

## بررسی اثر نوع خون بر میزان زادآوری زالوی طبی *Hirudo orientalis*

حمیده تقوی جلودار<sup>۱</sup>، جمیله پازوکی<sup>۲\*</sup>، محمد صادق خاکشور<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۰

### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر خون گونه‌های مختلف جانوری در زادآوری زالو، تعداد تخم در هر کوکون، اندازه و وزن کوکون بوده است. بر این اساس سه نوع مختلف خون شامل خون گاو، مرغ و قورباغه بر زادآوری زالوی طبی *Hirudo orientalis* بررسی شد. بر اساس تحلیل‌های آماری، وزن نهایی زالوها (بعد تغذیه) اختلاف معناداری داشت ( $P < 0/05$ ). زالوها خون بیشتری از گاو در مقایسه با مرغ و قورباغه دریافت کردند. زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه کمترین مقدار خون را دریافت کردند. نتایج نشان داد که وزن و طول کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون گاو نسبت به دو گروه دیگر بیشتر بود، در صورتی که کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه کمترین وزن و طول را بین گروه‌های مورد آزمایش نشان دادند ( $P < 0/05$ ). میزان زادآوری، درصد بقا و درصد تفریخ در زالوهای تغذیه شده از خون گاو ۱۵/۲۹، ۹۰ و ۹۵/۲۹ درصد، مرغ ۱۱/۴۴، ۸۳/۳۳، ۹۳/۷۵ درصد و قورباغه ۷/۱۷، ۷۶/۶۶، ۹۲/۶۸ درصد محاسبه شد. نتایج این مطالعه نشان داد که نوع خون می‌تواند بر میزان زادآوری، درصد بقا و درصد تفریخ زالوها تاثیرگذار باشد. با توجه به مطالعه حاضر خون گاو برای استفاده از تکثیر و پرورش زالوها توصیه می‌شود. دستاوردهای به دست آمده از این مطالعه می‌تواند در صنعت تکثیر و پرورش زالو مورد بهره‌برداری قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** زالوی طبی، *Hirudo orientalis*، خون، کوکون، رژیم غذایی.

- ۱- کارشناس ارشد زیست‌شناسی و زیست‌فناوری دریا و آبزیان، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۲- استاد گروه زیست‌شناسی و زیست‌فناوری دریا و آبزیان، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۳- دکتری زیست‌شناسی و زیست‌فناوری دریا و آبزیان، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: [pazooki2001@yahoo.com](mailto:pazooki2001@yahoo.com)

## مقدمه

طبی ایران *H. orientalis* و بررسی اثر شرایط مختلف در کشت و پرورش آن پرداخت. همچنین جدیدتر در سال ۱۳۹۳ به بررسی امکان پرورش آزمایشگاهی زالوی طبی *H. medicinalis* با استفاده از جیره‌ها و افزودنی‌های غذایی مختلف پرداخت. قبادی (۱۳۹۴) به مطالعه تکوین زالو طبی *H. orientalis* از مرحله تشکیل پيله تا رسیدگی غدد جنسی را مورد بررسی قرار داد. در رابطه با مقایسه رشد و بقای دو جمعیت زالوی طبی *H. orientalis* توسط سرگلزایی (۱۳۹۶) پرداخته شد که در این مطالعه تاثیر دو عامل مهم نور و تغذیه روی تکثیر و پرورش گونه *H. orientalis* بررسی شد. گنجوی و همکارانش (۱۳۹۲) ارتباط بین ساختار کیسه بیضه با طول، قطر و وزن بدن را در زالوی طبی *H. orientalis* بر اساس مطالعه ریخت‌سنجی و بافت‌شناختی بررسی کردند که هدف از این مطالعه یافتن ارتباطی بین خصوصیات بدن زالوی طبی یا ساختار کیسه بیضه و خوشه‌های اسپرمی بود. با توجه به مطالعات بالا، در هیچ کدام تغذیه زالو با خون به طور مستقیم از خود جانوران انجام نشده است. Zulhisyam و همکارانش (۲۰۱۱) اثر شدت نور، دما و جیره

از دیرباز آب‌ها و آبزیان نقش بسزایی در تداوم حیات بشر و موجودات دیگر داشته‌اند. زالو یک جانور آبی به شمار می‌آید و چند سالی است که به برخی از گونه‌های آن توجه زیادی می‌شود (Michalsen et al., 2003). زالوها نسبت به دیگر کرم‌های حلقوی تنوع گونه‌ای بسیار کمتری دارند و تاکنون حدود ۷۰۰ گونه زالو شناخته شده است (Boris and Peter, 2008). به طور متداول در دنیا از ۴ گونه زالوی طبی استفاده می‌شود که عبارت هستند از زالوی طبی خاور دور (*Hirudinaria manillensis*), زالوی طبی ایرانی (*Hirudo orientalis*), زالو طبی آسیای صغیر (*Hirudo verbena*), زالو طبی اروپا (*Hirudo medicinalis*) (ملک و خدادوست، ۱۳۹۴؛ Utevsky and Trontelj, 2005).

در رابطه با تغذیه و تکثیر و پرورش زالوهای طبی مطالعاتی انجام شده است مانند بررسی تغییرات فصلی در فراوانی و چرخه زندگی زالو طبی *H. orientalis* در شمال ایران (دارابی داراستانی، ۱۳۹۵) که به عوامل مهم محیطی مانند درجه حرارت و تراکم یا پوشش گیاهی آبی پرداخت. جعفری‌فر (۱۳۹۲) به بررسی چرخه زندگی و بافت‌شناسی گندهای زالوی

در فهرست گونه‌های در معرض خطر انقراض قرار داد (CITES, 2006). تکثیر و پرورش مصنوعی زالوی یکی از روش‌های حفظ بقا و جبران کاهش جمعیت این گونه‌ها است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر نوع خون گونه‌های مختلف جانوری در زادآوری زالوی طبی *H. orientalis* و برخی از شاخص‌های تولیدمثلی آن بوده است.

#### مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۹۰ زالوی طبی *Hirudo orientalis* مولد از مرکز تحقیقات و پرورش زالو هفت در آب وارنا (تهران) خریداری شد و در آزمایشگاه دانشگاه شهید بهشتی تهران به مدت سه ماه مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا زالوها برای سازگاری به مدت یک هفته در محیط آزمایشگاه در ۳ ظرف ۵ لیتری که ۱/۴ آن‌ها با آب بدون کلر شهری پر شده بود در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در دوره نوری آزمایشگاه (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند (Zhang et al., 2008). قبل و بعد از تغذیه زالوها با ترازوی دیجیتال وزن شدند. لازم به یادآوری است که زالوها مستقیم از خون جانوران (گاو، مرغ و قورباغه) یک بار تغذیه کردند. بدین منظور از یک گاو و چند مرغ و قورباغه استفاده شد که بعد از تغذیه مرغ و قورباغه تلف شدند.

غذایی بر عملکرد تولید مثل *Hirudinea sp.* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از جیره‌های غذایی تاثیر مطلوبی بر شاخص‌های زیستی زالو نداشت و میزان بازدهی این شاخص‌ها را تا حد زیادی کاهش داد (Zulhisyam et al., 2011). در مطالعه‌ای Ceylan و همکارانش (۲۰۱۹) اثر تراکم زالوهای مولد بر میزان بازدهی تولیدمثل و بقا زالوهای *H. verbena* Carena پرداختند و به این نتیجه رسیدند که هر چقدر تعداد زالوهای مولد در بستر آنها بیشتر باشد باعث مشکلاتی مانند کاهش کوکون‌ها، افزایش طول دوره‌های تولید نوزادان زالوها، کاهش تعداد و مرگ و میر نوزادان زالوها می‌شود. در بیشتر مطالعات یاد شده، زالوها از خون استخراج شده جانوران تغذیه شده بودند. اما در این پژوهش تغذیه زالو با تماس مستقیم جانوران مورد آزمایش، صورت گرفت. از طرفی به علت تجارت گسترده جهانی زالو در سال‌های اخیر، جمع‌آوری بیش از حد زالوی طبی از طبیعت، توسعه فعالیت‌های کشاورزی، از بین رفتن زیستگاه‌های طبیعی زالوها و استفاده از سموم شیمیایی، خطر انقراض بسیاری از جمعیت زالوها بویژه زالوهای طبی را افزایش داده است (IUCN, 1993). همچنین در ۱۹۸۷ کنوانسیون تجارت بین‌المللی، زالو را

انتقال داده شدند. ظرفها در شیب ۳۰ درجه قرار گرفت و آب و خزه برای بسترسازی به آنها اضافه شد به طوری که آب در یک سمت و خزهها در سمت دیگر قرار گرفت. خزه قبل از استفاده با آب شسته و ضدعفونی شد. سپس دور تا دور ظرف با توری پوشانده شد تا از خروج زالوها جلوگیری شود. طی دو ماه زالوها کوکون تولید کردند (شکل ۲). سپس کوکونها جمع‌آوری و تعداد آنها یادداشت شد.

زالوها بیشتر از نقاطی که خون بیشتری جریان داشت متصل می شدند (شکل ۱).

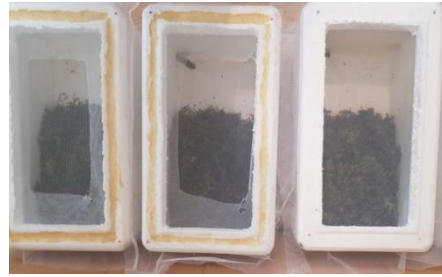
با توجه به این که حدود ۳۰ روز طول می کشد تا غذای خورده شده هضم شود، در این مدت زالوهای بیمار و بندی شده جدا شدند و میزان تلفات بررسی و یادداشت شد. پس از گذشت ۳۰ روز و هضم غذا، زالوها وارد فاز کوکون‌گذاری شدند و برای این منظور هر ۱۰ زالو به یک ظروف ۳۵×۳۵×۱۵ سانتی‌متری



شکل ۱: تغذیه زالو از خون جانوران. الف) گاو؛ ب) مرغ؛ پ) قورباغه.



شکل ۴: ظروف محتوی کوکون برای تولید لارو



شکل ۲: ظروف کوکون گذاری زالوها

بعد از گذشت ۲۳ روز، لاروها از کوکون خارج شدند. کوکون‌هایی که لارو آنها خارج نشده بودند، مقابل نور خورشید قرار گرفتند. در این حالت، لاروها در صورت آماده بودن به یک سمت کوکون متمایل می‌شدند. سپس کوکون با دست باز می‌شد. تعداد کوکون‌های خالی نیز در هر گروه بررسی شد (Ceylan et al., 2017).  
تعداد کوکون به ازای هر زالو (C)، درصد بقا (SR) و میزان باروری (B) به ترتیب از رابطه‌های ۱ تا ۳ به دست آمد (Petrauskiene et al., 2011).

رابطه ۱:

$$C = N_c / N_L$$

$N_c$ : تعداد کوکون؛  $N_L$ : تعداد زالوهای موجود.

رابطه ۲:

$$SR (\%) = (N_f / N_i) \times 100$$

$N_f$ : تعداد زالوهای زنده (نهایی)؛  $N_i$ : تعداد کل زالوها (اولیه)

وزن، طول و قطر کوکون‌ها به ترتیب با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ و کولیس با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (شکل ۳) (Ceylan et al., 2017).



شکل ۳: کوکون‌ها

سپس کوکون‌ها در ظرف‌های ۵ لیتری قرار گرفتند. با قرار دادن مقداری خزه شسته شده و نمناک داخل ظروف، کوکون‌ها لابه‌لای خزه‌ها گذاشته شدند. به علاوه، مقداری آب به ظروف اضافه شد تا لاروها بعد از خروج از کوکون داخل آب قرار بگیرند. سپس روی ظرف‌ها با توری پوشانده شد (شکل ۴).

## رابطه ۳:

$$B = N_B / N_L$$

$N_B$ : تعداد زاده‌های موجود؛  $N_L$ : تعداد زالوهای موجود.

برای محاسبه درصد تفریح (F) از رابطه ۴

استفاده شد (Zhang et al., 2008).

## رابطه ۴:

$$F (\%) = (N_{FC} / N_T) \times 100$$

$N_{FC}$ : تعداد کوکون‌های تفریح شده؛  $N_T$ : تعداد کل کوکون‌ها.

برای بررسی آماری داده‌ها و مقایسه

گروه‌های مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون Tukey SHD در سطح اطمینان ۹۵ درصد ( $P < 0.05$ ) در نرم‌افزار SPSS 22 استفاده شد.

برای رسم نمودار نیز از نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 استفاده شد.

## نتایج

نتایج بررسی تغذیه زالوی طبی *Hirudo*

*orientalis* از خون سه جانور از رده‌های مختلف جانوری شامل گاو، مرغ و قورباغه به تفکیک در جدول‌های ۱ تا ۳ آمده است. بر اساس جدول ۱، میانگین وزن زالوها قبل از

تغذیه از خون گاو، مرغ و قورباغه به ترتیب  $4/77 \pm 1/13$ ،  $4/78 \pm 1/13$  و  $4/06 \pm 1/05$  گرم بود ( $P > 0.05$ ). اما میانگین وزن زالوها بعد از تغذیه از خون گاو، مرغ و قورباغه به ترتیب  $11/73 \pm 1/02$ ،  $10/29 \pm 1/29$  و  $7/98 \pm 1/06$  گرم بود. زالوها خون بیشتری از گاو در مقایسه با مرغ و قورباغه دریافت کرده بودند. از این رو، زالوهای تغذیه شده از خون گاو نسبت به زالوهای تغذیه شده از خون مرغ و قورباغه وزن بیشتری داشتند. زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه کمترین مقدار خون را دریافت کرده بودند ( $P < 0.05$ ). بررسی آماری وزن نهایی زالوها (بعد از تغذیه) اختلاف معناداری را نشان داد ( $P < 0.05$ ; جدول ۱).

بیشترین میانگین تعداد لارو و کوکون و همچنین وزن و طول کوکون به ترتیب در زالوهای تغذیه شده از خون گاو، مرغ و قورباغه مشاهده شد (جدول‌های ۲ و ۳). در نتیجه این داده‌ها، کمترین مقدار میانگین طول، وزن، تعداد کوکون و تعداد لارو در زالوهای تغذیه شده از خون قورباغه و بیشترین مقدار آنها در کوکون‌های تغذیه شده از خون گاو به دست آمد (جدول‌های ۲ و ۳).

جدول ۱: مقایسه وزن زالوهای طبی *Hirudo orientalis* قبل و بعد از تغذیه با خون گاو، مرغ و قورباغه (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد)

گروه‌ها	قبل از تغذیه	بعد از تغذیه
زالوهای تغذیه شده با خون گاو	۴/۷۷ $\pm$ ۱/۱۳ <sup>a</sup>	۱۱/۷۳ $\pm$ ۱/۰۲ <sup>a</sup>
زالوهای تغذیه شده با خون مرغ	۴/۷۸ $\pm$ ۱/۱۳ <sup>a</sup>	۱۰/۲۹ $\pm$ ۱/۲۹ <sup>b</sup>
زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه	۴/۰۶ $\pm$ ۱/۰۵ <sup>a</sup>	۷/۹۸ $\pm$ ۱/۰۶ <sup>c</sup>

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف است ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲: شاخص‌های تولیدمثلی اندازه‌گیری شده در زالوهای طبی *Hirudo orientalis* تغذیه شده با خون گاو، مرغ و قورباغه

شاخص	زالوهای تغذیه شده با خون گاو	زالوهای تغذیه شده با خون مرغ	زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه
تعداد زالوهای تغذیه شده	۳۰	۳۰	۳۰
تعداد زالوهای کوکون داده	۲۷	۲۵	۲۳
تعداد کل کوکون‌ها	۸۵	۶۴	۴۱
تعداد کل لاروها	۴۱۲	۲۸۶	۱۶۵
میانگین کوکون هر زالو	۳/۱۴	۲/۵۶	۱/۷۸
میانگین لارو هر کوکون	۴/۸۴	۴/۴۶	۴/۰۲
میانگین لارو هر زالو	۱۳/۷۳	۹/۵۳	۵/۵۰

جدول ۳: مقایسه اندازه کوکون‌های به دست آمده از زالوهای طبی *Hirudo orientalis* در گروه‌های مختلف (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد)

گروه‌ها	طول کوکون	وزن کوکون	قطر کوکون
زالوهای تغذیه شده با خون گاو	۲۶/۰۱ $\pm$ ۲/۵۰ <sup>a</sup>	۱/۰۶ $\pm$ ۰/۲۹ <sup>a</sup>	۱۲/۰۲ $\pm$ ۲/۲۰ <sup>a</sup>
زالوهای تغذیه شده با خون مرغ	۱۹/۰۴ $\pm$ ۱/۹۸ <sup>b</sup>	۰/۸۳ $\pm$ ۰/۱۹ <sup>b</sup>	۱۱/۵۴ $\pm$ ۱/۰۹ <sup>a</sup>
زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه	۱۶/۰۲ $\pm$ ۱/۶۲ <sup>c</sup>	۰/۵۳ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>c</sup>	۹/۶۶ $\pm$ ۱/۰۱ <sup>b</sup>

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف است ( $P < 0.05$ ).

علاوه، قطر کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون گاو و مرغ به طوری معناداری از قطر کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). اما با یکدیگر اختلاف معناداری نداشتند ( $P > 0.05$ ؛ جدول ۳).

میزان زادآوری، درصد بقا و درصد تفریخ در زالوهای تغذیه شده از خون گاو (۱۵/۲۹، ۹۰، ۹۳/۷۵ درصد)، مرغ (۱۱/۴۴، ۸۳/۳۳، ۹۵/۲۹ درصد) و قورباغه (۷/۱۷، ۷۶/۶۶، ۹۲/۶۸ درصد) در شکل ۱ با هم مقایسه شدند. بر این اساس بیشترین میزان باروری، درصد بقا و درصد تفریخ در زالوهای که از خون گاو تغذیه کرده بودند به دست آمد.

بررسی آماری وزن کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون (گاو، مرغ و قورباغه) اختلاف معناداری را نشان داد ( $P < 0.05$ ؛ جدول ۳). طبق نتایج، کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون گاو نسبت به دو گروه دیگر وزن بیشتری داشتند و کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه کمترین وزن را در بین گروه‌های مورد آزمایش نشان دادند ( $P < 0.05$ ). همچنین کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون گاو، نسبت به دو گروه دیگر بلندتر بودند و کوکون‌های به دست آمده از زالوهای تغذیه شده با خون قورباغه کمترین طول را بین گروه‌های مورد آزمایش داشتند ( $P < 0.05$ ). به



شکل ۱: میزان باروری، درصد بقا، درصد تفریخ زالوی طبی *Hirudo orientalis* تغذیه شده از خون گاو، مرغ و قورباغه (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد). حروف غیرمشابه در هر شاخص نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف است ( $P < 0.05$ ).



## بحث

زالو با خون دوزیستان به علت کاهش سطح انرژی، میزان رشد را کاهش و زمان رسیدن به بلوغ جنسی را افزایش می‌دهد (Andrew, 1965).

Ceylan و همکاران (۲۰۱۷) همبستگی مثبتی را بین وزن مولد با تعداد کوکون و وزن کوکون با تعداد لارو گزارش کردند. نتایج مطالعه حاضر نیز این مطلب را تایید کرد. در بررسی حاضر، زالوهایی که از خون گاو تغذیه شده بودند نسبت به زالوهایی که از خون مرغ و قورباغه تغذیه کردند وزن بیشتری داشتند (Davies and Mcloughlin, 1996). این موضوع همچنین در زالوهایی که از خون مرغ تغذیه شدند نسبت به زالوهای تغذیه شده از خون قورباغه دیده شد. این امر باعث شد کوکون‌های سنگین‌تر با تعداد لارو بیشتر تولید شود.

نوع تغذیه تاثیر مهمی بر بقا یا زنده ماندن زالوها دارد (Zapkuvene, 1979a,b). در مطالعه حاضر، بیشترین (۹۰ درصد) و کمترین (۷۶/۶۶ درصد) درصد بقا در زالوهایی مشاهده شد که به ترتیب از خون گاو و خون قورباغه (که جزء گروه جانوران خونسرد محسوب می‌شود) تغذیه شدند. Davies و Mcloughlin (۱۹۹۶) گزارش کردند که خون پستانداران مواد غذایی و کالری بیشتری نسبت به خون دوزیستان در

این پژوهش با هدف بررسی تاثیر نوع خون گونه‌های مختلف جانوری در زادآوری زالوی طبی *Hirudo orientalis* و تاثیرات آن بر شاخص‌های تولیدمثلی مانند تعداد تخم در هر کوکون، اندازه کوکون و وزن کوکون انجام شد. زالوی طبی دارای طیف گسترده‌ای از میزبانان مانند ماهی، پرندگان، دوزیستان و پستانداران است (Elliott and Dobson, 2015). از طرفی مقدار انرژی موجود در خون میزبان نیز متفاوت است. به طوری که خون پستانداران دارای انرژی بیشتری نسبت به خون دوزیستان است (Merila and Sterner, 2002). محتوای انرژی بیشتر در خون میزبان به طور مثبتی بر عملکرد تولیدمثل زالوهای طبی تاثیر می‌گذارد. به عنوان مثال در مقایسه با خون قورباغه، هم زمان بلوغ جنسی کوتاه می‌شود و هم میزان باروری در جمعیت زالوی طبی که با خون پستانداران تغذیه شده است، کاهش می‌یابد. رژیم غذایی تاثیرات متفاوتی بر زالوها دارد از جمله باعث کاهش یا افزایش رشد و کوتاه شدن دوره تولیدمثلی می‌شود (Sineva, 1994). Sawyer در سال ۱۹۸۶ گزارش داد انرژی تامین شده از خون پستانداران در زالو باعث کوتاه شدن دوره تولیدمثلی آنها می‌شود. تغذیه

۱۲/۲۳±۰/۳۰ بود. در بررسی حاضر، میانگین وزن، طول و قطر کوکون‌های تغذیه شده از خون گاو به ترتیب ۱/۰۶±۰/۲۹، ۱/۰۶±۰/۲۹ و ۲۶/۰۱±۰/۵۰ و ۱۲/۰۲±۰/۲۰ محاسبه شد که تفاوت چندانی در آنها دیده نمی‌شود. اما در مطالعه سرگلزایی (۱۳۹۶) میانگین وزن، طول و قطر کوکون زالوهای *H. orientalis* تغذیه شده با خون گاو به ترتیب ۰/۰۲±۰/۰۶۴، ۰/۴۲±۰/۱۶۱ و ۵/۶۱±۰/۳۴ گزارش شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میانگین وزن، طول و قطر کوکون‌های زالوهای تغذیه شده از خون مرغ نسبت به زالوهای تغذیه شده از خون قورباغه بیشتر بود و علت آن ممکن است به خاطر بالاتر بودن میزان گلوکز در خون مرغ نسبت به خون قورباغه باشد (Ceylan et al., 2017).

در مجموع، مطالعه حاضر نشان داد زالوهای تغذیه شده از خون گاو نسبت به زالوهای تغذیه شده از خون مرغ و قورباغه به طور قابل توجهی تولید کوکون و لارو، باروری و درصد بقای بیشتری داشتند. این اختلاف احتمالا به اختلاف در حجم خونی که زالوها از گاو گرفتند و میزان ترکیباتی که در خون گاو نسبت به دو جانور دیگر وجود دارد مربوط می‌شود. زالوهای تغذیه شده از خون مرغ و قورباغه به ترتیب در رتبه دوم و سوم اهمیت قرار داشتند. در نتیجه این

اختیار زالوها قرار می‌دهد. همانند مطالعه حاضر، پژوهشگران دیگر نیز این موضوع را گزارش کرده‌اند (Andrew, 1965; Wilkin and Scofield, 1991; Sineva, 1994; Negm-Eldin et al., 2012).

در این بررسی میانگین تعداد، وزن، طول و قطر کوکون‌های تغذیه شده از خون گاو نسبت به کوکون‌های تغذیه شده از خون مرغ و قورباغه بیشتر بود. Petrauskiene و همکاران در سال ۲۰۱۱ و Ceylan و همکاران در سال ۲۰۱۵ میانگین تعداد کوکون را در زالوی *H. orientalis* ۳/۰±۰/۷۳۹ و ۳/۲۰±۱/۰۸ گزارش کردند که با مطالعه حاضر (۳/۱۴) تقریباً همخوانی داشت. ولی طبق مطالعه جعفری‌فر (۱۳۹۲) میانگین تعداد کوکون در همین گونه که با خون گوسفند تغذیه شده بود ۲/۳۳±۰/۶۱ گزارش شد که با یافته‌های مطالعه حاضر تفاوت دارد. میانگین تعداد کوکون در گونه‌های مختلف متفاوت است. میانگین تعداد کوکون در گونه‌های *H. medicinalis* و *H. verbena* به ترتیب ۳/۰±۵۹/۲۹ و ۴/۰±۳۹/۵۹ گزارش شد (Petrauskiene et al., 2011).

در مطالعه جعفری‌فر (۱۳۹۲) میانگین وزن، طول و قطر کوکون زالوهای تغذیه شده از خون گاو به ترتیب ۱/۰۳±۰/۰۶، ۲۱/۲۵±۰/۵۵ و

یافته‌ها می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را برای توسعه جیره‌های غذایی پرورش زالوهای طبی فراهم کند که پایه‌ای برای رشد بهینه و عملکرد تولیدمثل زالو خواهد بود.

## منابع

- کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران. ۱۳۵ص.
- قبادی ث. ۱۳۹۴. مطالعه تکوین زالوی طبی *Hirudo orientalis* Utevsky and Trontelj, 2005 از مرحله تشکیل پیله تا رسیدگی غدد جنسی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران. ۱۵۷ص.
- گنجوی م.، مهدوی شهری ن.، قاسم زاده ف.، شریعت زاده م. و میرشمسی کاخکی ا. ۱۳۹۲. مطالعه ارتباط بین ساختار کیسه بیضه با طول، قطر و وزن بدن در زالوی طبی *Hirudo orientalis*. مجله سلول و بافت، ۴(۴): ۴۳۴-۴۲۵.
- ملک م. و خدادوست م. ۱۳۹۴. زالوی طبی ایرانی، شگفتی خلقت در گذر زمان. نشریه نشا علم، ۷۳-۸۰: (۱)۶.
- Andrew W. 1965. Comparative Hematology. Grune and Stratton, USA. 188P.
- Boris S. and Peter T.J. 2008. Global diversity of leeches (Hirudinea) in freshwater. Hydrobiologia, 595: 129-137.
- Ceylan M., Cetinkaya O., Kucukkara R. and Akcimen U. 2015. Reproduction efficiency of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15: 411-418.
- جدیدفر ع. ۱۳۹۳. بررسی امکان پرورش آزمایشگاهی زالوی طبی (*Hirudo medicinalis*) با استفاده از جیره‌ها و افزودنی‌های غذایی مختلف. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران. ۱۲۸ص.
- جعفری فر ف. ۱۳۹۲. چرخه زندگی و بافت‌شناسی گندهای زالوی طبی ایران و بررسی اثر شرایط مختلف در کشت و پرورش آن. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران. ۸۳ص.
- دارابی داراستانی ک. ۱۳۹۵. زالوهای آب شیرین حوضه‌های آبریز منطقه‌ی البرز و رویکرد بیوسیستماتیک بر زالوی طبی. رساله دکتری، دانشگاه تهران. ۹۶ص.
- سرگلزایی س. ۱۳۹۶. مطالعه‌ی مقایسه‌ای رشد و بقای دو جمعیت زالوی طبی. پایان نامه
- Ceylan M., Kucukkara R. and Akcimen U. 2019. Effects of broodstock density on reproduction efficiency and survival of southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820. Aquaculture, 498: 279-284.
- Ceylan M., Kucukkara R., Akcimen U. and Yener O. 2017. Reproduction efficiency of the horse leech, *Haemopsis sanguisuga* (Linnaeus, 1758). International Journal of Development Research, 61: 182-188.

- CITES 2006.** Evaluation of *Hirudo medicinalis* Linnaeus, 1758. Convention On International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Twenty Second Meeting of the Animals Committee, Peru. 51P.
- Davies R.W. and Mcloughlin N.J. 1996.** The effect of feeding regime on the growth and reproduction of the medicinal leech *Hirudo medicinalis*. *Freshwater Biology*, 36: 563–568.
- Elliott J.M. and Dobson M. 2015.** *Freshwater Leeches of Britain and Ireland: Keys to the Hirudinea and a Review of their Ecology.* Freshwater Biological Association, Scientific Publication, UK. 108P.
- IUCN. 1993.** IUCN Red Data Book. Medicinal Leech. International Union for Conservation of Nature, Switzerland. 348P.
- Merila J. and Sterner M. 2002.** Medicinal leeches (*Hirudo medicinalis*) attacking and killing adult amphibians. *Annales Zoologici Fennici*, 39: 343–346.
- Michalsen A., Klotz S., Ludtke R., Moebus S., Spahn G. and Dobos G.J. 2003.** Effectiveness of leech therapy in osteoarthritis of the knee: A randomized, controlled trial. *Annals of Internal Medicine*, 139(9): 724–730.
- Negm-Eldin M.M., Abdraba M.A. and Benmer E.H. 2012.** First record, population ecology and biology of the leech *Limmatis nilotica* in the Green Mountain Libya. *Travaux de l’Institut Scientifiquenal Journal of Development Research*, 49: 37–42.
- Petrauskiene L., Utevska O. and Utevsky S. 2011.** Reproductive biology and ecological strategies of three species of medicinal leeches (genus *Hirudo*). *Journal of Natural History*, 45(11-12): 737–747.
- Sawyer R.T. 1986.** *Leech Biology and Behaviour.* Clarendon Press, UK. 1100P.
- Sineva M.V. 1994.** Observations on rearing of the medicinal leech. *Zoologicheskii Zhurnal*, 23(6): 293–303.
- Utevsky S.Y. and Trontelj P. 2005.** A new species of the medicinal leech (Oligochaeta, Hirudinida, *Hirudo*) from Transcaucasia and an identification key for the genus *Hirudo*. *Parasitology Research*, 98: 61–66.
- Wilkin P.J. and Scofield A.M. 1991.** Growth of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*, under natural and laboratory conditions. *Freshwater Biology*, 25: 547–553.
- Zapkuvene D.V. 1972a.** Breeding and growth of medical leeches under laboratory conditions. I. Breeding of *Hirudo medicinalis* f. *serpentina* and *H. medicinalis* f. *officinalis*. *Lietuvos TSR Mokslue Akademijos Darbai Serija (C)*, 3: 71–76 (in Russian).

- Zapkuvene D.V. 1972b.** Breeding and growth of medical leeches under laboratory conditions. II. Growth of *Hirudo medicinalis* f. *serpentina*. Lietuvos TSR Mokslue Akademijos Darbai Serija (C), 3: 77–84 (in Russian).
- Zhang B., Lin Q., Lin J., Chu Chu X. and Lu J. 2008.** Effects of broodstock density and diet on reproduction and juvenile culture of the leech, *Hirudinaria manillensis* Leesson, 1842. *Aquaculture*, 276: 198–204.
- Zulhisyam B., Ahmad Anwar I. and Ibrahim C. 2011.** Effect of light intensity, temperature and diet on reproduction of *Hirudinea* sp. 4th International Conference on Postgraduate Education. P: 116–122.



Research Paper

## Effect of blood type on reproduction rate in medicinal leech *Hirudo orientalis*

Hamideh Taghavi Jelowdar<sup>1</sup>, Jamileh Pazooki<sup>2\*</sup>, Mohammad Sadegh Khakshoor<sup>3</sup>

Received: June 2021

Accepted: October 2021

### Abstract

The main objective of this study was to investigate the effect of blood type of different animals on leech reproductivity, egg numbers, size and weight of each cocoon. To do this, three different blood types of a cow, hens and frogs were studied to measure the rate of medicinal leech *Hirudo orientalis* reproduction. According to statistical analysis, there was a significant difference between leech final weights (after feeding) ( $P < 0/05$ ). Leeches consumed more blood from cow compared to hens and frogs. They also consumed the least amount of blood from frogs. Results revealed that the cocoons obtained from leeches fed with cow blood were heavier and longer than that of other two groups while, the leeches fed with frog blood showed the lowest weight and length among the experimental groups ( $P < 0.05$ ). Reproduction, survival and hatching rate in leeches were, respectively, 15.29, 90 and 95.29% for cow blood, 11.44, 83.33 and 93.75% for hen blood and 7.17, 76.66 and 92.68% for frog blood. The results of this study indicated that the type of blood can affect the reproduction, survival and hatching rate in leeches. Based on the results of this study cow blood is recommended for leech cultivation. The results achieved in this study can be used in the leech breeding industry.

**Key words:** *Medicinal Leech, Hirudo orientalis, Blood, Cocoon, Diet.*

1- M.Sc. in Marine and Aquatic Biology and Biotechnology, Faculty of Biological Science and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

2- Professor in Marine and Aquatic Biology and Biotechnology Department, Faculty of Biological Science and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

3- Ph.D. in Marine and Aquatic Biology and Biotechnology, Faculty of Biological Science and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

\*Corresponding Author: [pazooki2001@yahoo.com](mailto:pazooki2001@yahoo.com)

