Archive of SID

فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۳، جلد ۹، شماره۲، بهار۹۵، صفحه ۳۳ تا ۳۸

بررسی اثر سیستم های مختلف نگهداری و تراکم بر خصوصیات رفتاری زالوهای پزشکی اروپایی(*Hirudo medicinalis*) جوان

مرتضی یوسفی چهاردهی[۱]، الکساندر الکسوویچ نیکیشوف[۱]، **بهروز ابطحی**[۲]
۱-گروه دامپزشکی، انستیتو تکنولوژی کشاورزی، دانشگاه دوستی ملل روسیه.
۲-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران. ایران. **b_abtahi@sbu.ac.ir**

تاریخ دریافت: ۹٤/۱۲/٤ تاریخ پذیرش:۹۵/۲/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: زالوهای پزشکی کاربرد وسیعی در مطالعات زیست شناسی و هم چنین صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی دارند. هدف از مطالعه حاضر بررسی پاسخ های رفتاری زالوهای پزشکی جوان نگهداری شده در دو نوع سیستم پرورشی می باشد.

روش کار: زالوهای جوان با میانگین وزن ۰/۲ گرم در ۸ تیمار آزمایشی با تراکم ۵۰(G_1)، ۵۰(G_2)، ۶۰(G_3)، ۷۰(G_4)، ۸۰(G_5)، ۹۰(G_6)، ۱۰۰(G_7) و ۱۱۰(G_8) عدد در هر تانک، به تانک های پرورشی معرفی گردیدند. وضعیت قرارگیری زالوها در محیط نگهداری و ماهیت فعالیت های حرکتی آن ها در تانک های پرورشی طی ٦ روز دوره آزمایش بررسی گردید.

یافته ها: طبق نتایج به دست آمده کمترین درصد زالوها در کف تانک ها، بیشترین درصد قرار گرفته در فضای خارج از آب، کمترین درصد زالوهای بدون حرکت و بیشترین درصد زالوهای با حرکات تنفسی، با اختلاف معنی داری نسبت به سایر گروه ها، در تیمار G_1 ثبت گردید($P<0/05$). در حالی که، بیشترین درصد زالوها در کف تانک ها، کمترین درصد قرار گرفته در فضای خارج از آب و بیشترین درصد زالوهای بدون حرکت در تیمار G_5 و کم ترین درصد زالوهای با حرکات تنفسی، در گروه های G_2 ، G_3 و G_5 ثبت شد($P<0/05$).

نتیجه گیری: در مقایسه با سیستم ایستایی، سیستم مداربسته آب نگهداری زالوها، اثرات مثبتی بر خصوصیات رفتاری آن ها داشته و تراکم ۸۰ عدد زالو در هر تانک بهترین وضعیت را در بین سایر تیمارها نشان می دهد.

واژه های کلیدی: زالوی پزشکی، خصوصیت رفتاری، *H. medicinalis*.

مقدمه

زالوی پزشکی اروپایی(*Hirudo medicinalis*)، گونه شاخص خانواده Hirudinidae، شهرت زیادی به خصوص در حجامت یا خون گیری(bloodletting) و سایر کاربردهای پزشکی دارد(۱۸). به کارگیری زالوهای پزشکی در عصر حاضر تنها محدود به اهداف پزشکی نمی شود(۲)، بلکه به عنوان یک حیوان مدل بسیار محبوب در مطالعه های فیزیولوژیکی، عصبی-زیست شناختی، زیست شیمیایی، بافت شناسی و بسیاری از موارد دیگر مورد استفاده قرار می گیرد(۲۶، ۲۱، ۱۴، ۱۲، ۸، ۵، ۴، ۱). درسال های اخیر، برخی از جمعیت های زالوها به واسطه صید بی رویه جهت استفاده به عنوان طعمه ماهی گیری و اهداف پزشکی(به خصوص در اروپا و آسیا)، از دست رفتن تالاب ها، به خصوص منابع آبی یوتروف و مرداب ها در سراسر اروپا و هم چنین به واسطه آلودگی، به طور چشم گیری کاهش یافته است(۲۷، ۲). به طوری که *H. medicinalis* در لیست بی مهرگان در حال انقراض اتحادیه بین المللی حفاظت از طبیعت(IUCN) قرار گرفته است(۲۴). به منظور پاسخ گویی به نیاز کاربردهای بالینی، طب سنتی وسایر پژوهش‌های علمی، علاقه مندی به تکثیر و پرورش زالو در بسیاری از کشورها در حال افزایش می باشد(۲۷). پرورش زالو برای مقاصد پزشکی دارای پتانسیل تجاری بالایی بوده و در سال های اخیر بسیاری از کارآفرینان اقدام به پرورش زالو نموده اند، اما در کار خود کمتر از

www.SID.ir

Archive of SID

روش ها و تکنولوژی های نوین بهره برده(۲۸) و تاکنون پرورش در حوضچه، استخرهای خاکی و پرورش در ظروف شیشه ای با سیستم تعویض آب دوره ای(۲۲) به روش های مختلف در کارگاه های پرورش زالو در روسیه و بسیاری از کشورهای اروپایی مورد استفاده قرار می گیرد(۲۵). در میان فاکتورهای زیستی، تراکم زالوها در تانک های پرورشی به عنوان مهم ترین عامل معرفی می گردد. تراکم پرورش برای زالوهای جوان و یا گرسنه با وزن کم می تواند به ۵۰ عدد در تانک های سه لیتری برسد(۲۳، ۱۳، ۷). تراکم زالوهای بالغ جهت نگهداری در این تانک ها بایستی کمتر باشد. مشاهده گردیده است که نگهداری زالوهای بالغ با تعداد ۳۰ عدد و بیشتر از آن، در ظروف ۳ لیتری باعث بروز اختلال های زیستی در آن ها می شود. در این حالت آن ها خون، موکوس و برخی از محصول های زیستی را در مقادیر زیاد، بدون هیچ دلیلی ترشح می نمایند(۲۰). تحقیق های مختلف نشان می دهد که رفتار شاخصی حساس برای استرس ناشی از مواد شیمیایی و آسیب شناسی در موجودات آبزی می باشد. تغییر در دستگاه حرکتی و یا فعالیت شنای موجودات آبزی اغلب به عنوان شایع ترین پاسخ رفتاری در مطالعه های سم شناسی اکولوژیکی مورد استفاده قرار می گیرد(۱۹، ۳). اگر چه تحقیق های مشابه روی زالو بسیار نادر است(۱۵). اجتناب و فرار از آب‌های آلوده نیز به عنوان پاسخ دفاعی حیوانات می باشد(۱۵). با توجه به مطالب ذکر شده و اهمیت واکنش های رفتاری در زالوها به عنوان پاسخ های سریع و قابل اندازه گیری، در مطالعه حاضر سیستم مدار بسته نگهداری زالو طراحی و با سیستم مورد استفاده در کارگاه های پرورش زالوی روسیه(تعویض آب دوره ای با تناوب چند روزه بسته به تراکم، وزن و غیره) مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر در آزمایشگاه پرورش زالوی گروه دامپزشکی(انستیتو تکنولوژی کشاورزی) دانشگاه دوستی ملل مسکو(روسیه) انجام پذیرفت. زالوهای جوان با میانگین وزن ۰/۲ گرم در ۸ تیمار آزمایشی(۳ تکرار برای هر تیمار) با تراکم ۵۰ (G_1)، ۵۰(G_2)، ۶۰(G_3)، ۷۰(G_4)، ۸۰(G_5)، ۹۰ (G_6)، ۱۰۰(G_7) و ۱۱۰(G_8) عدد در هر تانک، در مجموع به ۲۴ تانک پرورشی معرفی گردیدند. بنا به توصیه کارگاه های تکثیر و پرورش زالو در روسیه و هم چنین نتایج مطالعه های قبلی(۲۳، ۱۳، ۷)، گروه G_1 با حداکثر ۵۰ عدد زالو به عنوان گروه شاهد و بدون جریان آب انتخاب گردید و تعویض آب تانک-های این گروه پس از ۳ روز صورت پذیرفت. گروه G_2 به بعد با تراکم ۵۰ تا ۱۱۰ عدد جهت مقایسه با سیستم ایستایی و هم چنین بررسی اثر تراکم های بالاتر در نظر گرفته شده و به سیستم گردش آب مداربسته متصل گردیدند. جهت بررسی وضعیت قرارگیری زالوها در محیط نگهداری، تانک ها به طور عمودی به ۳ قسمت: کف آب، ستون آب و فضای خارج از آب تقسیم گردیدند. هم چنین ماهیت فعالیت های حرکتی آن ها در طول روز به ۳ حالت: بدون حرکت، حرکت تنفسی (زنشی) و در حال شنا تقسیم شد. مشاهده وضعیت قرارگیری حیوانات تحت آزمایش در تانک ها و فعالیت حرکتی آن ها ۹ بار(۳ بار صبح، ۳ بار ظهر و ۳ بار عصر) در طول روز انجام و نتایج ثبت گردید. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب از جمله دما، اکسیژن و pH به صورت روزانه مورد سنجش قرار گرفت. دما در محدوده ۲۲ تا ۲۳ درجه سانتی گراد نگهداری شد. pH بین ۷/۹ تا ۸/۱ متغیر بود. اکسیژن آب در تیمارهای مربوط به سیستم مدار بسته بین ۵ تا ۷ میلی گرم در لیتر متغیر می باشد، در حالی که در تیمار شاهد(G_1) از حدود ۷ در زمان شروع آزمایش به کمتر از ۲ پس از سه روز دوره آزمایش افت نموده و پس از تعویض کامل آب در روز سوم، این

www.SID.ir

Archive of SID

سیکل تا روز ششم (روز پایانی آزمایش) تکرار گردید. زمان روشنایی و خاموشی به صورت ۱۲ ساعت به ۱۲ ساعت در نظر گرفته شد. طول دوره آزمایش ۶ روز بود. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی(Completely Randomized Design) برنامه ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه(One – Way ANOVA) انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن Duncan و در صورت ناهمگن بودن از آزمون آماری Games-Howell در سطح اعتماد ۵ درصد استفاده شد. از نرم افزار SPSS(۱۱/۵) برای آنالیز آماری و از Excel (۲۰۱۰) برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

نتایج مربوط به پراکنش زالوهای جوان پزشکی در تانک های نگهداری آن ها، در جدول شماره ۱ آمده است. طبق نتایج به دست آمده کمترین درصد زالوها در کف تانک ها در تیمار G_1 مشاهده شد؛ در حالی که بیشترین درصد در تیمار G_5 ثبت گردید($P<0/05$). تیمارهای G_8 و G_3 به ترتیب بیشترین و کمترین درصد زالوها در ستون آب را به خود اختصاص دادند (۱۳/۸۶±۰/۱۸ و ۸/۸۲±۰/۴۹). هم چنین بیشترین درصد زالوهای جوان قرار گرفته در فضای خارج از آب تانک ها متعلق به تیمار G_1 و کمترین درصد آن متعلق به تیمار G_5 بود ($P<0/05$). در جدول شماره ۲ وضعیت شاخص های حرکتی زالوهای جوان پزشکی نشان داده شده است. همان طور که در جدول آمده است کمترین درصد زالوهای بدون حرکت در تیمار G_1 (۶۹/۴۸±۱/۰۸) و بیشترین درصد در تیمار G_5 (۹۸/۵۱±۰/۰۲) مشاهده گردید. در رابطه با حرکات تنفسی نیز، گروه G_1 بیشترین درصد را به خود اختصاص داد، در حالی که کمترین درصد زالوها در رابطه با این شاخص در گروه های G_2، G_3 و G_5 ثبت شد. در نهایت بررسی زالوهای در حال شنا نشان داد که بیشترین درصد آن متعلق به تیمار G_6 و کمترین درصد مربوط به تیمارهای G_1 و G_2 می باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

Little و همکاران نشان دادند که سنجش پاسخ های رفتاری می تواند شاخص مناسبی برای آلودگی های تحت کشنده محیط های آبی باشد و به طور موفقیت آمیزی در ارزیابی زیستی یا پیش بینی آثار مواد شیمیایی خطرناک روی جمعیت های طبیعی استفاده شود(۱۰). تعیین شرایط بهینه نگهداری، عاملی کلیدی برای تکثیر و پرورش موفق زالو می باشد. متاسفانه، با وجود استفاده گسترده از زالو در طب، صنایع دارویی و آرایشی، مرور تحقیق های انجام شده نشان می دهد که اطلاعات در مورد زیست شناسی و رفتار زالوی پزشکی پرورشی، در کارگاه های تکثیر و پرورش بسیار محدود و در برخی موارد ناموجود می باشد (۲۵).

جدول ۱-پراکنش زالوهای جوان در تانک های نگهداری طی ٦ روز دوره آزمایش

پراکنش در تانک / تیمار	کف تانک ٪	ستون آب ٪	خارج از آب ٪
G_1	۵۵/۴۵±۰/۴۶ f	۱۱/۶۳±۰/۵۹ abcd	۳۲/۹۳±۰/۹۸ a
G_2	۸۳/۱۱±۰/۳۸ b	۸/۸۸±۰/۰۶ cd	۸/۰۱±۰/۴۲ e
G_3	۸۲/۱۲±۰/۴۶ b	۸/۸۲±۰/۴۹ d	۹/۰۷±۰/۳۸d e
G_4	۸۲/۸۰±۰/۳۷ b	۹/۷۹±۰/۳۷ cd	۷/۴۱±۰/۰۳ e
G_5	۸۷/۸۲±۰/۱۲ a	۸/۵۴±۰/۰۷ bcd	۳/۶۳±۰/۱۹ f
G_6	۷۵/۲۵±۰/۸۱ d	۱۳/۰۷±۰/۶۰ abc	۱۱/۶۸±۰/۲۴ bc
G_7	۷۲/۹۶±۰/۳۲ c	۱۱/۳۱±۰/۳۵ bc	۱۱/۷۳±۰/۱۷ cd
G_8	۷۲/۸۸±۰/۰۸ e	۱۳/۸۶±۰/۱۸ a	۱۳/۲۷±۰/۱۱ b

میانگین ±SE سه تکرار، داده هایی در ستون ها که فاقد حرف لاتین مشترک هستند دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P ۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تغییرات حرکتی لارو زالوی پزشکی اروپایی در تانک های نگهداری طی ٦ روز دوره آزمایش

فعالیت حرکتی / تیمار	بدون حرکت ٪	حرکات تنفسی ٪	در حال شنا ٪
G	۶۹/۴۸±۱/۰۸^{f}	۳/۴۸±۱/۱۰^{a}	۰/۰۴±۰/۰۳^{c}
G	۹۸/۷۴±۰/۱۰^{b}	۰/۹۳±۰/۰۴^{f}	۰/۳۳±۰/۱۳^{bc}
G	۹۸/۶۷±۰/۲۵^{b}	۰/۸۰±۰/۱۹^{def}	۰/۵۲±۰/۱۱^{b}
G	۹۷/۴۳±۰/۰۳^{b}	۲/۰۹±۰/۰۵^{cd}	۰/۴۸±۰/۰۸^{b}
G	۹۸/۵۱±۰/۰۲^{a}	۱/۰۴±۰/۰۷^{ef}	۰/۴۴±۰/۰۶^{b}
G	۹۴/۹۸±۰/۱۷^{cde}	۴/۱۶±۰/۱۸^{b}	۰/۸۶±۰/۱۹^{a}
G	۹۵/۹۱±۰/۲۶^{cd}	۳/۵۴±۰/۲۴^{bc}	۰/۵۶±۰/۰۹^{ab}
G	۹۴/۸۲±۰/۲۴^{de}	۴/۶۰±۰/۱۸^{b}	۰/۵۹±۰/۰۶^{ab}

میانگین ±SE سه تکرار، داده هایی در ستون ها که فاقد حرف لاتین مشترک هستند دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

البته یکی از مهم ترین دلایل آن اهمیت اقتصادی این گونه های با ارزش است که مانع از انتشار دستاوردهای علمی و تجربی در این زمینه می گردد. زالوهای جوان پزشکی حیوانات مناسبی جهت بررسی تغییرات فعالیت حرکتی هستند، زیرا آن ها در طول هفته های اول پس از خروج از پیله تقریبا بی حرکتند و پس از اضافه نمودن برخی مواد شیمیایی شروع به حرکت می نمایند. بنابراین، تشخیص تغییر در فعالیت حرکتی آن ها آسان می باشد(۱۵). فعالیت حرکتی و اجتناب و فرار از آب های آلوده به عنوان پاسخ دفاعی حیوانات محسوب می گردد، به طوری که مطالعات نشان می دهد تغییر در فعالیت حرکتی و فرار از آب به عنوان پاسخ های اصلی در زالوهای در معرض آلودگی های مختلف می باشد(۱۷، ۱۶، ۹، ۶). به علاوه، واکنش خروج از آب در زالوهای نگهداری شده در شرایط عادی و بدون آلودگی با مواد شیمیایی نیز در اثر کاهش اکسیژن مشاهده گردیده است(۱۵). در مطالعه های قبلی نشان داده شده است که در شرایط طبیعی، زالوها تمایل زیادی به استراحت و عدم تحرک در کف مخزن نگهداری دارند(۲۱، ۱۱). طبق نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، در شاخص های اصلی پراکنش و فعالیت حرکتی در مخزن نگهداری هم چون قرارگیری در کف مخزن و یا بالای سطح آب، عدم تحرک و حرکات تنفسی بین تیمار شاهد و تیمارهای مربوط به سیستم مداربسته(حتی در تراکم های بالا مثل ۱۰۰ و ۱۱۰ عدد زالو در هر تانک) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. علت اصلی این تفاوت، کاهش اکسیژن محلول در آب در تیمار شاهد، تقریباً چند ساعت پس از تعویض آب و هم چنین کاهش کیفیت آب در اثر دفع مواد متابولیتی و به تبع آن افزایش ترکیبات آمونیاکی در آب می باشد. یکی از اثرهای تراکم بالای پرورش زالو، مسمومیت توسط ترکیب های متابولیتی خود افراد است. در این حالت رنگ آب به صورت زرد متمایل به سبز و قهوه ای بوده و زالوها حالت تهاجمی پیدا می کنند و پدیده هم جنس خواری(بیشتر به صورت تغذیه از خون ذخیره ای در بدن میزبان) بروز می نماید. بنابراین توصیه گردیده است که در چنین شرایطی تراکم از ۲۰ عدد در تانک های سه لیتری متجاوز نگردیده و مجموع وزن آن ها هم از ۹۰ تا ۱۰۰ گرم بیشتر نباشد(۲۱). در مطالعه حاضر اگر چه تغییر رنگ آب بر اثر مواد دفعی صورت گرفت، ولی رفتار تهاجمی و هم جنس خواری مشاهده نگردید که شاید علت آن مدت زمان کوتاه دوره نگهداری و هم چنین وزن پایین زالوها بوده است. با توجه به نتایج به دست آمده، تیمار G_5 با تراکم ۸۰ عدد زالو در هر تانک، بهترین وضعیت را در شاخص های مورد بررسی نشان داد. به نظر می رسد که این تفاوت نسبت به تیمارهای با تراکم پایین تر، مربوط به خصوصیت رفتاری زالوها بوده و آن ها رفتار تجمعی را ترجیح می دهند. به طوری که در مطالعه حاضر مشاهده

www.SID.ir

Archive of SID

گردید که آن ها در شرایط طبیعی به صورت دسته جمعی و خوشه ای در کف آب به استراحت می پردازند. بروز روند نزولی در شاخص هایی مثل درصد زالوهای در حال استراحت در کف آب و عدم تحرک و افزایش حرکات تنفسی و فرار از آب با افزایش بیش از حد تراکم در تیمارهای با تراکم ۹۰ تا ۱۱۰ عدد زالو در هر تانک ممکن است به علت رقابت بر سر فضا و یا کاهش نسبی کیفیت آب باشد. با توجه به ثبت تغییرات حاد در خصوصیات رفتاری زالوهای پزشکی جوان در سیستم ایستایی در مقایسه با سیستم مداربسته پرورش در این مطالعه، به نظر می رسد در بلند مدت، تغییر در فیزیولوژی تغذیه و متعاقباً تغییر در شاخص های رشد زالوها به عنوان پاسخ های ثانویه بروز نمایند. بنابراین، ممکن است سیستم مدار بسته گزینه مناسب و مقرون به صرفه ای جهت جایگزینی با روش قدیمی، برای پرورش متراکم زالو باشد. در هر صورت، جهت دستیابی به نتایج روشن-تر و تعیین بهترین تراکم پرورش، مطالعات بلند مدت و بررسی شاخص های رشد و کیفی زالوهای پزشکی *H. medicinalis* توصیه می گردد. Petrauskiene(۲۰۰۳) نشان داد که پاسخ های اجتنابی (فرار از آب)، تغییر در فعالیت حرکتی و شکل بدن در *H. medicinalis* طی ۲ ساعت قرارگیری در معرض آب و رسوبات حاوی ترکیبات مختلف فلزات سنگین بروز می نمایند و پیشنهاد نمود که این پاسخ ها می توانند به عنوان روشی سریع جهت ارزیابی آلودگی حاد آب و رسوبات، به کار گرفته شوند. در مطالعه مذکور، اختلال در فعالیت تغذیه-ای بعد از ۱-۳ هفته ثبت گردید، بنابراین پیشنهاد شد که این پاسخ می تواند جهت ارزیابی سمیت مزمن محیط-های آلوده استفاده شد. در غالب موارد، پاسخ های رفتاری که پس از قرارگیری در معرض آلودگی های کوتاه مدت بروز می نمایند توسط تغییرات جدی در فعالیت تغذیه ای حیوانات(اختلال و یا سرکوب شدن کامل فعالیت تغذیه ای) ادامه می یابد(۱۵). در سایر مطالعات، پاسخ معنی دار اجتناب از آب، افزایش فعالیت حرکتی و تغییر در شکل بدن، اختلالات تغذیه ای، از دست دادن وزن بدن و بروز اختلال در دستگاه دفعی و نفریدی ها، پس از قرارگیری زالوها در معرض نفت خام و ترکیبات نفتی، فنول، برخی مواد شیمیایی و فلزات سنگین مشاهده گردید(۱۷، ۱۶، ۹، ۶).

منابع

1.Blackshaw, S.E., Nicholls, J.G. (1995). Neurobiology and development of the leech. J Neurobiol, 27(3); 267–76.

2.Elliott, J.M., Kutschera, U. (2011). Medicinal leeches: historical use, ecology, genetics, and conservation. Freshw. Rev, 4; 21–41.

3.Flerov, B.A. Ekologo-fiziologicheskije aspekty toksikologii presnovodnych zhyvotnych [Ecological and physiological aspects of toxicology of aquatic animals]. Leningrad: Nauka; 1989 [In Russian].

4.Huguet, G., Molinas, M. (1992). Changes in epithelial cells in Hirudo medicinalis during wound healing. J Invertebr Pathol, 59; 11–7.

5.Huguet, G., Molinas, M. (1996). Myofibroblast-like cells and wound contraction in leech wound healing. J Exp Zool, 275; 308–16.

6.Kazlauskien , N., Svecevi ius, G., Petrauskien , L., Vosylien , M.Z. (2010). Behavioural Responses of Medicinal Leech and Rainbow Trout Exposed to Crude Oil and Heavy Fuel Oil in Ontogenesis. Polish J. of Environ. Stud, 19 (2); 429-433.

7.Komaniev, U.A. Komaniev, O.U. (2003). Vam pomojet pijavka. Prakticheckoje poukovodcva po giroudoteropii [leech helps you. Practical guide for hirudotherapy]. Saint Petersburg, Publisher: All Year, 252.

8.Kristan Jr, W.B., Weeks J.C. (1983). Neurons controlling the initiation, generation and modulation of leech swimming. In: Roberts A., and Roberts B., editor. Neural origin of rhythmic movements. Soc Exp Biol Symp., vol. 37. Cambridge: Cambridge Univ Press, 243–260.

9.Lapkina, L.N., Flerov, B.A., Chalova, I.V., Jakovleva, I.I. (1987). Isspolzovanije povedencheskich reakcij molodi pijavki Hirudo medicinal. dla biotestirovanija [Behavioural

www.SID.ir

Archive of SID

responses in the young leech Hirudo medicinal. as a tool for biotest]. Voprosy sravnitelnoi fiziologiii I vodnoi toksikologii [Comparative physiology and aquatic toxicology]. Jaroslavl: University of Jaroslavl, 11–7 [in Russian].

10. Little, E.E., Fairchild, J.F., Delonay, A.J. (1993). Behavioural methods for assessing impacts of contaminants on early life stage fishes. Fisheries Society Symposium, 14; 67.

11. Mihajlov, S.V., Kustov, S.J.u., Jaroshenko, V.A. (2006). Sezonnaja i sutochnaja dinamika aktivnosti medicinskoj pijavki v akvatorijah Krasnodarskogo kraja (*Hirudo medicinalis* L.) [Seasonal and daily dynamics activity of medical leeches in waters of the Krasnodar Territory (*Hirudo medicinalis* L.)] Fundamental'nye issledovanija [fundamental research], 3; 21-24.

12. Nicholls, J.G., Martin, A.R., Wallace, B.G. (1992). From neuron to brain. Massachusetts: Sinauer Associates, Sunderland.

13. Nikonov, G.I. (1998). Medicinskoj pijavka I ocnovije giroudoteropii [Medical leech and foundations of hirudotherapy] Saint Petersburg, Publisher: CDC; 320.

14. Petrauskien , L. (1987). Neuronal mechanism of electrotaxis. Acta Hydrobiol Litu, 6; 28– 36.

15. Petrauskiene, L. (2003). Water and sediment toxicity assessment by use of behavioural responses of medicinal leeches. Environment International, 28; 729–736

16. Petrauskiene, L. (2004). The medicinal leech as a convenient tool for water toxicity assessment. Environ Toxicol, 19 (4); 336-41.

17. Petrauskienë, L. (2005). Changes in behavioural and physiological indices of medicinal leech exposed to crude oil. Ekologija, 2; 1–5.

18. Phillips, A.J., Siddall, M.E. (2005). Phylogeny of the New World medicinal leech family Macrobdellidae (Oligochaeta: Hirudinida: Arhynchobdellida). Zool Scripta, 34 (6); 559–564.

19. Rand, G.M. (1985). Behaviour. In: Rand, G.M., Petrocelli, S.R., editors. Fundamentals of aquatic toxicology. New York: Hemisphere Publishing; 221– 62.

20. Rassadina, E.V. (2006). Ecravnitelnije aspekty povedenia Hirudo medicinalis podvidov officinalis i orientalis pri kormlenii [Comparative behavioral aspects of *Hirudo medicinalis* subspecies: officinalis and orientalis at feeding] Actual problems of veterinary medicine, biology and ecology, 299-303.

21. Rassadina, E.V. (2006). Jekologicheski obosnovannaja biotehnologija vosproizvodstva *Hirudo medicinalis* L. v laboratornyh uslovijah [ecologically based of reproduction biotechnology of *Hirudo medicinalis* L. under laboratory conditions] (dissertation). Ulyanovsk University.

22. Sawyer R.T. (1986). Leech biology and behavior. New York, Oxford University Pres.

23. Sineva, M.V. (1944). Biologicheskie nabljudenija nad razmnozheniem medicinskoj pijavki [Biological observations on the breeding of the medicinal leech] Zoologicheskij zhurnal [Zoological Journal], 28(3); 213-224.

24. Stanowski, D.N. (2003). Medicinskoj pijavka. Kerovopouckanije [Medical leech. bloodletting] Donetsk: Publisher; AST. "Stalker", 125 .

25. Wells, S.M., Pyle, R.M., Collins, N.m. (1983). the iucn invertebrate Red Data Book. IUCN, The World Conservation Union. Cambrige, UK.

26. Yousefi chahardehi, M., Nikishov, A.A., Abtahi, B.A. (2015). Comparative behavioral evaluation of the medicinal leech (Hirudo medicinalis) under different containing regime. Bulletin of Peoples, Friendship University of Russia, 2; 81-87. (In Russian).

27. Zapkuviene, D., Petrauskiene, L. (2000). Medicinal leech: anatomy, physiology, ecology // Vilnius: Institute of Ecology.

28. Zhang, B., Lin, Q., Lin, J., Chu, X., Lu, J. (2008). Effects of broodstock density and diet on reproduction and juvenile culture of the leech, Hirudinaria manillensis Lesson, 1842. Aquaculture, 276; 198-204.

29. Zharov D. G. (2003). Sekrety girudoterapii, ili kak lechit'sja pijavkami[Secrets of the hirudotherapy, or how to be treated with leeches]. Rostov-on-Don: Publisher; Feniks, 320.

www.SID.ir