Journal of Nature, Life and Applied Sciences
Volume (6), Issue (1): 30 Mar 2022
P: 25 - 35

AJSRP
ISSN: 2522-3356

مجلة العلوم الطبيعية والحياتية والتطبيقية
المجلد (6)، العدد (1): 30 مارس 2022م
ص: 25 - 35

Modification of preparing the blood diluting solution method and studying the blood cell counts of some Syrian Reptiles and Amphibians using the modified method

Hassan Nabih Mhanna

Nahla Ibrahim

Faculty of Science || Tishreen University || Syria

Aroub Al-Masri

National Commission for Biotechnology || Syria

Abstract: The study aimed to test the validity of the results of the modified blood diluted solution by Natt-Herrick method in order to study the complete blood count of different blood cells in two species of amphibians (*Pseudepidalea viridis, Hyla savignyi)* in addition to five species of reptiles (*Testudo graeca, Chamaeleo chamaeleon recticrista, Ophisops elegans, Lacerta media, Phoenicolacerta laevis*) by replacing methyl violet 2B dye included in its composition with methyl violet 10B , where our results were compared with the values of previous studies, there is no any significant differences between the modifying methods compare with the others references using the original methods as the results were within or close to normal limits, and thus this method can be approved.According to the values obtained in this paper, the highest number of red and white blood cells was in *L. media*, the lowest number of red blood cells was in *T. graeca*, and the lowest number of white blood cells was in *O. elegans*.

Keywords: Natt-Herrick method, Erythrocytes, Leukocytes, blood count, Reptiles, Amphibians.

تعديل طريقة تحضير المحلول المخفف للدم ودراسة تعداد الخلايا الدموية عند بعض أنواع الزواحف والبرمائيات السورية بالطريقة المعدلة

حسان نبيه مهنا

نهلة ابراهيم

كلية العلوم || جامعة تشرين || سورية

عروب المصري

الهيئة العامة للتقانة الحيوية || سورية

المستخلص: هدفت الدراسة إلى اختبار صحة نتائج المحلول المخفف للدم المعدل عن طريقة Natt-Herrick من أجل دراسة التعداد العام لخلايا الدم المختلفة وذلك عند نوعين من البرمائيات (Pseudepidalea viridis, Hyla savignyi) وبالإضافة إلى خمسة أنواع من الزواحف (Testudo graeca, Chamaeleo chamaeleon recticrista, Ophisops elegans, Lacerta media, Phoenicolacerta laevis) وذلك باستبدال صبغة بنفسجي الميتيل 2B الداخلة في تركيبه بصبغة بنفسجي الميتيل 10B، حيث تمت مقارنة نتائجنا مع قيم الدراسات السابقة لم نلاحظ وجود أي تغير ات كبيرة وكانت النتائج ضمن الحدود الطبيعية أو قريبة منها، وبذلك يمكن اعتماد هذه الطريقة، أما

بالنسبة للقيم التي حصلنا عليها كان أعلى عدد للكريات الحمر والبيض في L. media، أقل عدد لكريات الدم الحمر في T. graeca،وأقل عدد للكريات البيض في O. elegans.

الكلمات المفتاحية: طريقة نات-هيريك، تعداد الدم، كريات الدم الحمر، كريات الدم البيض، الزواحف، البرمائيات.

المقدمة.

تتعرض البرمائيات والزواحف لأعلى حالة تهديد بين جميع الفقاريات الأرضية، مع وجود أنواع أكثر عرضة للخطر من الطيور والثدييات، كما أنها تؤدي دوراً هاماً في التوازن البيئي وتسعى معظم دول العالم للحفاظ عليها من الانقراض وذلك بدراستها لمعرفة سلوكها وتحديد المخاطر التي قد تلحق بمواطنها. الزواحف فقاريات ذات دم بارد يمثلها حوالي 10,793 نوعاً. ولا يزال يكتشف الكثير من الانواع سنوياً[1]. وتزخر سورية بحياة حيوانية برية غنية ومتنوعة بالنظر إلى التنوع الواسع في موائلها، تضم الزواحف بحسب الدراسة الوطنية 127 نوع، منها 31 نوع مهدد بالانقراض وتضم البرمائيات 16 نوع ويعد الكثير منها مهدد بالانقراض [2].

يتم استخدام تقنيات التحاليل الدموية مع العديد من أنواع الحياة البرية، وخاصة بالنسبة للكائنات المهددة بالانقراض، وتساعد على الإشارة إلى صحة النظام البيئي، حيث تختلف قيم النتائج الدموية عند وجود تغييرات في النظام البيئي مثل التلوث النفطي [3]. يستند الكثير من معرفتنا فيما يتعلق بالدم عند الفقاريات وخلايا الدم إلى مراجع الثدييات ودراسات دم الفقاريات غير الثديية والتي تعتبر جديدة نسبياً[4]. تشكل الزواحف والبرمائيات مجموعة غير متجانسة بين الفقاريات فيما يتعلق بخلايا الدم وتظهر اختلافات جديرة بالملاحظة بين الرتب وحتى داخل أفراد نفس الفصيلة [5][6][7][8].

أهداف البحث

يهدف البحث إلى الآتي:

1. اختبار محلول جديد MNHفي تلوين خلايا الدم بسبب عدم توفر المحلول المرجعي Natt-Herrick في ظروف الحرب.
2. تحديد عدد كريات الدم الحمر والبيض عند خمسة أنواع من الزواحف ونوعين من البرمائيات.

أهمية البحث:

تأتي أهمية البحث في كونه الأول لدراسة تعداد الكريات الحمر والبيض لبعض أنواع الزواحف والبرمائيات في سوريا، بالإضافة إلى أن بعض الأنواع تدرس لأول مرة عالمياً، واستخدام محلول مخفف للدم بطريقة جديدة وذلك لعدم توفر المواد المعتمدة بسبب الحرب في سوريا.

المواد وطرائق العمل:

عينات الدراسة:

تم جمع العينات من المنطقة الساحلية السورية خلال عامين (2020-2021 م)، وتم باستخدام طرق الصيد البسيطة اليد أو عن طريق شباك توضع بين الشجيرات أو عن طريق شبكة سين أو مصائد وفخاخ.

الجدول (1): عدد العينات التي تمت دراستها.

النوع	عدد العينات
Hyla savignyi	2
Pseudepidalea viridis	2
Phoenicolacerta laevis	5
Ophisops elegans	5
Lacerta media	3
Testudo graeca	2
Chamaeleo chameleon recticrista	1

طرائق سحب الدم من العينات:

في الزواحف والبرمائيات، هناك ثلاثة مجالات لجمع الدم عن طريق الأنابيب الشعرية الزجاجية التي تحتوي على الهيبارين، وهي الوريد الذيلي والجيوب الأنفية والقلب [5] [9] [10]. ويفضل استخدام الهيبارين كمضاد للتخثر في الزواحف نظراً لأن التقارير تشير إلى أن حامض الإيثيلين دي أمينيترايتيك (EDTA) يسبب انحلال الدم خاصة في السلاحف[11].

الشكل(1) صورة توضح كيفية سحب الدم من الوريد الذيلي عند *Testudo graeca*

طريقة تحضير المحلول المخفف للدم:

قمنا بتعديل طريقة تحضير محلول Natt-Herrick [12]. وذلك باستبدال صبغة بنفسجي الميتيل 2b بصبغة بنفسجي الميتيل 10b، واستبدال فوسفات الصوديوم المائية $Na_2HPO_4 - 12H_2O$ بفوسفات الصوديوم Na_2HPO_4 عن طريق حساب وزن جزيئات الماء وطرحه من الوزن الأساسي.

ويتكون المحلول من الاتي:

جدول (2) يوضح المواد التي تم استخدامها في إعداد محلول تخفيف الدم من أجل دراسات تعداد كريات الدم.

المركب الكيميائي	الوزن أو الكمية
كلوريد الصوديومNaCl	3.88 g
كبريتات الصوديوم Na_2So_4	2.50 g
فوسفات الصوديوم Na_2HPo4	1.154 g
فوسفات البوتاسيوم KH_2Po_4	0.25 g
فورمول %37 CH2O	7.50 ml
بنفسجي الميتيل 10b $C_{25}H_{30}CLN_3$	0.10 g

يتم إذابة المواد الكيميائية المذكورة أعلاه في ليتر من الماء المقطر بالترتيب المحدد، في دورق حجمي ويوضع لمدة يوم كامل في الظلام ثم يتم ترشيح المحلول من خلال ورق الترشيح الناعم (Whatman No.2)، ويكون جاهز للاستخدام الفوري، وتكون قيمة الـ 7.3 = pH.

طريقة تمديد الدم من أجل دراسة تعداد خلايا الدم المحيطية:

نسحب الدم في الممص الخاص بتعداد كريات الدم الحمراء حتى الرقم 0.5، يغمس بعدها الممص في محلول التخفيف ويملأ حتى الرقم 101 وتكون نسبة تخفيف الدم 1:200، يمزج الدم مع محلول الدم جيداً لعدة دقائق عن طريق هز الممص، ويتم التخلص من عدة قطرات برميها خارجاً لاستبعاد محلول التمديد الموجود في ساق الممص وغير الممزوج مع الدم بشكل جيد.

يتم التأكد من نظافة شريحة نيوباور والساترة الزجاجية، وتوضع الساترة على الشريحة وتضغط بقوة متوسطة باستخدام الإبهامين وتحرك قليلاً حتى يتم التصاق الساترة بشريحة العد، يقرب طرف الممص من مكان التصاق الساترة مع الشريحة لتسيل كمية من المحلول تحت الساترة، الانتظار دقيقتين من أجل استقرار المحلول على الشريحة.

طريقة حساب عدد الخلايا:

1- حساب عدد الكريات الحمر نقوم بحساب المتوسط في خمس مربعات من المربع المركزي، ويشير المتوسط إلى عدد الكريات الحمر الموجودة في (250/1) ملم^3 من الدم المخفف، ثم نقوم بحساب X وهي عبارة عن عدد الكريات الحمر الموجودة في (1ملم^3) من الدم المخفف.

حيث X= المتوسط × 250.

يحدد عدد الكريات الحمر في (1) ملم^3، بعد الأخذ بالحسبان تمديد الدم البالغ (200) مرة، ويكون عدد الكريات الحمر في 1ملم^3 بعد التمديد = X × 200.

2- حساب عدد الكريات البيض: يتم حساب عدد الكريات البيض في المربعات الموجودة في زوايا المربع الكبير.

ويكون عدد الخلايا لكل مل من الدم: $\frac{\text{الخلايا المحسوبة} \times \text{عامل التمديد}}{\text{المساحة المحسوبة} \times \text{عمق الشريحة}}$

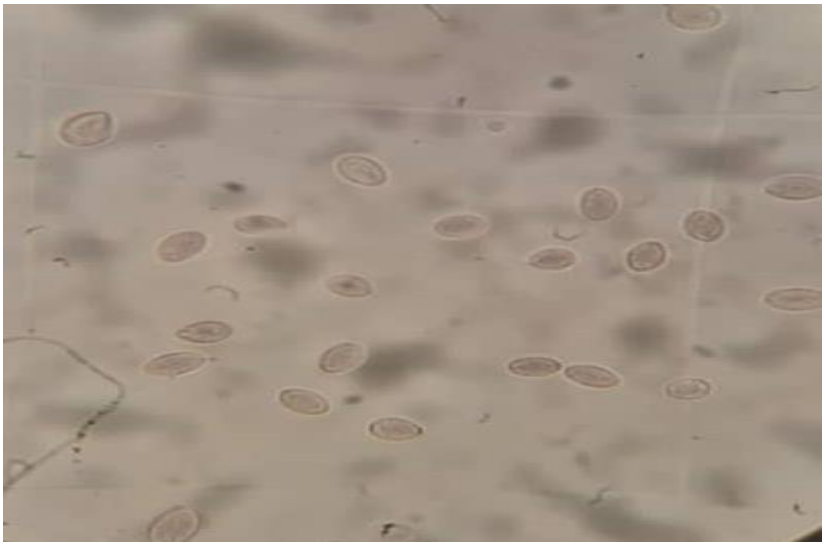
- عامل التمديد 200.
- المساحة المحسوبة: أربع مربعات = 1ملم مربع × 4 = 4 ملم مربع.

- عمق الشريحة = 0.1 ملم.

وتم حساب ثمانية مكررات لكل عينة

عرض النتائج ومناقشتها.

في البداية قمنا بتجريب نوعين من الصبغات وهما Methyl violet 6B وMethyl violet 10B، المحلول الذي كان يحتوي على Methyl violet 6B لم يعطِ أي تلون للخلايا الدموية كما هو موضح في الشكل(2)، وأبدت المحضرات الدموية التي تم أعدادها بـ Methyl violet 10B تلون واضح لكل أنواع الخلايا الدموية، حيث ظهرت نواة الكريات الحمر بلون بنفسجي ويمكن تميزها بسهولة بسبب شكلها البيضوي، أما بالنسبة للكريات البيض اللامحببة كانت السيتوبلازما ذات لون بنفسجي فاتح والنواة بلون بنفسجي داكن، وبالنسبة للكريات البيض المحببة أيضاً تلونت السيتوبلازما باللون البنفسجي الفاتح مع تلون الحبيبات بلون أزرق داكن كما هو موضح في الأشكال(3- 4- 5- 6- 7- 8-9).



الشكل (2) صورة مجهرية تحت المجهر الضوئي تمثل مسحة دم مأخوذة من T. graeca مصبوغة بالمخفف الذي يحوي صبغة Methyl violet 6B ،توضح الصورة عدم تلون الخلايا الدموية بالصبغة(x40)

أما بالنسبة للتعداد العام لكريات الدم الحمر والبيض لكل mm^3 من الدم للأنواع التي تمت دراستها وضعت في الجدول رقم (3).

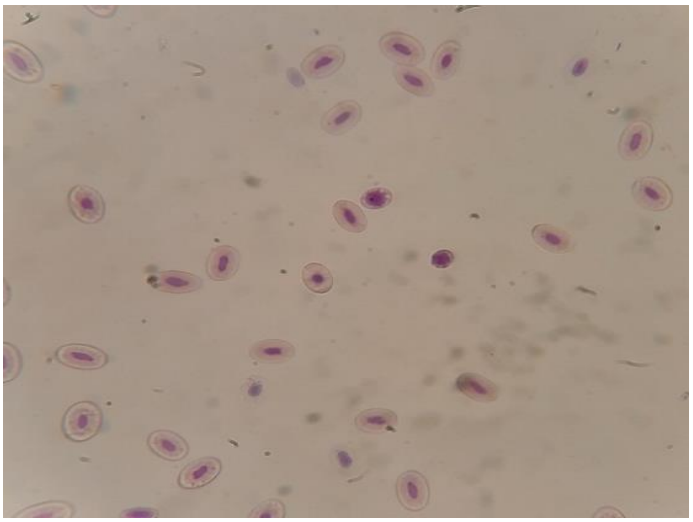
تم العثور على أعلى عدد كريات الدم الحمر والبيض في *L. media*، في حين أن أقل عدد لكريات الدم الحمر وجدت في *T. graeca*، وأقل عدد للكريات البيض في *O. elegans*.

الجدول (3) عدد كريات الدم الحمر والبيض لكل mm^3 من الدم:RBC=عدد الكريات الحمر،WBC = عدد الكريات البيض، n = عدد العينات.

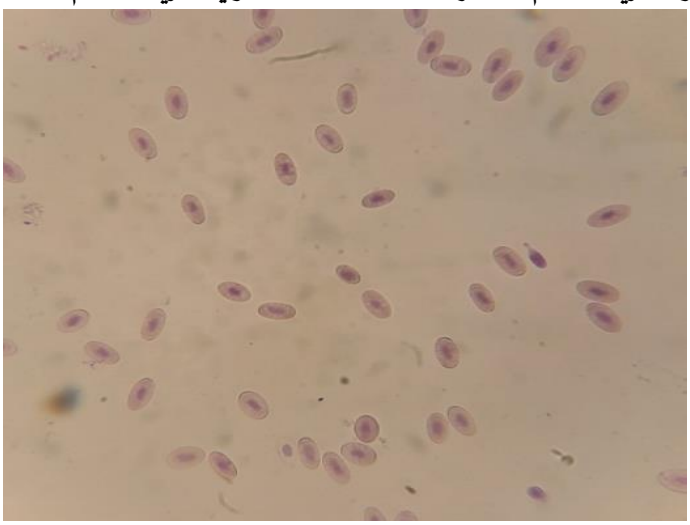
النوع	n	RBC	WBC
H. savignyi	2	640000-925000	4100
P. viridis	2	950000-887500	6450
P. laevis	5	837500-1425000	5950
O. elegans	5	655000-860000	3200
L. media	3	920000-1585000	7510

النوع	n	RBC	WBC
T. graeca	2	610000-585000	4650
C. chameleon	1	725000	6000

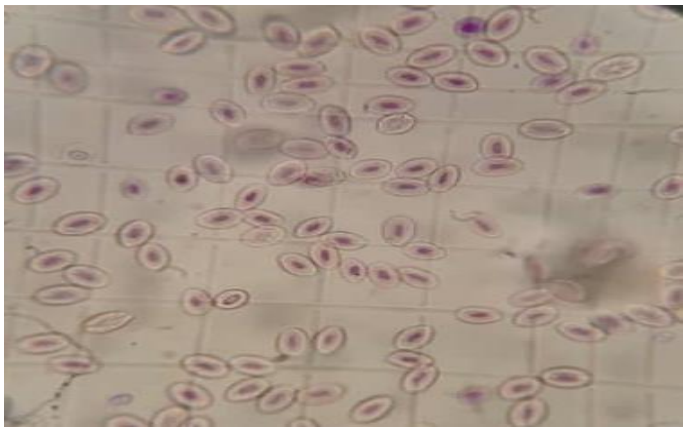
تم حساب المتوسطات لكل من الكريات البيضاء بسبب التقارب الكبير بين أعداد كل منها في العينات التي أخذت من الأنواع، وظهر اختلاف في تعداد الكريات الحمراء ضمن النوع الواحد.



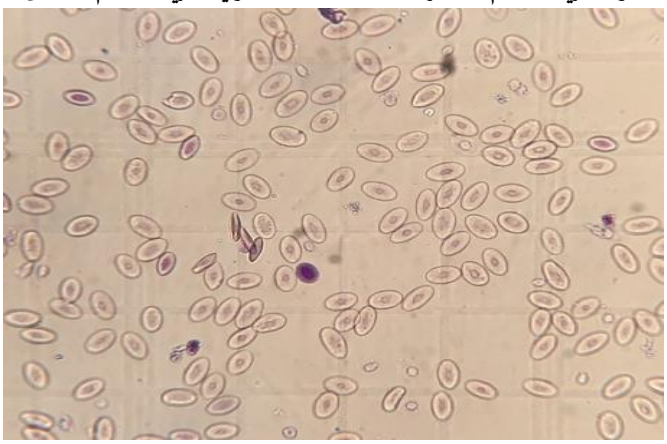
الشكل (3) صورة مجهرية تحت المجهر الضوئي تمثل مسحة دم مأخوذة من *T. graeca* مصبوغة بالمخفف (MNH) الحاوي على الصبغة Methyl violet 10B ،توضح الصورة تلون الخلايا الدموية بالصبغة(x40) ،نلاحظ تلون كريات الدم الحمر ذات الشكل البيضوي وكريات الدم البيض



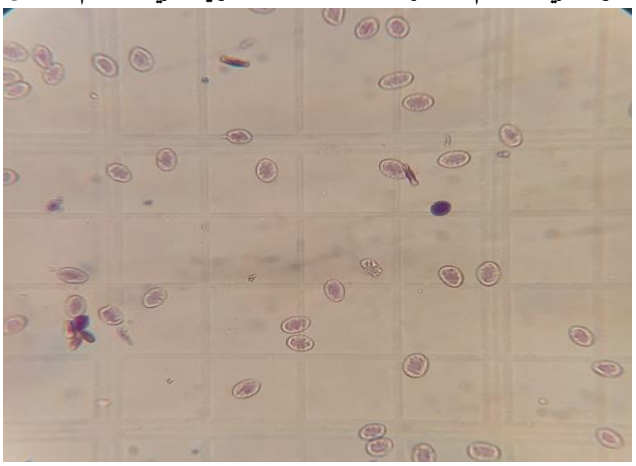
الشكل (4) صورة مجهرية تحت المجهر الضوئي تمثل مسحة دم مأخوذة من *C. chamaeleon* مصبوغة بالمخفف (MNH) الحاوي على الصبغة Methyl violet 10B ،توضح الصورة تلون الخلايا الدموية بالصبغة(x40) ،نلاحظ تلون كريات الدم الحمر ذات الشكل البيضوي وكريات الدم البيض



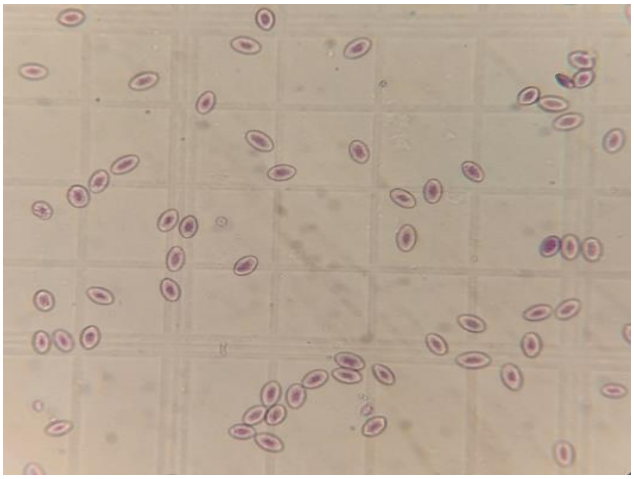
الشكل (5) صورة مجهرية تحت المجهر الضوئي تمثل مسحة دم مأخوذة من *P. viridis* مصبوغة بالمخفف (MNH) الحاوي على الصبغة Methyl violet 10B ،توضح الصورة تلون الخلايا الدموية بالصبغة(x40) ،نلاحظ تلون كريات الدم الحمر ذات الشكل البيضوي وكريات الدم البيض



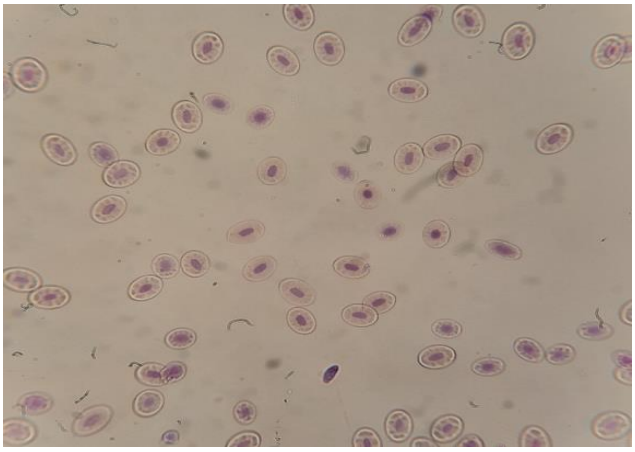
الشكل (6) صورة مجهرية تحت المجهر الضوئي تمثل مسحة دم مأخوذة من *L. media* مصبوغة بالمخفف (MNH) الحاوي على الصبغة Methyl violet 10B ،توضح الصورة تلون الخلايا الدموية بالصبغة(x40) ،نلاحظ تلون كريات الدم الحمر ذات الشكل البيضوي وكريات الدم البيض



الشكل (7) صورة مجهرية تحت المجهر الضوئي تمثل مسحة دم مأخوذة من *O. elegans* مصبوغة بالمخفف (MNH) الحاوي على الصبغة Methyl violet 10B ،توضح الصورة تلون الخلايا الدموية بالصبغة(x40) ،نلاحظ تلون كريات الدم الحمر ذات الشكل البيضوي وكريات الدم البيض



الشكل (8) صورة مجهرية تحت المجهر الضوئي تمثل مسحة دم مأخوذة من *P. laevis* مصبوغة بالمخفف (MNH) الحاوي على الصبغة Methyl violet 10B ،توضح الصورة تلون الخلايا الدموية ،نلاحظ تلون كريات الدم الحمر ذات الشكل البيضوي وكريات الدم البيض بالصبغة(x40)



الشكل (9) صورة مجهرية تحت المجهر الضوئي تمثل مسحة دم مأخوذة من *H. savignyi* مصبوغة بالمخفف (MNH) الحاوي على الصبغة Methyl violet 10B ،توضح الصورة تلون الخلايا الدموية بالصبغة(x40) ،نلاحظ تلون كريات الدم الحمر ذات الشكل البيضوي وكريات الدم البيض

المناقشة:

أظهرت المحضرات الدموية التي تم إعدادها بالمحلول الجديد باستخدام صبغة Methyl violet 10B تلون واضح لكل من النواة والسيتوبلازما وكان من السهل التمييز بين الكريات الحمر والبيض وعد كل منهما في المحضر نفسه، وهذا يتفق مع نتائج المحلول المرجعي [12].

تراوحت أعداد الكريات الحمر720000-1300000 عند *P.viridis* [13]،اما في *C. chamaeleo* كانت أعداد الكريات الحمر 737000 [14]، وتم ذكر ان عدد الكريات الحمر عند *T. graeca* يتراوح من 362000 إلى 730000 حسب العديد من الباحثين[15].

وكانت أعداد الكريات الحمراء والبيضاء التي تم حسابها في دراستنا الحالية متوافقة مع أعداد الكريات عند مختلف الأنواع التابعة لصف الزواحف وضمن الحدود الطبيعية حيث كانت أدنى قيمة سجلت في رتبة الحرشفيات

في النوع *Anguis fragilis* 466,000 mm^3 وأعلى قيمة سجلت في النوع *Lacerta muralis* 2,050,000 mm^3 حسب كل من دراسات [15] [16].

تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة التي تم من خلالها دراسة أعداد الخلايا الدموية عند الزواحف والبرمائيات حيث كانت ضمن الحدود الطبيعية أو قريبة منها وبذلك يمكننا القول أن تغيير نوع الصبغة المستخدمة في محلول Natt-Herrick لم يؤثر على صحة النتائج وبذلك يمكن اعتماد هذا المحلول المخفف للدم لدراسات التعداد العام للخلايا الدموية عند كل من البرمائيات والزواحف بالإضافة إلى الأسماك والطيور لاحتواء كرياتها الحمر على نواة، ويكون الاختلاف فقط بجذر ميتيل CH2 بين محلول Natt-Herrick ومحلول MNH، ويجب أخذ الحذر عند التعامل مع المواد الكيميائية وبشكل خاص مع بعض أنواع الأصبغة التي تعتبر مواد مسرطنة.

كانت أعداد كريات الدم الحمراء في الزواحف أقل من أعداد الكريات الحمر في الثدييات. والسحالي لديها أعداد أكبر من السلاحف في الزواحف. وبالتالي، هناك علاقة سلبية بين عدد كريات الدم الحمراء وأحجام الجسم [16]. وحسب بعض الدراسات في البرمائيات والزواحف، يكون عدد كريات الدم الحمراء أقل من عددها في الطيور والثدييات. وفي الزواحف، تحتوي السحالي عموماً على كريات الدم الحمراء أكثر من الثعابين. ومع ذلك، تم العثور على أقل عدد من كريات الدم الحمراء في السلاحف. تحدث الاختلافات حسب الجنس، العمر، الموسم والعوامل المرضية في عدد كريات الدم الحمراء[15].

تم الكشف عن أن عدد كريات الدم الحمراء كان أعلى في الذكور منها في الإناث في بعض أنواع الزواحف [16] [17] [18]. ووجد أن حالة التغذية للحيوان كانت فعالة على بنية الدم. تم الكشف عن أن الجوع في *Bufo viridis* أدى إلى زيادة عدد كريات الدم الحمراء غير الناضجة في الدم [19].

أما بالنسبة لعدد الكريات البيض في البرمائيات والزواحف فيختلف عدد الكريات البيض في 1 mm^3من الدم. وترجع الاختلافات في عدد الكريات البيض إلى الجنس والعمر والموسم وتنكس الجلد والعوامل البيئية والمرضية، حيث تتراوح أعداد الكريات البيض بين 3000 و8000 mm^3دم حسب الدراسة المرجعية التي قدمها Arikan وزملاؤه في علم الدمويات الخاص بالزواحف والبرمائيات عام 2014[15].

اختلفت قيم نتائج التحاليل الدموية التي تم دراستها على بعض السلاحف التي تعيش في مناطق استخراج النفط عن الدراسات الاخرى في الظروف الطبيعية وبذلك يمكن ان تشير التحاليل الدموية إلى صحة النظام البيئي[3]. حيث سجل *P.laevis* أنه مهدد بفقدان الموطن في بعض المناطق من توزع النوع وسجل *L.media* مهدد محلياً بفقدان الموطن، الافتراس، تجارة الحيوانات[20] [21]، وباعتبار دراستنا أجريت في ظروف طبيعية فتصبح نتائجنا قيم مرجعية للدراسات اللاحقة تساعد في الكشف عن وجود أي خلل في النظام البيئي.

الاستنتاجات.

1- يمكن اعتماد صبغة Methyl violet 10B كبديل لصبغة Methyl violet 2B المستخدمة في المحلول المخفف لدراسة الخلايا الدموية عند الفقاريات التي تحتوي كرياتها الحمر على نواة.
2- تختلف أعداد الخلايا الدموية في الزواحف والبرمائيات في النوع الواحد حسب اختلاف الشروط البيئية ومستويات النشاط المختلفة.

قائمة المراجع.

1- Uetz, P.; Freed, P.; Hošek, J.(2021) The Reptile Database. [(accessed on 28/6/2021)]. http://www.reptile-database.org.

2- The Fifth National Report for the Convention on Biological Diversity.)2016). Damascus, Ministry of Local and Environmental Administration, Syria. 89.

3- Deem, S. L., Dierenfeld, E. S., Sounguet, G. P., Alleman, A. R., Cray, C., Poppenga, R. H., Karesh, W. B. (2006). 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, 37(4), 464-471.

4- Claver, J. A., & Quaglia, A. I. (2009). Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates. Journal of exotic pet medicine, 18(2), 87-97.

5- Sykes IV, J. M., & Klaphake, E. (2008). Reptile hematology. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 11(3), 481-500.

6- Arikan, H., Göçmen, B., Atatür, M. K., Kumlutaş, Y., & Çiçek, K. (2009). Morphology of peripheral blood cells from various Turkish snakes. North-Western Journal of Zoology, 5(1), 61-73.

7- Arıkan, H., Göçmen, B., Yildiz, M. Z., Ilgaz, Ç., & Kumlutaş, Y. (2009). Morphology of peripheral blood cells from some lacertid lizards from Turkey. Russian Journal of Herpetology, 16(2), 101-106.

8- Çiçek, K., & Arıkan, H. (2010). Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish Herpetofauna. Morphology of Peripheral Blood Cells from Various Species of Turkish Herpetofauna, 179-198.

9- MacLean, G. S., Lee, A. K., & Wilson, K. J. A. (1973). simple method of obtaining blood from lizards. Copeia, 1973(2), 338-339.

10- Heatley, J. J., & Johnson, M. (2009). Clinical technique: amphibian hematology: a practitioner's guide. Journal of Exotic Pet Medicine, 18(1), 14-19.

11- Tavares-Dias, M., Oliveira-Júnior, A. A., & Marcon, J. L. (2008). Methodological limitations of counting total leukocytes and thrombocytes in reptiles (Amazon turtle, Podocnemis expansa): an analysis and discussion. Acta Amazonica, 38(2), 351-356.

12- Natt, M. P., & Herrick, C. A. (1952). A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. Poultry Science, 31(4), 735-738.

13- Gül, Ç., Tosunoğlu, M., & Erdoğan, D. (2011). Changes in the blood composition of some anurans. Acta Herpetologica, 6(2), 137-147.

14- Cuadrado, M., Molina-Prescott, I., & Flores, L. (2003). Comparison between tail and jugular venipuncture techniques for blood sample collection in common chameleons (Chamaeleo chamaeleon). The Veterinary Journal, 166(1), 93-97.

15- Arikan, H., & Cicek, K. (2014). Haematology of amphibians and reptiles: A review. North-Western journal of zoology, 10(1).

16- Duguy, R. (1970). Numbers of blood cells and their variation. Biology of the Reptilia, 3, 93-109.

17- Altland, P. D., & Thompson, E. C. (1958). Some factors affecting blood formation in turtles. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 99(2), 456-459.

18- Duguy, R. (1963). Biologie de la latence hivernale chez Vipera aspis L. Vie et milieu, pp 311-444.

19- Chury, Z. (1952). Some haematological data in the fasting green toad (Bufo viridis). Scripta Medica, 25, 23-30.

20- Al Masri, A., Hmidan, H., Nassour, Y., & Halabi, W. Rapid. (2009). assessment by field survey of reptiles and amphibians of Abu Qbeis Protected Area. Damascus, UNDP- Syria SYR/05/010 project.

21- Al Masri, A., Hmidan, H., , Mohammad, T., & Halabi, W. Rapid. (2009). assessment by field survey of reptiles and amphibians in Fronlok Protected Area. Damascus, UNDP- Syria SYR/05/010 project.