

KRVNE ČELIJE I DIFERENCIJALNA KRVNA SLIKA *BUFO BUFO* SA NEKIH LOKALITETA TUZLANSKOG KANTONA

Lejla Delalić¹, Alen Bajrić^{1*}, Edina Hajdarević¹, Isat Skenderović¹, Avdul Adrović¹

¹ Univerzitet u Tuzli, Prirodno-matematički fakultet, Urfeta Vežzagića 4, 75000 Tuzla,
Federacija Bosne i Hercegovine, Bosna i Hercegovina

*Autor za korespondenciju: alenbajra@gmail.com

Sažetak

Hematologija klase Amphibia nedovoljno je istražena na području Bosne i Hercegovine. O hematologiji nižih taksona ove klase, a pogotovo nespecifične i „nezanimljive” vrste kao što je *Bufo bufo* (obična krastača), koja nije ugrožena ili posebno privlačna naučnicima ali i široj javnosti, ne zna se skoro ništa. U radu je predstavljena morfologija krvnih ćelija, ali i diferencijalna krvna slika dvije populacije obične krastače sa područja Tuzlanskog kantona. Utvrđeni su svi tipovi krvnih ćelija, a diferencijalna krvna slika pokazala je da postoje određene razlike u zastupljenosti pojedinih formi leukocita kod posmatranih populacija, te prisustvo određenih parazita u krvi istraživane vrste. Ovaj rad naglašava važnost postojanja što opširnijeg, pristupačnog registra podataka o biologiji svih vrsta koje nas okružuju, pa tako i vrste *Bufo bufo*, te pruža pregled dostupnih informacija o biologiji i specifičnoj hematologiji pomenute vrste.

Ključne riječi: *Bufo*, obična krastača, hematologija, krvna slika

UVOD

Obična krastača, *Bufo bufo* (Linnaeus, 1758), predstavlja vrstu o kojoj još uvijek ne postoji kompletan registar podataka koji opisuju njenu morfologiju, fiziologiju, genetiku, evoluciju, ekologiju i druge značajke specifične za nju. Konzervacijskim statusom određenim prema Crvenoj listi IUCN, označena je kao najmanje zabrinjavajuća vrsta na globalnom nivou, s obzirom na to da je izuzetno dobro rasprostranjena, otporna na promjenljive uslove sredine i prilagođena na svoje stanište koje nema posebnu zaštitu (Vörös i sar., 2016).

Međutim, na lokalnim nivoima uništavanje šuma i livada, kao i umjetno isušivanje močvara predstavljaju najozbiljnije prijetnje za ovu vrstu. Ti su faktori odgovorni za izumiranje pojedinih populacija (Wilkinson i Buckle, 2012). Autohtona je vrsta u 47 zemalja svijeta, uključujući Bosnu i Hercegovinu (Clarke, 1974).

Crvena krvna zrnca vodozemaca veća su od eritrocita sisara, ovalnog oblika, sa jedrom i najčešći su ćelijski elementi u krvi vodozemaca. Jedro je izgrađeno od kondenzovanog hromatina i izduženog je, nazubljenog i ovalnog oblika. Njihova funkcija je ista kao i kod drugih životinja, da transportuje kiseonik uz pomoć hemoglobina (Allender i Fry, 2008).

Trombociti žabe funkcionalni su ekvivalent onima kod sisara, ali se njihova morfologija razlikuje – elipsoidna, ponekad veoma izdužena ćelija sa jezgrom suprotstavlja se onima prisutnim u razvijenijim oblicima života (Allender i Fry, 2008).

Za razliku od njih, morfologija i funkcija leukocita prate obrazac koji se vidi kod drugih životinja. Limfociti imaju veće dimenzije nego obično kada je žaba zaražena ili povrijeđena (Allender i Fry, 2008). Oni su najdominantniji tip leukocita kod vodozemaca, slijede neutrofili, bazofili i na kraju monociti (Davis i sar., 2009).

Postoje razlike u eritropoezi kod juvenilnih i adultnih krastača. Primarno mjesto eritropoeze kod punoglavca jeste u jetri i bubrezima, dok se kod odraslih jedinki eritropoeza odvija u slezeni, jetri i koštanoj srži. Molekula hemoglobina prisutna kod juvenilnih jedinki razlikuje se od hemoglobina sintetiziranog u organizmu odraslih (Allender i Fry, 2008).

Poznavanje hematološkog obrasca može pomoći da se poboljša upotreba žaba kao bioindikatora degradacije životne sredine (Lilian i sar., 2022).

MATERIJAL I METODE

U ovom radu analizirani su razmazi krvi 30 odraslih jedinki obične krastače, oba spola. Sa svakog lokaliteta analizirano je po 15 jedinki koje su bile približno jednake veličine i težine, te spolno zrele. Prikupljanje uzorka provedeno je tokom mjeseca avgusta 2021. godine, a jedinke su uzete sa dva različite lokaliteta. Prvi lokalitet jeste jezero na površinskom kopu Dubrave (44° 50' 55" N, 18° 71' 54" E), a drugi lokalitet je potok Mednica u Babicama Donjim u blizini jezera Modrac (44° 48' 79" N, 18°43' 07"E).

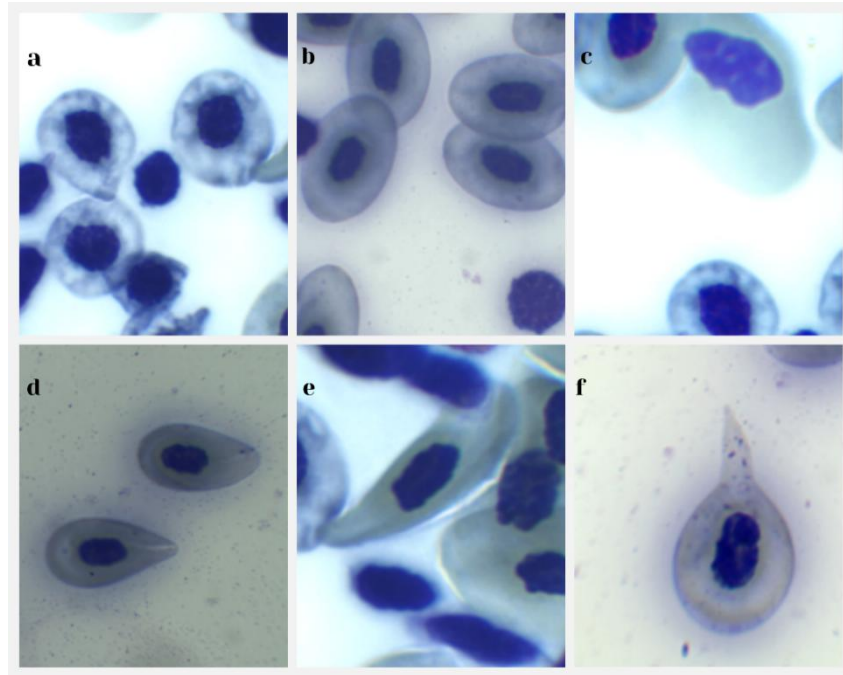
Hvatanje jedinki provedeno je improviziranom mrežom. Jedinke su potom prenesene u laboratoriju, te anestetizirane pomoću otopine etera, nakon čega im je uzorkovana krv. Krv žaba uzeta je punkcijom iz srca, te su napravljeni razmazi diferencijalne krvne slike.

Dobro osušeni krvni razmazi držali su se u May-Grünwald koncentrovanoj otopini sedam minuta, nakon čega su isprani destilovanom vodom i držani u otopini Giemse dvanaest minuta. Otopina Giemse napravljena je od dva dijela vode i jednog dijela koncentrovane otopine Giemse. Nakon toga izvršilo se ispiranje destilovanom vodom i sušenje. Preparati krvi mikroskopirani su uz pomoć Motic RED223 mikroskopa, a slike su dobivene pomoću Optika Microscopes B Series kamere, te pripadajućeg softverskog programa Optika Vision Pro. Statistička obrada podataka urađena je u programskom paketu Statistica.

REZULTATI I DISKUSIJA

Morfologija krvnih ćelija

Crvene krvne ćelije bile su daleko najzastupljenije, te su imale istu ili sličnu morfologiju u većini slučajeva – elipsoidna forma ćelije, sa svijetlo do srednje tamno plavom citoplazmom u koju je centralno postavljeno tamno ljubičasto ili plavo jedro nepravilnih ivica. Neki eritrociti imali su oblik suze, flaše, a neki oblik vretena ili čak punoglavca (Slika 1).

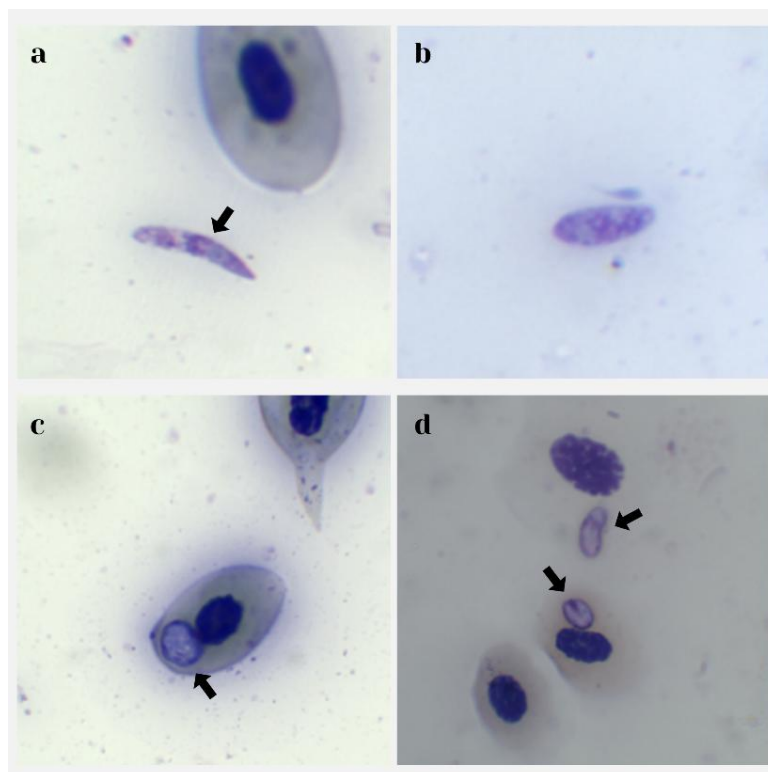


Slika 1. Prikaz eritrocita pronadenih prilikom istraživanja
(a – nezreli eritrociti, b – zreli eritrociti, c – stari eritrocit, d – eritrociti u obliku suze, e – eritrocit u obliku vretena, f – eritrocit u obliku punoglavca)

Osim karakterističnih elipsoidnih oblika, poznato je da vodozemci pokazuju široku varijaciju u pogledu morfologije eritrocita među vrstama (Vernberg, 1955; Kuramoto, 1981; Davis i sar., 2009; Madhusmita i Pravati, 2014). Prosječne zabilježene dimenzije eritrocita jesu 13,40 – 20,70 μm , a postoje izvještaji i o nekim eritrocitima čiji promjer doseže čak i do 70,00 μm . Male, okrugle do nepravilne, bazofilne citoplazmatske inkluzije, slične onim koje se često slučajno nalaze kod gmizavaca, smještene su unutar citoplazme eritrocita vodozemaca i smatraju se normalnim nalazom (Allender i Fry, 2008).

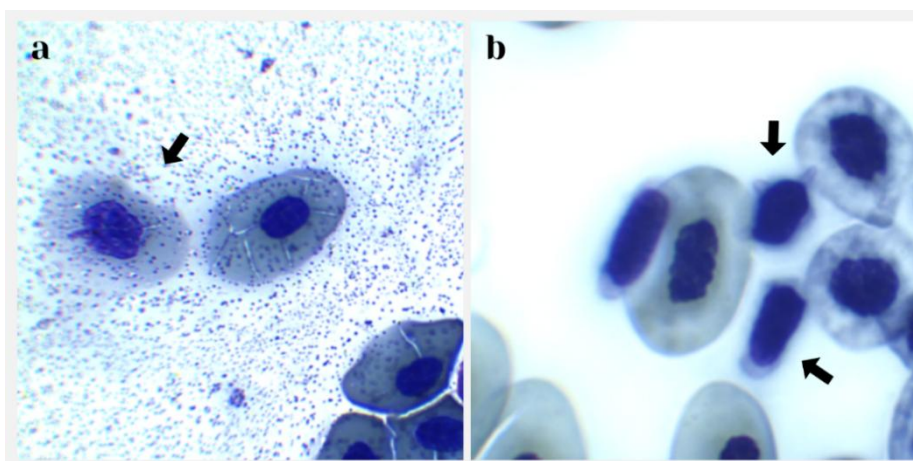
Uočeni su nezreli i stari eritrociti. Nezreli eritrociti zadržavali su okruglasti oblik ćelije, sa centralno postavljenim okruglastim jedrom tamnoplave boje u plavo obojenoj citoplazmi, tamnije od one kod zrelih eritrocita (Slika 1). Retikulociti (nezreli eritrociti) se mogu povremeno smatrati normalnim nalazom kod vodozemaca. Retikulociti su okrugli (manje elipsoidni) i manjih dimenzija od eritrocita (Allender i Fry, 2008)

Za razliku od njih, stari eritrociti imali su mnogo svjetliju plavu ili prozirnu citoplazmu sa nejasnim granicama ćelijske membrane, te jedro svijetlo plave boje čije su ivice sa mnogo manje uvrata, pa tako i manje nepravilnog oblika, po čemu se razlikuje od jedra koje se može primijetiti kod zrelih eritrocita. Pojedini eritrociti u svojoj citoplazmi sadržavali su i intracelularne parazite (Slika 2).



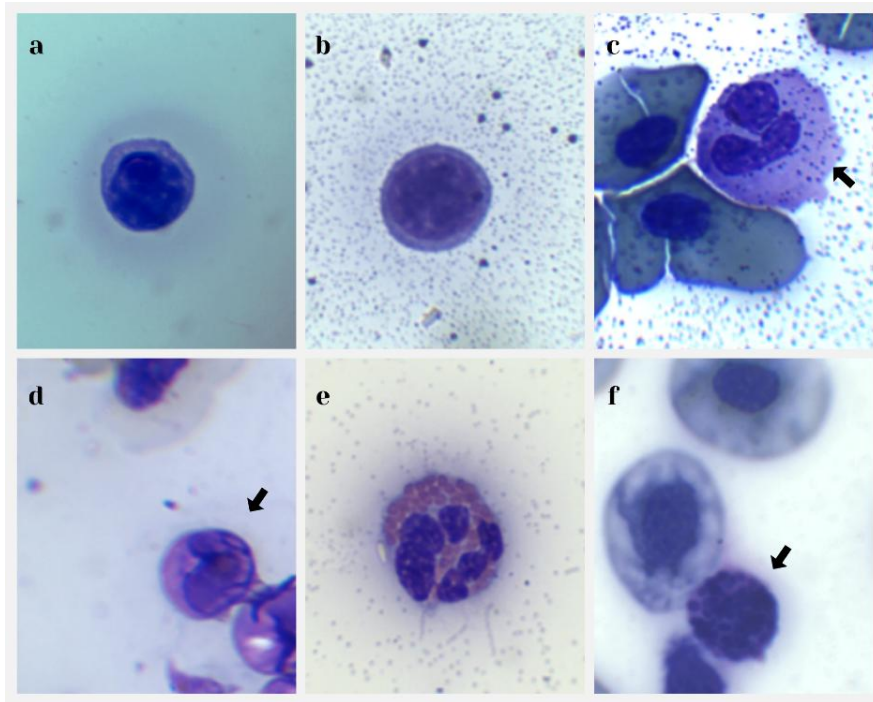
Slika 2. Prikaz parazita pronađenih prilikom istraživanja (a i b – ekstracelularni paraziti, c i d – intracelularni paraziti)

Trombociti koji su pronađeni na krvnim razmazima iz obje populacije krastača imali su obliku ćelije sa okruglastim tamno ljubičastim ili plavim jedrom i malo citoplazme koja ga okružuje. Uglavnom su pronalazeni u grupacijama pored velikih skupina eritrocita (Slika 3). Trombociti u sličnim istraživanjima bili su dugi i ovalnog oblika s velikim i ovoidnim jezgrama, postavljeni u nakupinama (Arserim i Mermer, 2008; Madhusmita i Pravati, 2014).



Slika 3. Prikaz trombocita pronađenih prilikom istraživanja (a – nezreli trombocit, b – zreli trombociti)

Utvrđeni su svi oblici leukocita (Slika 4): agranulociti (limfociti i monociti) te granulociti (eozinofilni, bazofilni i neutrofilni granulociti).



Slika 4. Prikaz leukocita pronađenih prilikom istraživanja
(a – mali limfocit, b – veliki limfocit, c – neutrofil, d – monocit, e – eozinofil, f – bazofil)

Mogli su se razlikovati limfociti velikih i malih dimenzija. Morfologija limfocita kod *Bufo bufo* pratila je onu opštu morfologiju limfocita pronađenih kod drugih vrsta žaba, vodozemaca i kičmenjaka uopšteno. Okruglastog su oblika sa velikim okruglim, nesegmentiranim jedrom obojenim tamno plavom bojom, oko kojeg se nalazi jako tanak sloj citoplazme svjetlije plave boje. Morfologija limfocita vodozemaca slična je morfologiji limfocita drugih kičmenjaka (Madhusmita i Pravati, 2014). Oni su dominantna vrsta leukocita kod većine vodozemaca, pa tako i kod krastača. Mali limfociti mogu se pogrešno identificirati kao trombociti i obratno. Također, kontaminacija uzorka krvi limfom na terenu može dovesti do netačne interpretacije limfocitoze prilikom rada u laboratoriji (Cathers i sar., 1997; Allender i Fry, 2008).

Monociti koji su kao i limfociti imali okruglasti oblik ćelije. Njihova citoplazma zauzima nešto veći udio ćelije, a boja joj je slična onoj kod limfocita. Jedro monocita ima bubrežasti oblik i tamno plavu obojenost, ali nije segmentirano. Slična morfologija monocita utvrđena je i kod vrste *Polypedates teraiensis* (Madhusmita i Pravati, 2014). Neki istraživači su u svojim radovima opisali postojanje azurofila uz ili umjesto monocita u krvi vodozemaca (Allender i Fry, 2008)

Od granulocita najbrojniji su bili neutrofili. To su velike okruglaste ćelije sa tamnim segmentiranim, najčešće na tri lobusa, jedrom, koje je okruženo svjetlijom citoplazmom. Generalno se pretpostavlja da je funkcija granulocita vodozemaca slična funkciji ćelija sa sličnom morfologijom drugih kičmenjaka (Allender i Fry, 2008).

Ćelije eozinofila slične su veličine kao ćelije neutrofila, posjeduju prozirnu do bijelu citoplazmu koja je ispunjena velikim brojem intenzivno roze obojenim granulama. Jedro eozinofila ljubičasto je i segmentirano na više lobusa, 2, 3 ili 4, a najčešće je pozicionirano

ekscentrično, uz ćelijsku membranu. Segmentirane jezgre konstatovane su i kod eozinofila vrste *Polypedates teraiensis* (Madhusmita i Pravati, 2014).

Bazofili imaju nepravilno, nekada segmentirano na više lobusa jedro, tamne ljubičaste ili plave boje. Unutrašnjost ćelije bazofila, koju je jako teško vidjeti, sadrži brojne tamno plave granule. Bazofili kod vrste *Polypedates teraiensis* okrugle su stanice sa velikim tamnoljubičasto obojenim granulama preko nepravilnih jezgri kao i cijele stanice (Madhusmita i Pravati, 2014).

Istraživanja morfologije krvnih ćelija rađena su i na vrsti *Rana rugulosa* (Xianxian i sar., 2022), gdje je konstatovano da nije utvrđena statistički značajna razlika u veličini eritrocita između spolova, međutim veličina jedra eritrocita mužjaka značajno je veća od istih kod ženki. Kod pomenute vrste konstatovano je da su među granulocitima najmanji bili bazofili dok su najveći bili neutrofili.

Madhusmita i Pravati (2012) istraživali su oblike i forme krvnih ćelija tokom razvoja punoglavaca vrste *Polypedates teraiensis*, gdje je utvrđena određena korelacija u morfolometrijskim promjena tokom različitih stadija razvoja ove vrste. Navedena istraživanja predstavljaju početke istraživanja hematologije punoglavaca.

Zastupljenost pojedinih formi leukocita

Zastupljenost pojedinih formi leukocita na istraživanim lokalitetima predstavljena je tabelarno (Tabela 1 i 2). Na oba lokaliteta utvrđene su sve forme leukocita kod istraživane vrste.

Tabela 1. Zastupljenost pojedinih tipova leukocita na lokalitetu Babice Donje (u %)

	Srednja vrijednost	Minimum	Maksimum	SD
Limfociti	54,867	50	61	3,270
Neutrofili	22,067	19	26	2,251
Monociti	2,600	0	7	2,131
Eozinofili	19,600	10	28	4,611
Bazofili	0,867	0	2	0,834

Tabela 2. Zastupljenost pojedinih tipova leukocita na lokalitetu Kop Dubrave (u %)

	Srednja vrijednost	Minimum	Maksimum	SD
Limfociti	57,133	49	98	11,753
Neutrofili	20,133	1	26	5,743
Monociti	11,267	0	17	5,405
Eozinofili	6,467	1	13	2,642
Bazofili	5,000	0	19	6,990

Analiza varijanse (ANOVA) u zastupljenosti limfocita nije pokazala značajnije razlike između posmatranih populacija ($F=0,51786$, $p=0,477722$), kao i neutrofila ($F=1,47359$, $p=0,23492$). Međutim, ustanovljena je značajna varijacija u zastupljenosti bazofila ($F=5,17163$, $p=0,03082$), monocita ($F=33,38036$, $p<0,00001$) i eozinofila ($F=91,62327$, $p<0,00001$).

Podaci iz literature o diferencijalnoj krvnoj slici vrste *Bufo bufo* nisu nađeni. Utvrđeni rezultati upoređeni su sa drugim vrstama žaba iz ovog, ali i drugih rodova (Tabela 3).

Tabela 3. Pregled istraživanja diferencijalne krvne slike žaba

Vrsta	N	L (%)	N (%)	M (%)	E (%)	B (%)	Izvor
<i>Bufo bufo</i>	30	56,0	21,1	6,9	13,0	2,9	Naši rezultati
<i>Bufo arenarum</i>	12	60,9	27,3	1,7	3,7	3,8	(Chiesa i sar., 2006)
<i>Bufo arenarum</i>	24	64,0	20,9	1,3	13,7	0,0	(Cabagna i sar., 2005)
<i>Bufo americanus</i>	27	20,0	68,0	1,5	3,3	7,4	(Forbes i sar., 2006)
<i>Bufo alvarius</i>	*	37,0	48,0	5,0	9,0	1,0	(Cannon i Cannon, 1979)
<i>Bufo fowleri</i>	6	72,3	8,5	0,8	8,5	9,8	(Davis i Maerz, 2009)
<i>Bombina bombina</i>	31	51,6	25,0	12,6	3,9	7,6	(Wojtaszek i Adamowicz, 2003)
<i>Rana catesbeiana</i>	14	62,9	22,0	0,6	8,9	2,5	(Cathers i sar., 1997)
<i>Rana catesbeiana</i>	302	26,8	60,9	2,9	5,8	3,5	(Coppo i sar., 2005)
<i>Rana catesbeiana</i> **	40	73,0	23,8	0,3	3,6	2,3	(Davis i Maerz, 2009)
<i>Rana pipiens</i>	50	53,4	26,5	11,0	7,3	4,4	(Rouf, 1969)
<i>Rana pipiens</i>	18	55,4	11,3	4,1	10,1	19,2	(Maniero i Carey, 1997)
<i>Rana pipiens</i>	14	25,4	61,8	5,2	7,0	1,8	(Bennett i Alspaugh, 1964)
<i>Rana esculenta</i>	136	57,6	15,2	0,5	14,4	12,4	(Romanova i Romanova, 2003)
<i>Rana clamitans</i>	35	66,0	16,0	1,0	17,0	1,0	(Shutler i sar., 2009)
<i>Acris c.crepitans</i>	79	68,3	22,4	2,7	1,6	5,0	(Davis i Durso, 2009)
<i>Xaenopus laevis</i>	10	30,1	26,5	1,6	1,2	40,5	(Hadji – Azimi i sar., 1987)
<i>Glyphoglossus molossus</i>	18	41,6	26,3	22,7	1,1	8,3	(Ponsen i sar., 2008)

N – broj jedinki, L – limfociti, N – neutrofilni, M – monociti, E – eozinofili, B – bazofili, * nepoznat broj jedinki, ** juvenilne forme.

Srednje vrijednosti učestalosti leukocita posebno su podložne variranju, što se može vidjeti u podacima prikazanim u tabeli 3. Razlog za ovu povećanu varijabilnost može se pripisati raznim faktorima. Jedan od njih mogao bi biti veliki uticaj hormona stresa (glukokortikoida) na leukocite koji se nalaze u krvi vodozemaca, što znači da ako je žaba izložena stresu prije ili tokom uzimanja uzorka krvi, dolazi do poremećaja frekvencije različitih tipova leukocita. Sa prilivom glukokortikoida dolazi do porasta broja prisutnih neutrofila u krvi, koji se povlače iz rezervi u koštanoj srži. Može se očekivati i smanjenje broja limfocita koji se nalaze na brisevima krvi jer se ova bijela krvna zrnca drže za endotelne ćelije krvnih sudova kada je krastača pod stresom (Bennett i Alspaugh, 1964; Davis i Durso, 2009). Međutim, dodatna literatura pokazuje da odnos limfocita i neutrofila ne mora da ukazuje na

stres neposredno prije ili tokom uzimanja uzoraka krvi, ali može biti važan znak postojećih stresora ili poremećenih uslova života u staništu vrste (Davis i sar., 2009).

Povećanje zastupljenost eozinofila u krvi i smanjene frekvencije bazofila može se povezati sa prisustvom parazita u uzorcima krvi. Neophodno je sprovesti detaljna istraživanja o parazitima krvi vodozemaca i tek onda ukazati na njihov uticaj u pogledu zastupljenosti pojedinih formi leukocita u krvi. Varijante frekvencije bazofila ne mogu se objasniti samo gore navedenim elementima, već i potencijalnom virusnom infekcijom (Forzan i sar., 2017).

ZAKLJUČAK

Ovaj rad ukazuje na važnost postojanja kompletnog ili što opširnijeg registra podataka o biologiji svih vrsta koje nas okružuju, pa tako i vrste *Bufo bufo*. Mnogi unutrašnji i spoljašnji elementi za koje su potrebna opsežna istraživanja, uključujući hematologiju i upravo hematološke parametre taksona, mogu uticati na bilo koji aspekt biologije vrste i dovesti do promjena u njenoj otpornosti, prilagodljivosti, brojnosti i na kraju do ugroženosti. Hematološki parametri jasan su pokazatelj promjena u životnoj sredini, tako da bi ovakva i slična istraživanja trebalo intenzivirati, posebno uzimajući u obzir činjenicu da podataka o hematologiji istraživane vrste skoro i nema. Preporučujemo da se buduća istraživanja fokusiraju na uticaj potencijalnih stresora u stvaranju različitih hematoloških parametara kod žaba.

LITERATURA

- Allender, M. C. i Fry, M. M. (2008). Amphibian Hematology. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice*, 11(3), 463–480. doi: 10.1016/j.cvex.2008.03.006
- Arserim, S. i Mermer, A. (2008). Hematology of the Uludağ frog, *Rana macrocnemis* Boulenger, 1885 in Uludağ National park (Bursa, Turkey). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 25(1), 39–46.
- Bennett, M. F. i Alspaugh, J. K. (1964). Some changes in the blood of frogs following administration of hydrocortisone. *The Virginia Journal of Science*, 15, 76–79.
- Cabagna, M. C., Lajmanovich, R. C., Gtringhini, G. S., Sanchez-Hernandez, J. C. i Peltzer, P. M. (2005). Hematological parameters of health status in the common toad *Bufo arenarum* in agroecosystems of Santa Fe Province, Argentina. *Applied Herpetology*, 2(4), 373–380. doi:10.1163/157075405774483085
- Cannon, M. S. i Cannon, A. M. (1979). The Blood Leukocytes of *Bufo alvarius*: A Light, Phase-Contrast, And Histochemical Study. *Canadian Journal of Zoology*, 57(2), 314–322. doi: 10.1139/z79-035
- Cathers, T., Lewbart, G. A. i Correa, M. (1997). Serum Chemistry and Hematology Values for Anesthetized American Bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Journal of zoo and wildlife medicine: official publication of the American Association of Zoo Veterinarians*, 28(2), 171-174. doi:10.22201/fmvz.24486760e.2020.1.747
- Chiesa, M. E., Rosenberg, C. E., Ink, N. i Salibian, A. (2006). Serum Protein Profile And Blood Cell Counts In Adult Toads *Bufo arenarum* (Amphibia: Anura: Bufonidae):

- Effects of sublethal Lead Acetate. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50(3), 384–391. doi: 10.1007/s00244-004-0252-4
- Clarke, R. D. (1974). Food Habits of Toads, Genus *Bufo* (Amphibia: Bufonidae). *The American Midland Naturalist*, 91(1), 140–147. doi: 10.2307/2424517
- Coppo, J. A., Mussart, N. B., Fioranelli, S. i Zeinsteger, P. (2005). Blood and Urine Physiological Values in Captive Bullfrog, *Rana catesbeiana* (Anura: Ranidae). *Analecta Veterinaria*, 25 (1), 15–17. doi: 10.15517/rbt.v53i3-4.14669
- Davis, A. K. i Durso, A. M. (2009). White Blood Cell Differentials of Northern Cricket Frogs (*Acris c. crepitans*) with a Compilation of Published Values from Other Amphibians. *Herpetologica*, 65(3), 260–267. doi:10.1655/08-052R1.1
- Davis, A. K. i Maerz, J. C. (2009). Effects of larval density on hematological stress indices in salamanders. *Journal of Experimental Zoology. Part A. Online early*. 311(9), 697–704. doi: 10.1002/jez.557
- Davis, A., Milanovich, J., DeVore, J., Maerz, J. (2009). An investigation of factors influencing erythrocyte morphology of red-backed salamanders (*Plethodon cinereus*). *Animal Biology*, 59(2), 201–209. doi: 10.1163/157075609X437718
- Forbes, M. R., Mrcuer, D. L. i Shutler, D. (2006). White Blood Cell Profiles Of Breeding American Toads (*Bufo americanus*) Relative to Sex and Body Size. *Comparative Clinical Pathology*, 15, 155–159. doi: 10.1007/s00580-006-0623-5
- Forzán, M. J., Heatley, J., Russell, K. E. i Horney, B. (2017). Clinical pathology of amphibians: a review. *Veterinary clinical pathology*, 46, 11–33. doi: 10.1111/vcp.12452
- Hadji - Azimi, I., Coosemans, V. i Canicatti, C. (1987). Atlas of *Xenopus laevis laevis* Hematology, *Developmental and comparative immunology*, 11(4): 807-874. doi: 10.1016/0145-305x(87)90068-1
- Kuramoto, M. (1981). Relationships between number, size and shape of red blood cells in amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 69(4), 771–775. doi: 10.1016/0300-9629(81)90170-5
- Lilian, F. B., Diogo, P. B, Taynara, R. F., Mayara, S. S, Bruno, S. L., Brenda, O. M, Classius, D. O. i Carlos, E. (2022). Hematological parameters of a Neotropical wild frog population, with a phylogenetic perspective on blood cell composition in Anura. *Current Zoology*, 68(3), 361–369. doi:10.1093/cz/zoab059
- Madhusmita, D. i Pravati K. M. (2012). Blood cells Profiles of the Tadpoles of the Dubois's Tree Frog, *Polypedates teraiensis* Dubois, 1986 (Anura). *The Scientific World Journal*, 2012(4), 701746. doi:10.1100/2012/701746
- Madhusmita, D. i Pravati K. M. (2014). Hematology of Wild Caught Dubois's Tree Frog *Polypedates teraiensis*, Dubois, 1986 (Anura: Rhacophoridae). *Scientific World Journal*, 2014(3), 491415. doi: 10.1155/2014/491415
- Maniero, G. D. i Carey, C. (1997). Changes in Selected Aspects of Immune Function in the Leopard Frog, *Rana pipiens*, associated with Exposure to Cold. *Journal of Comparative Physiology B*, 167(4), 256-263. doi: 10.1007/s003600050072
- Ponsen, S., Narkkong, N. A., Amok, S. P., Appaso, K. S. i Aengwanich, W. (2008). Hematological Values and Morphological Observation of Blood Cells in Balloon Frog,

- Glyphoglossus molossus*. *Journal of Microscopy Society of Thailand* 22, 71–75. doi: 10.7717/peerj.13915
- Romanova, E. B. i Romanova, O. Y. (2003). Peculiarities of Leukocytic Formula of Peripheral Blood Of Green Frogs Under Conditions Of Anthropogenic Load. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 39, 480–484. doi:10.1023/B:JOEY.0000010246.27310.85
- Rouf, M. A. (1969). Hematology of the Leopard Frog, *Rana pipiens*. *Copeia*, 1969(4), 682–687. doi.org/10.2307/1441793
- Shutler, D. T., Smith, T. G. i Robinson, S. R. (2009). Relationships between Leukocytes and *Hepatozon spp.* In Green Frogs, *Rana clamitans*. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(1), 67–72. doi: 10.7589/0090-3558-45.1.67
- Vernberg, F. (1955). Hematological studies on salamanders in relation to ecology. *Herpetologica*, 1955(11), 129–133.
- Vörös, J. (2016). Conservation Needs Assessment for *Bufo bufo*, Hungary. Preuzeto sa: <https://www.conservationneeds.org/Assessment/AssessmentResults?speciesId=2614&countryId=173&assessmentId=3957>
- Wilkinson, J.W. i Buckley, J. (2012). Amphibian Conservation in Britain. *FrogLog*, 101, 12–13.
- Wojtaszek, J. i Adamowicz, A. (2003). Hematology Of The Fire-Bellied Toad, *Bombina bombina* L. *Comparative Clinical Pathology*, 12(3), 129–134 doi: 10.1007/s00580-003-0482-2
- Xianxian, C., Yu, W., Lixin, H., Xue, C., Misbah, H., Fei, P., Xiaobing, W. i Shengzhou, Z. (2022). Morphology and cytochemical patterns of peripheral blood cells of tiger frogs (*Rana rugulosa*). *PeerJ*, 2022(10), e13915. doi: 10.7717/peerj.13915

Primljeno 24.10.2022.

Prihvaćeno 22.12.2022.