم و کلر به ترتیب: ۱۵۰-۱۱۰، ۴/۶-۲/۲، ۱۱۵-۸۵ میلی مول بر لیتر و آهن، کلسیم و فسفر به ترتیب: ۵/۳-۳۳/۲ میکرو گرم بر دسی لیتر، ۵/۸-۱۱/۳ و ۴/۴-۱۵ میلی گرم بر دسی لیتر اندازه گیری گردید. پارامترهای هورمونی استرادیول، پروژسترون، FSH و LH نیز به ترتیب: ۹-۱۷ پیکو گرم بر میلی لیتر، ۰/۶۵-۰/۲۱ نانو گرم بر میلی لیتر، ۰/۸ میکرو واحد بر لیتر و ۰/۷-۲/۲ نانو مول بر لیتر گزارش گردید. داده های این مطالعه می توانند به عنوان مقادیر مرجع و راهنما جهت ارزیابی وضعیت سلامت، پتانسیل رشد و تولید مثل جمعیت های لاک پشت های دریایی در فصل تخم گذاری و خارج از فصل تخم گذاری ارایه گردد.

کلمات کلیدی: پارامترهای یونی، پارامترهای هورمونی، خارج از فصل تخم گذاری، لاک پشت عقابی، خلیج فارس.

۱. مقدمه

تا کنون ۲ خانواده و ۷ گونه لاک پشت های دریایی در سرتاسر جهان شناسایی و گزارش شده است (۲۱). خانواده Chelonoidae شامل جنس های لاک پشت سبز (*Chelonia mydas*)، لاک پشت عقابی (*Eretmochelys imbricata*)، لاک پشت زیتونی (*Lepidochelys olivacea*) و لاک پشت پهن پهن (*Natator depressus*) است و خانواده Dermochelidea تنها دارای گونه پشت چرمی (*Dermochelys coriacea*) می باشد (۵). لاک پشت عقابی (*Eretmochelys imbricata*) یکی از گونه های لاک پشت های دریایی است که بیشتر عمر خود را در اقیانوس ها به سر می برد. آنها معمولاً در هنگام تنفس در سطح آب دیده شده و یا در فصل تخم گذاری مولدین جنس ماده در حال تخم گذاری در سواحل مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری دیده می شوند. گونه فوق در آب های کم عمق سواحل صخره ای در خلیج ها و خورها زیست می کند. معمولاً به تنهایی یا در گروه های کوچک برای لانه گزینی به ساحل می آیند که این موضوع خطر شکار شدن تخم ها را کاهش می دهد. عمدتاً در سراسر منطقه (خلیج فارس و دریای عمان) به خصوص در اطراف جزایر دور از ساحل به تعداد کم یافت می شود (۵).

تهدید های جهانی برای این گونه شامل جمع آوری تخم و مولدین آنها برای مصارف غذایی انسانی (۲۴)، تخریب، تغییر و ایجاد روشنایی مصنوعی در نزدیکی مناطق تخم گذاری (۱۰)، تغییرات آب و هوایی که بر میزان تولید اقیانوس ها تاثیر گذار است (۳۰) و در نهایت مرگ و میر ناشی از فعالیت صید و صیادی می باشد (۱۸). با توجه به اینکه این گونه در لیست گونه های در معرض خطر انقراض معرفی شده است (۱۶) لذا بررسی وضعیت سلامت این گونه بسیار مهم می باشد. مطالعات فراوانی

در خصوص ارزیابی فیزیولوژی و تاکسولوژی لاک پشت های دریایی صورت انجام شده ولی مطالعات اندکی در خصوص فاکتورهای وضعیت سلامت این گونه مثل فاکتورهای خونی و ترکیبات بیوشیمیایی سرم خون این گونه صورت گرفته است (۲۸).

روش های استفاده از آنالیزهای خون برای بررسی بسیاری از جمعیت های وحشی در گونه های مختلف خصوصاً گونه های در معرض خطر انقراض و کمک کردن به تعیین وضعیت سلامت اکوسیستم ها مورد استفاده قرار می گیرند (۱۰). تلاش های فراوانی جهت حفاظت از لاک پشت های دریایی صورت گرفته و پیشرفت هایی نیز در زمینه مدیریت بهداشتی و بیماری های این گونه بدست آمده و همچنین مطالعات فیزیولوژی این گونه در سال های اخیر افزایش یافته است (۳۳).

هدف از انجام این مطالعه، مقایسه برخی الکترولیت ها و پارامترهای یونی پلاسمای خون لاک پشت عقابی *E. imbricata* در خارج از فصل تولید مثل در خلیج فارس می باشد. همچنین یکی دیگر از اهداف این پروژه تدوین مقادیر مرجع فاکتورهای یونی و هورمونی پلاسمای خون لاک پشت عقابی است.

۲. مواد و روش ها

در خارج از فصل تخم گذاری (مهرماه تا دی ماه سال ۱۳۹۰) با استفاده از شناور قایق و عملیات غواصی و با کمک صیادان بومی عملیات صید و خونگیری از مولدین لاک پشت عقابی در بخش جنوبی جزیره هنگام (که بنظر می رسد منطقه تغذیه ای لاک پشت های عقابی می باشد) در مقابل ساحل روستای شیدراز صورت گرفت. (از ۱۰ لاک پشت در این دوره نمونه برداری عملیات خونگیری صورت گرفت). پس از اتمام عملیات خون گیری عملیات زیست سنجی شامل طول و عرض کاراپاس، ارتفاع بدن و وزن لاک پشت اندازه گیری گردید. جهت انجام عملیات خون گیری پس از صید لاک پشت و بیرون کشیدن از

فاکتور های هورمونی با استفاده از سیستم Vidas system (Electro Immune Analyzer, مدل Biomerieux France) اندازه گیری گردید. فاکتورهای یونی نیز با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل (Cobas integra system, France) اندازه گیری گردید (۲۶).

نرمال بودن داده ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف صورت گرفته و میانگین و انحراف معیار داده ها محاسبه گردید. علاوه بر این از ضریب تاثیر پیرسون برای تعیین ارتباط خطی و همبستگی بین متغیرها در سطح اطمینان ۹۹ درصد استفاده گردید ($P < 0.01$).

۳. نتایج

نمونه های صید شده همگی از جنس ماده با میانگین وزنی و طولی $12/67 \pm 43/01$ کیلوگرم؛ $63/54 \pm 10/23$ سانتی متر با عرض کاراپاس (CCW) $57/16 \pm 9/04$ سانتی متر و از نظر ظاهری کاملاً سالم بودند. دامنه و میانگین پارامترهای بیوشیمیایی در جدول شماره ۱ و همبستگی بین این پارامترها در مولدین جنس ماده لاک پشت عقابی در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

آب با رعایت کامل نکات ایمنی به طوری که به گونه مورد نظر آسیبی وارد نشود از محل حفرة گردن و در نزدیکی اتصال گردن به لاک اقدام به خونگیری با استفاده از سرنگ پلاستیکی ۱۰cc گردید (۲۰). این نکته ضروری است که محل خونگیری ابتدا با استفاده از آب مقطر و اتانول شستشو داده شده و ضدعفونی گردد (۲۶). دقت و سرعت عمل در هنگام خون گیری جهت به حداقل رساندن خطر آسیب به لاک پشت بسیار با اهمیت می باشد برای این منظور از ۲ نفر نیروی کمکی برای مهار لاک پشت استفاده گردید. خون جمع آوری شده از هر نمونه را درون دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و با استفاده از میکروسپلر شماره ۱۰۰ سرم خون را که در بخش بالایی لوله آزمایش قرار گرفته جدا نموده و درون ویال های مخصوص درب دار قرار دادیم و در دمای ۴C با استفاده از یونولیت حاوی یخ تا رسیدن به آزمایشگاه (آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی آپادانا در بندر عباس) قرار داده شدند. بلافاصله پس از ارسال نمونه ها به آزمایشگاه نمونه های سرم در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا انجام آزمایشات بیوشیمیایی نگهداری گردیدند (۲۷).

جدول ۱: میانگین، انحراف معیار و دامنه پارامترهای زیست سنجی و فاکتورهای یونی و هورمونی سرم خون لاک پشت عقابی خارج از فصل تخم گذاری در جزیره قشم (خلیج فارس)

پارامتر	میانگین و انحراف معیار	دامنه	واحد
Weight	$43/01 \pm 12/67$	۲۹-۶۳	Kg
CCL	$63/54 \pm 10/23$	۴۸-۸۱	Cm
CCW	$57/16 \pm 9/04$	۴۵-۷۴	Cm
Fe	$13/86 \pm 7/05$	۵/۳-۳۳/۲	$\mu\text{g/dl}$
Ca	$8/96 \pm 1/99$	۵/۸-۱۱/۳	mg/dl
P	$7/05 \pm 3/07$	۴/۴-۱۵	mg/dl
E2	$11/83 \pm 2/40$	۹-۱۷	Pg/ml
Progesterone	$0/37 \pm 0/16$	۰/۲۱-۰/۶۵	ng/ml
LH	$1/53 \pm 0/51$	۰/۷-۲/۲	nmol/L
FSH	$1/94 \pm 1/63$	۰/۸-۷	$\mu\text{IU/ml}$
Na ⁺	$132/50 \pm 13/12$	۱۱۰-۱۵۰	mmol/l
k ⁺	$3/70 \pm 0/62$	۲/۲-۴/۶	mmol/l
Cl ⁻	$97/58 \pm 9/40$	۸۵-۱۱۵	mmol/l

طول کاراپاس (CCL)، عرض کاراپاس (CCW)، آهن (Fe)، کلسیم (Ca)، فسفر (P)، استرادیول (E₂)، سدیم (Na)، پتاسیم (K) و کلر (Cl).

بر اساس نتایج بدست آمده ارتباط معنی داری بین اغلب فاکتورهای یونی و هورمونی با پارامترهای زیست سنجی (وزن، طول و عرض کاراپاس) وجود داشت ($P < 0/01$). دامنه پارامترهای یونی شامل سدیم، پتاسیم و کلر به ترتیب: ۱۱۰-۱۵۰، ۴/۶-۲/۲، ۸۵-۱۱۵ میلی مول بر لیتر و آهن، کلسیم و فسفر به ترتیب:

۳۳/۲-۵/۳ میکرو گرم بر دسی لیتر، ۵/۸-۱۱/۳ و ۴/۴-۱۵ میلی گرم بر دسی لیتر اندازه گیری گردید. پارامترهای هورمونی استرادیول، پروژسترون، FSH و LH نیز به ترتیب: ۹-۱۷ پیکو گرم بر میلی لیتر، ۰/۶۵-۰/۲۱ نانو گرم بر میلی لیتر، ۷-۰/۸ میکرو واحد بر لیتر و ۲/۲-۰/۷ نانو مول بر لیتر گزارش گردید.

جدول ۲: ضریب همبستگی بین پارامترهای یونی و هورمونی سرم خون لاک پشت عقابی خارج از فصل تخم گذاری در جزیره قشم (خلیج فارس)

Parameter	Weight	CCL	CCW	Fe++	Ca++	P	E2	Progesterone	LH	FSH	Na+	K+
CCL	.464**											
CCW	.403**	.410**										
Fe++	.103*	-.04	-.48									
Ca++	.412	.344	.327	.414								
P	.764**	.723**	.778**	.433	.178							
E2	.384	.377	.321	.384	.014	.620*						
Progesterone	.114	-.013	-.20	.798**	.047*	.230	.177					
LH	.334	.264	.224	.263	.023	.184	.172	.344				
FSH	-.242	-.441	-.410	-.100	-.101	-.284	-.213	-.262	-.334			
Na+	.674*	.602*	.687*	-.044	.034	.300	-.184	.121	-.087	-.007		
K+	-.013	-.124	.014	.384	.274	.324	-.000	.641*	-.044	.064	.204	
Cl-	-.040*	-.644*	-.070	.060	-.371	-.344	-.277	.218	.344	.083	-.024	.302

** ضریب همبستگی در سطح کمتر از ۰.۰۱
* ضریب همبستگی در سطح کمتر از ۰.۰۵

طول کاراپاس (CCL)، عرض کاراپاس (CCW)، آهن (Fe)، کلسیم (Ca)، فسفر (P)، استرادیول (E2)، سدیم (Na)، پتاسیم (K) و کلر (Cl).

۴. بحث

سالیان متمادی است که لاک پشت های دریایی تقریباً در تمام نقاط جهان به دلیل شرایط خاص زیست آنها در معرض نابودی و انقراض قرار دارند. از طرفی موجودات فوق در زنجیره غذایی اکوسیستم های دریایی و همچنین تنوع زیستی منابع فوق نقش بسیار بارز و قابل اعتنایی را دارا می باشند. لذا روز بروز بر اهمیت آنها افزوده می گردد و بهمین دلیل مرتب به آنها در مجامع مختلف پرداخته می شود. بررسی فاکتور های خونی و هورمونی می تواند از دیدگاه های متعددی مورد توجه باشد چراکه تمام فعالیت های موجودات فوق متاثر از پدیده های مزبور خواهد بود. لذا در پروژه حاضر به گونه غالب موجود در خلیج فارس از دیدگاه مزبور پرداخته تا به کمک مطالعات صورت گرفته بتوان یک برداشت علمی و منطقی را از آن بدست آورد.

تعیین مقادیر مرجع پارامترهای بیوشیمیایی و خون شناسی به عنوان یک نگرانی مهم جهت ارزیابی و بررسی وضعیت سلامت لاک پشت های دریایی می باشد. این گونه ارزیابی ها وابسته به مقادیر مرجع واقعی برای جانداران سالم است. در سال های اخیر مقادیر مرجع فاکتورهای متعدد خون شناسی از جمعیت های وحشی و پرورشی لاک پشت های تدوین نشده است (۱۵،۱۷،۱۹،۲۲). این موضوع بسیار حایز اهمیت است که مقادیر مرجع فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسمای خون در سطح منطقه ای و براساس جمعیت تهیه شود (۲،۴،۶). این موضوع زمانی بسیار مهم می شود که استراتژی های حفاظتی برای یک گونه در معرض خطر انقراض در حال تدوین باشد. همچنین آنالیزهای خون شناسی داده های مهمی را در خصوص ارزیابی وضعیت سلامت لاک پشت هایی که با هدف بازسازی ذخایر در محیط طبیعی رها سازی می گردند، می باشند (۶،۷،۱۱).

مقادیر فاکتورهای پلاسمای خون جمعیت های طبیعی لاک پشت های دریایی به همراه سایر پارامترهای فیزیولوژیک برای

ارزیابی سلامت و شرایط فیزیولوژی جمعیت ها استفاده می شوند (۶)، کاهش شدید جمعیت های لاک پشت های دریایی در سراسر جهان به دلیل رشد سریع آلودگی ها در محیط های دریایی و نابودی بسیاری از مناطق تغذیه ای و تخم گذاری در حال وقوع است که نتیجه این موضوع وقوع بسیاری از بیماری ها مثل فیروویلوما در بین بسیاری از جمعیت ها است (۴).

مقادیر میانگین اندازه گیری شده برای کلسیم، فسفر، کلسترول و تری گلیسیرید دارای ارتباط معنی دار با زرده سازی و تشکیل تخم دارد. افزایش میزان کلسیم و فسفر در جانورانی که بصورت گرسنه در شرایط اسارت نگهداری می شوند به وجود می آید (۴). در این مطالعه میزان کلسیم به مقدار $1/99 \pm 8/96$ میلی گرم بر دسی لیتر در مقایسه با سایر مطالعات انجام گرفته بر روی لاک پشت های دریایی بالاتر بوده است اگر چه براساس نظر Wilkinson (۳۱) کلسیم در فصل تخم گذاری برای تشکیل تخم بیشتر مصرف می شود. همچنین Deem و همکاران (۱۰) مقادیر بالای کلسیم و فسفر را در جمعیت گونه پشت چرمی در فصل تخم گذاری مشاهده نمودند.

یکی از مهمترین اعمال فیزیولوژیک آبی در طول حیاتش، تنظیم فرآیند اسمزی می باشد که عمدتاً از طریق بالانس مقادیر یون های تک ظرفیتی (کلر، سدیم و پتاسیم) و دو ظرفیتی (کلسیم، منیزیم و ...) با توجه به شرایط محیطی آبی صورت می گیرد (۱). لاک پشت های دریایی تمایل دارند غلظت های بالاتر سدیم نسبت به سایر خزندگان داشته باشند. غده های نمکی آنها مقادیر سدیم، پتاسیم و کلراید را در خون تنظیم می کند. بنابراین تخریب غدد نمکی آنها بر میزان تعادل الکترولیت های خون تاثیر می گذارد (۹). Hyper Naterenia شرایطی است که با آب زدایی موجود همراه بوده و منجر به افزایش مقادیر سدیم می گردد. در این گونه شرایط باید توجه ویژه برای بازگشت شرایط ایده آل موجود جهت تنظیم میزان الکترولیت های خون صورت پذیرد (۸). مقادیر سدیم $13/12 \pm 132/50$ میلی

هورمون FSH یا هورمون تحریک کننده فولیکول ها در انسان ها و سایر حیوانات یافت می شود. این هورمون در بخش قدامی غده هیپوفیز و گنادها سنتز و ترشح می شود. این هورمون رشد، توسعه بلوغ و فرایند های تولید مثل را کنترل می کند. FSH و هورمون LH (تحریک کننده هورمون های جنسی) در تولید مثل نقش سنتزی دارند و به طور خاص افزایش ترشح FSH از غده هیپوفیز منجر به تولید و بلوغ سلول های جنسی می گردد. ترشح این هورمون ها از غده هیپوفیز توسط هورمون GnRH تنظیم می گردد. علاوه بر این ها پاسخ معکوس استروژن از گناد ها نیز در این فرایند موثر می باشد (۱۴). مقادیر FSH و LH در این مطالعه در دامنه ۷-۰/۸ و ۰/۷-۲/۲ واحد بر لیتر اندازه گیری گردید.

بررسی وضعیت سلامت جمعیت های لاک پشتان دریایی به طور قابل ملاحظه ای در حفاظت و مدیریت این جمعیت ها حائز اهمیت است. همچنین انجام مطالعات فوق در استفاده از لاک پشتان به عنوان شاخص های زیستی سلامت اکوسیستم های آبی حائز اهمیت هستند (۱۱). بنابراین آورده های فوق می توانند حداقل در حفظ و بقاء گونه با ارزش موجود در خلیج فارس کمک های شایانی نماید.

منابع

۱- کاظمی ، ر.؛ پوردهقانی ، م.؛ یوسفی جوردهی ، ا.؛ یار محمدی ، م.؛ نصری تجن، م.؛ ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. ۱۹۴ صفحه.

2- Aguire A.A., Balazs G.H. 2000. Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. *Comp. Haematol. Int.* 10: 132-137.

3- Alkindi, A.Y.A, Brown, J.A. and Waring, C.P. 2000. Endocrine, physiological and histopathological responses of fish and their

مول بر لیتر در این مطالعه مشابه مقادیر ارایه شده توسط Stamper (۲۵) برای لاک پشت سرگنده در فصل مهاجرت در شمال کارولینا بوده است که به دلیل کاهش دریافت غذا بوده است. مقادیر اندازه گیری شده سدیم و پتاسیم توسط Wilkinson (۳۱) برای نوزادان گونه لاک پشت سرگنده در شرایط اسارت بالاتر از نمونه هایی که بطور روزانه تغذیه می شدند ، بوده است. میانگین مقدار پتاسیم (377.0 ± 0.62) میلی مول بر لیتر) مشابه مقادیر بدست آمده توسط Bolten and Bjorndal (۶) و Campbell (۹) بوده است. مقادیر سدیم و پتاسیم تحت تاثیر فعالیت غدد نمکی می باشند علاوه بر آن Wilkinson (۳۱) پیشنهاد نمود که کاهش جذب غذا باعث کاهش مقادیر پتاسیم می گردد. افزایش میزان کلسیم و فسفر در جانورانی که بصورت گرسنه در شرایط اسارت نگهداری می شوند به وجود آمد.

کاهش هورمون های جنسی در پلاسمای خون در طول زمان زرده سازی اولیه اتفاق می افتد. استرادیول با شروع زرده سازی افزایش یافته و به حداکثر میزان خود در زمان زرده سازی می رسد و مکانیزم پاسخ بازدارنده معکوس بین هورمون های جنسی و گنادوتروپین در طول دوره بلوغ اووسیت و تشکیل سلول تخم وجود درد (۲۵). محققین (۱۳) افزایش میزان استرادیول را در چند هفته قبل از شروع تخم ریزی و کاهش آن به میزان اولیه قبل از تشکیل تخم گزارش نمودند. دوره نوری زمان تخم ریزی را تحت تاثیر قرار می دهد. تاثیرات دوره نوری مستقیما بر زمان تخم ریزی با تغییر در میزان زمان حداکثری ترشح هورمون استرادیول و تستسترون همراه خواهد بود (۱۲). همچنین هنگامیکه استرادیول زرده سازی را تحریک می کند میزان کلسیم در پلاسمای خون و ترکیب کلسیم و زرده تخم به طور معنی داری افزایش خواهد یافت (۲۹). در این مطالعه نیز میزان کلسیم با پروژسترون دارای ارتباط معنی دار مثبت بود ($P < 0.01$).

- larvae to stress with emphasis on exposure to crude oil and various petroleum hydrocarbons. *Journal for Scientific Research. Science and Technology Special Review*: 1-30.
- 4-Balazs, G.H. and Pooley, S.G. 1991. Research plan for marine turtle fibropapilloma. National Oceanographic and Atmospheric Administration Technical Memorandum (NMFS NOAA-TM-NMFS-SWFSC-156), Honolulu, Hawaii, pp113.
- 5-Barbadillo, L.J., Lacomba, J.I., Pe´rez-Mellado, V., Sancho, V., Lo´pezJurado, L.F., 1999. In: Barbadillo, J.L. (Ed.), *Anfibios y Reptiles de la Península Ibe´rica, Baleares y Canarias*. Geoplaneta Editorial, Barcelona, p. 419.
- 6-Bolten A.B, Bjorndal K.A. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: sizespecific and sex-specific relationships. *J. Wildl. Disease* 28: 407-413.
- 7-Brenner D., Lewbart G., Stebbins M., Herman D. W. 2002. Health survey of wild and captive bog turtles (*Clummys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *J Zoo Wildl Med*, 33(4): 311–316.
- 8-Caliendo Valentina, DVM, MRCVS, Peter McKinney, MVB, Cert Zoo Med, David Robinson, Warren Baverstock, Kevin Hyland, 2010. Plasma Biochemistry and Hematology Values in Juvenile Hawksbill Turtles (*Eretmochelys imbricata*) Undergoing Rehabilitation. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*. Volume 20, No. 4.
- 9-Campbell T.W. 2006. Clinical pathology of reptiles. In Mader DR (ed): *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. Saunders, Philadelphia, PA: 453–470.
- 10-Deem S. L., E. S. Dierenfeld G. P. Sounguet A. R. Alleman C. Cray R. H. Poppenga T. M. Norton and W. B. Karesh. 2006. Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the coast of the Republic of Gabon. *J. Zoo. Wildl. Med.* 37: 464–471.
- 11-Diaz-Figueroa O. 2005. Characterizing the health status of the Louisiana Gopher tortoise (*Gopherus polyphemus*). A thesis submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State Univ and Agric and Mech Coll, 1–109.
- 12-Dutson, J. and Bromage, N.1987. Constant photoperiodic regimes and the entrainment of annual cycle of reproduction in the female rainbow trout (*Salmo gairdineri*). *General and comparative Endocrinology* 65: 373-384.
- 13-Fostier, A., Weil, C., Terqui, M., B. and Jalabert, B. 1978. Plasma estradiol -17 β and gonadotropin during ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R). *Annales de biologie animale biochimic biophysique* 18(4):929-936.
- 14-Fowler P.A, Sorsa-Leslie T., Harris W., Mason H.D. 2003. "Ovarian gonadotrophin surge-attenuating factor (GnSAF): where are we after 20 years of research?". *Reproduction* 126 (6): 689–99.
- 15-Hidalgo-Vila J., Dı´az-Paniagua C., P´erez-Santigosa N., Laza A., Camacho I., Fernando R. 2007. Hematologic and biochemical reference intervals of free-living mediterranean pond turtles (*Mauremys leprosa*). *J Wildl Dis*, 43(4): 798–801
- 16-IUCN/SSC, 2004. IUCN Red List of Threatened Species. <www.redlist.org> (accessed 07.12.05.).
- 17-Knotková Z., Doubek J., Knotek Z., Hájková P. 2002. Blood cell morphology and plasma biochemistry in Russian tortoises. *Acta Vet Brno*, 71: 191–198.
- 18-Lewis R.L., Freeman S.A., and Crowder L.B. 2004. Quantifying the effects of fisheries on threatened species: the impact of pelagic loglines on loggerhead and leatherback sea turtles. *Ecology Letters* 7:221–231.
- 19-Metin K., Tırkozan O., Kargin F., Basumoglu Y. K., Taskavak E., Koca S. 2006. Blood cell morphology and plasma

- biochemistry of the captive european pond turtle *Emys orbicularis*. Acta Vet Brno, 75: 49–55.
- 20-Moody J.R., Lindstrom R.N. 1977. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace element samples. Anal Chem 49:2264–2267.
- 21-Pritchard P.C.H., 1997. Evolution, phylogeny, and current status. In: Lutz, P.L., Musick, J.A. (Eds.), the Biology of Sea Turtles. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 1–28.
- 22-Samour J.H., Hewlett J. C., Silvanose C., Hasbun C. R., Al- Ghais S. M. 1998. Normal haematology of free-living green sea turtles (*Chelonia mydas*). Comp Haematol Int, 8: 102–107.
- 23-Scot A.P. and Sumpter, J.P. 1983. The control of trout reproduction: basic and applied research on hormones. In: Rankin, J.C., Pitcher, T.J. and Duggan, R.T.(eds), control presses in fish physiology: 200-220. Croom Helm , London and Cambbera.
- 24-Spotila J.R., Reina R.D., Steyermark A.C., Plotkin P.T., and Paladino F.V. 2000. Pacific Leatherback Turtles Face Extinction. Nature 405:529–530.
- 25-Stamper A.M. 2005. Relationship between barnacle epibiotic load and hematologic parameters in loggerhead sea turtles (*C. Caretta*), a comparison between migratory and residential animals in Pamlico Sound, North Carolina. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, v.36, n.4 p.635-641, 2005. Available from: <<http://www.bioone.org/doi/abs/10.1638/04-074.1> >. Accessed: Feb. 11, 2007. doi: 10.1638/04-074.1.
- 26-Strik N., Alleman A.R., Harr K.E., 2007. Circulating inflammatory cells. In: Jacobson, E. (Ed.), Infectious Diseases and Pathology of Reptiles. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A., pp. 165–214.
- 27-Svobodova Z., Pravda D., Palackova J., 1991. Unified methods of hematological examination of fish. : RIFCH Vodnany, Methods, 22. 31 pp.
- 28-Turtle expert working group. 2007. An assessment of the leatherback turtle population in the Atlantic Ocean. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-555, 116 pp.
- 29-Yeo I.K., Mugiya Y. 1997. Effects of extracellular calcium concentrations and calcium antagonists on vitellogenin induction by estradiol-17 beta in primary hepatocyte culture in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Gen Comp Endocrinol 105, 294-301.
- 30-Walton R.M. 2001. Establishing reference intervals: health as a relative concept. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine 10 (2), 66–71.
- 31-Wilkinson R. Clinical Pathology. In: McArthur, S. Etal 2004. Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles. Oxford: Blackwell. 578p. Cap.7, P.141-186.
- 32-Work T.M., Raskin R.E., Balazs G.H., Whittaker S.D., 1998. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtles. American Journal of Veterinary Research 59, 1252–1257.