Archive of SID

فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۵۱، جلد ۱۳، شماره ۴، پاییز ۹۹، صفحه ۳۹ تا ۴۸
Qiaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

تأثیر دو محیط آب – خزه و خاک پیت ماس بر تعداد کوکون گذاری، وزن کوکون و تعداد تلفات زالوی شرقی (Hirudo orientalis)

حمیدرضا بیدمال[۱]، محمد سوداگر[۲]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. bidmal@gau.ac.ir
۲-دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۹/٤/۲۳ تاریخ پذیرش:۹۹/٦/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر، زالو در درمان برخی از بیماری‌ها، استخراج بسیاری از آنزیم‌ها و مواد موثر در درمان بیماری‌ها، مورد استفاده قرار گرفته است. این تحقیق به منظور تاثیر دو محیط آب-خزه و خاک پیت ماس بر تعداد کوکون¬گذاری، وزن کوکون¬ها و تلفات در زالوی مولد شرقی است.

روش کار: بدین منظور ۳۰۰ قطعه زالوی مولد به مدت ٤٥ روز در ٦ تیمار و هر تیمار ۳ تکرار: تیمار(۱) ۱۰قطعه زالو در محیط آب-خزه، تیمار(۲) ۱۵ قطعه زالو در محیط آب-خزه، تیمار(۳) ۲۵ قطعه زالو در محیط آب-خزه، تیمار(٤) ۱۰ قطعه زالو در خاک، تیمار(۵) ۱۵ قطعه زالو در خاک، تیمار(٦) ۲۵ قطعه زالو در خاک تقسیم شدند. زالوهای مولد در محیط آب-خزه در وان‌های حاوی ۵۰ لیتر آب شهری بدون کلر در دمای ۲۸-۲۷ درجه سانتی¬گراد نگهداری شدند. خزه¬ها ۲ مرتبه در هفته کنترل و کوکون‌های داخل خزه¬ها جمع¬آوری شدند. زالوهای مولد در محیط خاک پیت ماس در ظروف پلاستیکی ۱۰ لیتری نگهداری شدند. خاک پیت‌ماس هفته ای ۳ مرتبه بررسی و جهت حفظ رطوبت آب پاشی و کوکون‌های داخل خاک پیت ماس جمع آوری و نگهداری شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد تعداد کوکون‌های تولید شده در محیط آب-خزه و خاک پیت ماس تفاوت معنی داری با یک‌دیگر نداشتند(p>۰/۰۵). وزن کوکون های تولید شده در دو محیط اختلاف معنی داری با یک دیگر نداشتند(p>۰/۰۵). هم چنین تعداد تلفات زالوهای مولد در دو محیط دارای اختلاف معنی داری با یکدیگر نبود(p>۰/۰۵).

نتیجه گیری: با توجه به یافته های تحقیق پیشنهاد می گردد با توجه کمبود آب در کشور و کاهش هزینه های تولید در دوران تکثیر زالوهای مولد داخل خاک پیت ماس نگهداری شوند.

واژه های کلیدی: آب-خزه، خاک پیت ماس، کوکون گذاری، تلفات، زالوی شرقی.

مقدمه

کاربرد زالو و زالو درمانی در طب سنتی تاریخچه طولانی دارد و از چندین قرن قبل از میلاد مسیح جهت خونگیری(phlebotomy) وجود داشته و سوابق آن در روم باستان، یونان، هند و چین به اثبات رسیده¬است(۷). چندین بررسی در مورد تاریخچه زالو وجود دارد(۱۴،۳۰۳۶،۳۸). اوج زالو درمانی در قرن ۱۹میلادی بوده است. پزشکان فرانسوی بیشترین استفاده از زالو را داشته اند و میزان واردات آن به فرانسه در سال های ۱۸۲۴ تا ۱۸۴۳ بین ۱۹میلیون تا ۵۷ میلیون متغیر بوده است. این عدد در بریتانیا ۷ میلیون قطعه زالو در بیمارستان های لندن در سال ۱۸۶۳ ثبت شده¬است(۷). در سال های اخیر استفاده از زالو در امور پزشکی و درمانی در حال افزایش است(۲،۳). به عنوان مثال زالوی هیرودو مدیسینالیس توسط جراحان پلاستیک برای ترمیم رگ¬ها در بافت های پیوندی که گردش خون در آن¬ها یک مشکل است، استفاده می شود (۱۵،۳۴،۳۵،۳۶،۴۱). زالوها برای کاهش تورم بعد از جراحی پلاستیک استفاده می شوند و آن ها تنها منبع قدرتمند ضد انعقاد هیرودین هستند(۷). در

www.SID.ir

Archive of SID

بزاق زالو آنزیم‌های هیرودین، اگلین، بدلین و هیستامین به عنوان گشادکننده عروق مشاهده شده است(۷). کشف هیرودین در سال ۱۸۸۴ به عنوان ماده ضد انعقاد خون در بزاق زالو، منجر به افزایش محبوبیت زالو شد(۸). زالوها ارگانیسم‌های ضروری اکوسیستم آبی هستند. در سراسر جهان ۶۵۰گونه از زالو شناسایی شده است(۸). در اکوسیستم‌های آب شیرین، رودخانه و دریا زندگی می¬کنند(۱۳). در سال‌های اخیر برخی از جمعیت‌های زالو به دلیل سوء استفاده بیش از حد برای ماهیگیری(به عنوان طعمه)، اهداف دارویی و آلودگی آب ها به طرز چشمگیری کاهش یافته است (۵،۳۰،۳۳،۳۶،۳۸). زالو به طور گسترده به عنوان یک حیوان مدل در مطالعات سم شناسی، فیزیولوژیکی، عصبی، بیوشیمیایی و بافت شناسی استفاده می شود(۴۲، ۳۹، ۳۷، ۳۳، ۸). چندین عامل در پخش و توزیع زالو در محیط های آب شیرین مانند عمق آب، سختی آب، اکسیژن محلول، ماهیت بستر، کدورت و شوری موثر می باشد(۳۷ ،۲۲). زالوها موجوداتی هرمافرودیت بوده و جهت جفت‌گیری به زالوی دیگری نیاز داشته تا اسپرم خود را منتقل نماید(۳۷). دارای دو بادکش در ابتدا و انتهای بدن خود می‌باشند. زالو ها با کمک بادکش انتهایی جایگاه خود را ثابت و با کمک بادکش ابتدایی نقطه موردنظر را چسبیده و با سه ردیف آرواره خود برشی را ایجاد و خون میزبان را می‌مکند. زالوهای نوجوان در محیط طبیعی اولین وعده غذایی خود را از دوزیستان مصرف می کنند در حالی که وعده‌های غذایی بعدی را از دوزیستان، ماهی ها و یا پستانداران به دست می¬آورند(۲۷). در تکثیر و پرورش صنعتی عمدتاً زالوها از خون گاو، گوسفند، بز، شتر تغذیه می‌شوند و جهت جلوگیری از لخته شدن خون از هپارین سدیم استفاده می‌گردد. در خلال مصرف خون زالو انقباضات هماهنگ ماهیچه‌ای را به کار برده تا خون را داخل چینه‌دان بکشاند(۳۷ ،۲۰). زالو جهت هضم و جذب غذا نیاز به باکتری همزیست آئروموناس دارد. آئروموناس یک باکتری گرم منفی و بی‌هوازی اختیاری بوده که سه کار مهم و اساسی شامل ترشح آنتی‌بیوتیک جهت جلوگیری از رشد دیگر باکتری‌ها(۳۷)؛ تولید ویتامین‌های گروه(B)(۵،۴۰) وتولید آنزیم‌هایی که در هضم غذا نقش دارند(۳۷) را انجام می دهد. وضعیت جغرافیایی و توپولوژی به دست آمده یک رابطه خواهری بین گونه هیرودو اورینتالیس و هیرودو مدیسینالیس را نشان می دهد(۲،۳۹). گونه هیرودو اورینتالیس ناحیه پشت سبز چمنی و دارای نقاط پشتی سیاه گرد و یا چهار گوش است در حالی که در گونه هیرودو مدیسینالیس نقاط پشتی دراز و کشیده هستند. الگوی رنگ آمیزی ناحیه شکمی در گونه هیرو اورینتالیس منظم و بر روی یک پس زمینه عمدتاً سیاه قرار می گیرند، در حالی که رنگدانه‌های شکمی در گونه هیرودو مدیسینالیس به صورت الگوی نامنظم و اصطلاحاً جزیره ای پخش شده اند(۳۹). زالوها(clitellates) به وسیله ناحیه کلایتلومی قابل شناسایی و تشخیص هستند. ساختار این ناحیه ناپایدار بوده و برآمدگی و برجستگی در آن به عنوان بلوغ جنسی سیستم تولید مثلی ماده عنوان می شود(۲۱،۲۲). در گونه هیرودو مدیسینالیس ناحیه کلایتلومی شامل ۱۵ حلقه است(۲۴). در حالت غیر تولید مثلی، سلول‌های غده ای ناحیه کلایتلومی به ندرت از سلول‌های معمولی غشایی قابل تشخیص می باشند(۹،۱۹). در خلال فصل تولیدمثلی سایز و محتوای ترشحی این سلول¬ها بسیار افزایش یافته، تا اندازه ای که کلایتلوم به شکل ناحیه خارجی قابل رویت می شود(۱۱،۲۲). در اکثر گونه‌های زالو ۴ نوع سلول غددی در ناحیه کلایتلومی در تشکیل کوکون نقش دارند(۲۲). Vinkier و Malecha(۱۹۸۳) این سلول ها را از طریق محتوای ترشحی و توزیع در سلول‌های عصبی بدن زالو تشخیص دادند. از لحاظ شیمیایی کوکون حاوی پروتئینی شبیه به کراتین بوده و در ساختار آن کیتین و

www.SID.ir

Archive of SID

کلاژن موجود نمی باشد. کوکون دارای خاصیت الاستیک و کشسانی است و حالت اولیه خود را حفظ می¬کند(۳۷). زالو توسط غدد ترشحی ناحیه کلایتلومی داخل کوکون آلبومین ترشح می کند تا زالوها پس از خروج از تخم از آن تغذیه کنند(۳۷). در مدت فرآیند تولید مثل زالوی مولد ناحیه کلایتلوم خود را بر روی خاک قرارداده و کوکون را ترشح می کند. کوکون یک کیسه نرم و بی رنگ است و معمولاً دارای ۱۰ عدد تخم است که در داخل محلول غذایی چسبناک قرار می گیرد(۱). اجزا کوکون ها از غدد های تخصص یافته واقع در بخش داخلی قسمت های جنسی(Clitellar) رها می-شوند. سپس غشا کوکون از سر زالو خارج و هر دو انتهای آن بسته می شود(۲۶). زالو کمربند پر از کف سفید رنگی را در ناحیه کلایتلومی خود ترشح می کند. سپس کوکون را در وسط آن کف قرار می دهد. آن کف سفید رنگ به مرور زمان سفت و تبدیل به غشا اسفنجی اطراف کوکون می شود(۲۹). کوکون های تازه تولید شده در ۳ الی ۵ روز ابتدایی انعطاف پذیر بوده و به تدریج بر اساس رشد جنین و مصرف آلبومین روزنه‌های هوایی در داخل کوکون ایجاد می شود و بعد از ۱۰ روز درپوش کوکون شروع به باز شدن می کند(۲۹). در مدت فرآیند تولید مثل زالوهای مولد کوکون های‌ی را ترشح می کنند که از تخم های در حال رشد محافظت می کند(۳۷). جنین ها بعد از خروج از تخم وابسته به مایع آلبومین داخل کوکون هستند و بعد از خروج از کوکون مستقل از کوکون هستند(۲۷). زالو کوکون های حاوی چند تخم را در حد فاصل آب و خشکی می گذارند(۳۸). برخی زالوها پیله های خود را که دارای پوشش بیرونی سخت هستند، در میان خزه، برگ یا هوموس به عنوان محافظت از شکارچیان قرار می-دهند(۳۷). زالوها خاک مرطوب خارج از آب و یا مکان های‌ی در مناطق ساحلی را جهت کوکون گذاری ترجیح می دهند(۳۷). زالوی شرقی در باروری گرایش به خشکی داشته و در حاشیه آب‌بندان‌ها، روی چوب و خزه بعد از جفت‌گیری و انتقال اسپرم و در صورت ایجاد شرایط بهینه کوکون گذاری می کند. نوزادان خارج از کوکون، مستقل از والد خود بوده و ممکن است به دلیل رژیم غذایی متفاوت میزان بقا و رشد متفاوتی داشته باشند(۳۱،۳۷). در ایران معمولاً تکثیر زالو و کوکون گذاری در بستر خزه-آب انجام می شود. خزه‌ها گیاهانی هستند که معمولاً در محیط های مرطوب و جنگل ها می رویند. تخته سنگ ها، تنه درختان در نقاط مردابی و جنگلی معمولاً پوشیده از خزه است. خزه ها امکان نگهداری رطوبت را در خود دارند و به همین دلیل در تکثیر زالو از آن ها استفاده می شود. در سال های اخیر با توجه به کمبود آب، افزایش هزینه آب و علاقه مندی به پرورش زالو در مناطق کم آب توجه به تکثیر دربسترهای‌ی مانند خاک پیت ماس که مصرف آب به مراتب کمتری دارند، بیشتر شده است. خاک پیت ماس بقایای نوعی خزه و جلبک است و تا چندین برابر وزن خود آب جذب می کندو pH خنثی دارد. خاک پیت ماس عمدتاً وارداتی بوده و از کشورهایی مانند هلند، روسیه، آلمان و استونی به ایران وارد می شود. کثیر و پرورش زالو برای اهداف پزشکی و تجاری از پتانسیل بالایی در دنیا برخوردار است(۱). البته در ایران نیز تکثیر و پرورش زالو با همین اهداف انجام می شود. به طوری که در سال های اخیر تکثیر و پرورش زالو در ایران با سرعت در حال رشد و پیشرفت می باشد؛ لذا پیدا کردن راه کارهایی که به تولید هر چه بهتر و با هزینه کم تر به پرورش دهندگان کمک کند، در این راستا ارزشمند است. در این بررسی، مقایسه تاثیر دو محیط متفاوت آب-خزه و خاک پیت ماس بر میزان کوکون گذاری، وزن کوکون و تعداد تلفات زالوی مولد هیرودو اورینتالیس مورد ارزیابی قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش ها

این پژوهش در کارگاه شرکت ارمغان سلامت آوید در روستای کریم آباد ایلوار از اوایل اردیبهشت سال ۹۷ ۱۳لغایت ۱۵ خرداد۱۳۹۷ به انجام رسید. بدین منظور تعداد ۳۰۰ قطعه زالوی مولد در سالنی به ابعاد ۸۰ متر مربع در ۶ تیمار با تعداد ۱۰قطعه، ۱۵ قطعه و ۲۵ قطعه زالو و هر تیمار ۳تکرار در دو محیط متفاوت آب – خزه و خاک پیت ماس قرارگرفتند. تیمار ۱۰قطعه زالو در محیط آب-خزه(تیمار۱)، تیمار ۱۵قطعه زالو در محیط آب-خزه(تیمار۲)، تیمار ۲۵قطعه زالو در محیط آب-خزه(تیمار۳)، تیمار ۱۰قطعه زالو در خاک(تیمار۴)، تیمار ۱۵قطعه زالو در خاک(تیمار۵)، تیمار ۲۵قطعه زالو در خاک(تیمار۶) مشخص شدند. متوسط وزن زالوهای مولد ۰/۹۰ ± ۵/۸۰ بود. سن زالوهای مولد حدود یک سال و همگی طی ۹ مرحله از خون تازه گوسفند تغذیه شده بودند. دمای آب جهت رشد، نگهداری و جلوگیری از تلفات زالوها ۱۸درجه سانتی گراد بود. جهت آماده سازی محیط آب – خزه، ۹عدد وان به ابعاد ۱۱۰×۹۰×۲۵ به میزان ۵۰ لیتر آب شهری بدون کلر با دمای ۲۸-۲۷ درجه سانتی گراد پر شد. آب وان ها یک روز در میان به میزان ۵۰ درصد تعویض گردید(۴۴). جهت از بین بردن کلر آب، آب شهری مورد استفاده مدت ۴۸ ساعت در مخزن ۲ هزار لیتری نگهداری شد. پارامترهای کیفی آب از قبیل اکسیژن محلول در آب، pH، شوری و دما به صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شدند. دما، pH و اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه دیجیتالی (Horiba U10, Japan) اندازه گیری شد. میزان آمونیاک کل آب بر اساس روش (Verdouw et al. 1978) اندازه گیری شد. جهت هم دمایی آب مخزن به ابعاد ۲ هزار لیتر در سالن تعبیه گردید. جهت جلوگیری از فرار زالوها روی وان با توری پلاستیکی پوشیده و به مدت ۷۲ ساعت جهت آداپتاسیون زالوها در نظرگرفته شد. بعد از آداپتاسیون در هر وان دو عدد سبد خزه گذاشته و در طی مدت کوکون-گذاری هفته ای دومرتبه خزه ها به آرامی کنترل و کوکون ها از داخل خزه¬ها جمع آوری و درون بستری از خزه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰روز نگهداری شدند(۲۹،۴۴). جهت آماده سازی محیط خاک پیت¬ماس ۲۰کیلوگرم خاک پیت ماس از شرکت صنعت سبز آسمان خریداری گردید. خاک پیت ماس را در لگن ریخته و به ازای هر ۱کیلوگرم خاک پیت ماس یک لیتر آب ریخته و مخلوط شدند. سپس خاک پیت ماس به شکل گلوله در داخل ظروف پلاستیکی ۱۰ لیتری تعداد ۱۰ عدد گلوله خاک پیت ماس قرار گرفت. دمای خاک پیت ماس ۲۸-۲۷ درجه سانتی گراد بود. رطوبت خاک پیت ماس هفته ای سه مرتبه چک شد. میزان رطوبت گلوله خاک در حدود ۷۰ تا ۷۵ درصد بود و با افزودن آب بدون کلر رطوبت آن ها حفظ و از خشک شدن آن¬ها جلوگیری شد(۲۵). هم زمان کوکون‌های تولید شده از داخل ظروف ۱۰ لیتری خارج و درون بستری از خاک پیت ماس در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند(۲۹،۴۴).

زیست سنجی و بررسی شاخص‌های رشد، وزن کوکون¬ها و بازماندگی زالوها

اندازه¬گیری وزن زالوهای مولد در ابتدای دوره و وزن کوکون¬ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم انجام شد. متوسط وزن زالوهای مولد ۰/۹۰±۵/۸۰ گرم بود. متوسط وزن لاروها ۰/۰۱±۰/۲ گرم بود. اندازه‌گیری لاروها با استفاده از خط کش با دقت ۱میلی متر انجام شد. متوسط اندازه لاروها ۴±۱۵ میلی متر بود. هم چنین میزان بازماندگی زالوها با مقایسه تعداد آن‌ها در انتهای دوره به دست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ی ۱۶ از آنالیز واریانس یک طرفه و به منظور تعیین اختلاف معنی داری در صورت موجود بودن(بین

www.SID.ir

Archive of SID

میانگین ها، از آزمون تفکیکی دانکن در سطح احتمال۰/۰۵=α)صورت گرفت.

نتایج

در بررسی به عمل آمده(جدول۱) میانگین تعداد کوکون بین تیمار ۱(۱۰قطعه زالو در محیط آب-خزه) و تیمار ۴(۱۰قطعه زالو در محیط خاک پیت¬ماس) اختلاف معنی داری وجود نداشت(p>۰/۰۵). در تحقیق انجام شده تعداد کوکون تولید شده در دو تیمار ۲ و ۵ با توجه به اختلاف در محیط کوکون¬گذاری دارای اختلاف معنی¬داری نبود(p>۰/۰۵). در بررسی‌های به عمل آمده(جدول۱) تیمار ۳ با ۲۵قطعه زالو در محیط آب-خزه و تیمار ۶ با ۲۵ قطعه زالو در محیط خاک اختلاف معنی-داری مشاهده نشد(p>۰/۰۵). در پژوهش انجام شده میانگین تعداد لارو تولید شده در تیمار ۱(۱۰قطعه زالو در محیط آب-خزه) با تیمار ۴(۱۰قطعه زالو در محیط خاک پیت¬ماس) که از نظر تعداد باهم یرابر بودند، دارای اختلاف معنی داری نبود(p>۰/۰۵). در تحقیق انجام شده(جدول۱) میانگین تعداد کوکون تولید شده در تیمار ۲ و تیمار ۵ که از نظر تعداد زالو با یک‌دیگر برابر بودند ولی از نظر محیط کوکون گذاری با هم تفاوت داشتند و دارای اختلاف معنی داری نبودند(p>۰/۰۵). در تحقیق انجام شده و طبق جدول ۱ میانگین تعداد لارو تولید شده در دو تیمار ۳ و ۶ دارای اختلاف معنی داری با یک‌دیگر نبود(p>۰/۰۵). در پژوهش انجام شده تعداد کوکون تولید شده(محیط آب-خزه) در تیمار ۳(۲۵قطعه زالو) دارای اختلاف معنی داری با تیمار ۲(۱۵ قطعه زالو) و تیمار۱(۱۰ قطعه زالو) بود(p<۰/۰۵)؛ اما اختلاف معنی داری بین تیمار ۱ و ۲ مشاهده نشد(p>۰/۰۵).

در تحقیق انجام شده تعداد کوکون تولید شده(محیط خاک پیت ماس) در تیمار ۶(۲۵قطعه زالو) دارای اختلاف معنی داری با تیمار ۵(۱۵ قطعه زالو) و تیمار۴(۱۰ قطعه زالو) بود(p<۰/۰۵)؛ اما اختلاف معنی داری بین تیمار ۴ و ۵ مشاهده نشد(p>۰/۰۵). در بررسی‌های به عمل آمده(طبق جدول ۲) میانگین وزن کوکون ها در ۶تیمار اختلاف معنی داری با یک‌دیگر نداشتند(p>۰/۰۵). در بررسی‌های انجام شده(جدول۲) درصد بازماندگی زالوهای مولد در تیمارهای آب-خزه و خاک پیت ماس اختلاف معنی داری با یک‌دیگر نداشت(p>۰/۰۵).

جدول۱- تعداد کوکون و لاروهای به دست آمده از تیمارهای مختلف زالو گونه *هیرودو اورینتالیس*

متغیر	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥	تیمار٦
کوکون(تعداد)	۹ ± ۳/۵۱^{d}	۱۳ ± ۱/۷۷^{cd}	۲۰ ± ۱/۱۶^{ab}	۱۲ ± ۱/۵۳^{cd}	۱۶ ± ۱/۵۳^{bc}	۲۳ ± ۲/۰۸^{a}
لارو(تعداد)	۸۳/۳۳ ± ۳۳/۷۴^{c} (۹۵-۱۳۵-۲۰)*	۱۲۹ ± ۱۵/۲۳^{bc} (۱۲۲-۱۰۸-۱۵۹)*	۲۰۰ ± ۲۰/۰۷^{a} (۲۴۰-۱۸۰-۱۸۰)*	۱۱۷ ± ۱۸/۰۱^{bc} (۱۳۵-۸۱-۱۳۵)*	۱۶۵ ± ۲۴/۴۱^{ab} (۲۱۲-۱۵۳-۱۳۰)*	۲۲۳ ± ۱۶/۵۱^{a} (۲۳۹-۲۴۰-۱۹۰)*

حروف انگلیسی غیر مشترک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد(p<۰/۰۵)

*اعداد داخل پرانتز به صورت میانگین تکرارها می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲- میانگین وزن کوکون و درصد بازماندگی در تیمارهای مختلف زالو گونه *هیرودو اورینتالیس*

متغیر	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥	تیمار٦
وزن کوکون(گرم)	۱/۱۰ ± ۰/۰۵[a]	۱/۱۰ ± ۰/۱۱[a]	۱/۱۰ ± ۰/۰۵[a]	۱/۰۰ ± ۰/۰۵[a]	۱/۰۳ ± ۰/۱۴[a]	۱/۱۰ ± ۰/۰۵[a]
بازماندگی(درصد)	۸۸/۳۳ ± ۳/۳۳[a]	۷۵/۵۵ ± ۸/۰۱[a]	۸۴/۰۰ ± ۲/۳۰[a]	۸۰/۰۰ ± ۵/۷۷[a]	۷۳/۳۳ ± ۳/۸۵[a]	۸۲/۶۶ ± ۳/۵۲[a]

حروف انگلیسی غیر مشترک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد($p<0/05$).

بحث ونتیجه گیری

ترکیبات شیمیایی و محتوی انرژی خون میزبان، عملکرد تولید مثلی زالو و کوکون گذاری را تحت تاثیر می گذارد. این عوامل در رشد و بقای زالو نیز مهم و تاثیرگذار است(۳۶). Mcloughlin , Davies، (۱۹۶۶) نشان دادند زالو بعد از ۸ الی ۹بار تغذیه و به فاصله هر ماه یک بار و بعد از ۲۸۹ روز به بلوغ جنسی رسیدند و قابلیت تکثیر و تولید کوکون داشتند. زالوی مولد بعد از رسیدگی اسپرم در کیسه‌های اسپرمی و انتقال به اندام‌های جنسی، آماده جفت گیری و کوکون گذاری در فصل گرم می‌شود(۳۷). زالوی شرقی در باروری گرایش به خشکی داشته و در حاشیه آب‌بندان، روی چوب و خزه در صورت ایجاد شرایط بهینه کوکون گذاری می کند(۳۱). Ceylan و همکاران(۲۰۱۹) در یک مطالعه نشان دادند از مجموع ۹۳زالو مولد Hirudo verbena با وزن متوسط ۹۴/۰۶±۵/۱ در خاک پیت ماس تعداد ۱۲۶ کوکون در ۶۰ روز جمع آوری شد. در تحقیقی دیگر Ceylan و همکاران(۲۰۱۵) نشان دادند که از ۲۵ زالو با وزن متوسط ۹۱/۲۰±۶/۲ تعداد ۱۰۶ کوکون در خاک پیت ماس جمع آوری گردید.در مطالعه حاضر در دو محیط آب–خزه و خاک پیت ماس از مجموع ۳۰۰ قطعه زالوی مولد تعداد ۲۷۸ عدد کوکون جمع آوری شد. دلیل تفاوت در تعداد کوکون¬گذاری را می توان تفاوت در نوع گونه، تغذیه مولدین و روش نگهداری مولدین دانست. Zhang و همکاران(۲۰۰۸) نشان دادند زالوها در بالای خاک و در محیط مرطوب و خارج از آب کوکون گذاری می کنند. این مکانیسم مشابه کوکون گذاری در محیط طبیعی و مزارع برنج است. Elliot و Mann(۱۹۷۹) زالوی مولد گونه هیرودو مدیسینالیس در محیط‌های طبیعی و باتلاقی معمولاً در مکانی مرطوب و درست بالاتر از خط آب و در ساحل کوکون گذاری می کند. در کشور مالزی، تایلند و ویتنام زالوهای مولد جهت کوکون‌گذاری در محیط گل نگهداری می شوند(۴۴). زالو هنگام کوکون گذاری جهت تنفس به محیط مرطوب نیاز دارد. از طرفی کوکون تولید شده جهت جلوگیری از خشک شدن و از دادن رطوبت باید در محیط مرطوب نگهداری شود. Zulhisyam و همکاران(۲۰۱۱) جهت کوکون‌گذاری زالوهای مولد در محیط آب از خاک مرطوب با سیستم جزیره سازی در محیط پرورش استفاده کردند. آن¬ها جهت تغذیه زالوها از خون مارماهی و یک نوع خون دستی استفاده کردند. در تحقیق حاضر تعداد کوکون و وزن کوکون ها تولید شده در دو بستر آب–خزه و خاک پیت ماس در تراکم مشابه تفاوت معنی داری با یک‌دیگر نداشتند. علت آن را با توجه کوکون گذاری زالو در محیط مرطوب و خارج از آب و تا حدی تاریک، می توان تامین رطوبت لازم جهت تنفس و تبادل گازهای تنفسی زالو در هر دو بستر آب–خزه و خاک پیت ماس دانست. همچنین در این تحقیق تعداد لارو تولید شده در دو محیط آب–خزه و خاک پیت ماس در تراکم های مشابه اختلاف معنی داری با یک دیگر نداشتند و تفاوت در محیط تاثیری بر افزایش و یا کاهش تولید لارو نداشت. Ceylan و همکاران(۲۰۱۹) در تحقیقی بر روی زالوی مولد *Hirudo verbana* در محیط خاک پیت ماس به این نتیجه رسیدند تعداد ۲عدد زالوی مولد در هر لیتر تراکم مناسبی برای تکثیر زالو است. لازم به ذکر است آن ها زالوهای مولد را با خون تازه گاو تغذیه کرده بودند و زالوها به مدت ۴ ماه

www.SID.ir

Archive of SID

در دمای ۲۸-۲۷ درجه سانتی گراد محیط نگهداری شدند. Zhang و همکاران(۲۰۰۸) در یک مطالعه تعداد ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۵۰ قطعه زالوی مولد *Hirudinaria manillensis* در ۱۲۵ لیتر آب بدون کلر در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد جهت کوکون گذاری نگهداری و مشاهده کردند بالاترین تعداد کوکون تولید شده در تیمار ۵ قطعه زالوی مولد در هر لیتر آب بود. زالوهای مولد همگی از خون تازه و هپارینه گاو تغذیه شدند. Zulhisyam و همکاران(۲۰۱۱) در تحقیقی جهت به¬دست آوردن شرایط بهینه برای تکثیر زالوی مولد(Buffalo Leech) مخازن بتنی هزار لیتری را از آب بدون کلر پرکرده و تعداد ۱۰۰۰ زالو در آن رها کردند. آن¬ها جهت کوکون-گذاری از خاک(جزیره مرطوب) استفاده کردند.Mcloughlin , Davies، (۱۹۶۶) در مطالعه ای ۳۰عدد زالوی مولد *Hirudo medicinalis* را در ۳۰عدد آکواریوم ۵ لیتری که حاوی ۱ لیتر آب بدون کلر بود، نگهداری کردند. در تحقیق حاضر تولید کوکون و لارو در محیط آب خزه در تیمار ۳ با تراکم ۲۵ قطعه زالو نسبت به تیمار ۱ با تراکم ۱۰ قطعه زالو و تیمار ۲با تراکم ۱۵ قطعه زالو بالاتر بود. ازطرفی افزایش تراکم زالوها در این سه تیمار تاثیری بر میزان تلفات زالوهای مولد نداشت. تولید کوکون و تولید لارو بین تیمار ۱(۱۰ قطعه زالو) و تیمار ۲(۱۵ قطعه زالو) هم دارای اختلاف معنی داری نبود. هم‌چنین در مطالعه حاضر تعداد لارو و کوکون تولید شده در محیط خاک پیت ماس در تیمار ۶(۲۵ قطعه زالو) نسبت به تیمار ۴ با ۱۰ قطعه زالو و تیمار ۵ با ۱۵ قطعه زالو بالاتر بود. از طرفی این افزایش تراکم بر روی تلفات زالوی مولد در ۳ تیمار محیط خاک پیت ماس تاثیری نداشت. با توجه به یافته‌های پژوهش می¬توان احتمال داد افزایش تراکم زالوها باعث افزایش جفت¬گیری و انتقال اسپرم در زالوهای مولد شده و این افزایش جفت¬گیری منجر به تولید کوکون بیشتر و هم چنین افزایش تعداد لارو شود. البته با توجه کمبود اطلاعات و منابع در مورد زالوی هیرودو اورینتالیس می-بایست مطالعات بیشتری با تراکم های متفاوت در این باره انجام پذیرد. ممکن است افزایش بیش از حد تراکم زالوی مولد منجر با افزایش تلفات و یا کاهش تولید کوکون و لارو شود. در پایان با توجه به یافته های تحقیق، پیشنهاد می گردد در کارگاه‌های تکثیر زالو با توجه به طولانی بودن مدت تکثیر(۲ الی ۳ ماه) به جهت صرفه جویی در مصرف آب و امکان پرورش در مناطق کم آب، کم شدن فضای تکثیر، کاهش هزینه‌های برق و گاز جهت سرمایش و گرمایش محیط خاک پیت ماس جایگزین بستر آب-خزه شود.

منابع

1. Abdul Kari, A,K., Che O. (2011). Optimization of growth conditions of *Hirudinea* sp. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(3); 268-275.

2.Baskova, I.P., Cherkesova, D.U., Mosolov, V.V., (1983). Hirudin from leech heads and whole leeches and "pseudo-hirudin" from leech bodies. Thrombosis Research 30 (5); 459–467.

3.Baskova, I.P., Khalil, S., Nartikova, V.F., Paskhina, T.S., (1992). Inhibition of plasma kallikrein. kininase and kinin-like activities of preparations from the medicinal leeches. Thrombosis Research 67 (6); 721–730.

4.Blackshaw, S.E., Nicholls, J.G. (1995). Neurobiology and development of the leech. Journal of Neurobiology, 27 (3); 267–276.

5.Buchner, P. (1965). Endosymobiosis of animals with plant microorganisms. Book in Germany. Endosymbiose,PP. 371-5.

6.Davies, R.W., McLoughlin, N.J. (1996). The effects of feeding regime on the growth and reproduction of the medicinal leech *Hirudo medicinalis.* Freshwater Biology, 36; 563-568.

7.Elliott, J.M., Tullett, P.A. (1984). The status of the medicinal leech *Hirudo medicinalis* in Europe and especially in the British Isles. Biological Conservation, 29; 15-26.

8.Elliott, J., Kutschera, U. (2011). Medicinal leeches: Historical use, ecology, genetics and conservation. Freshwater Jornal, 4(21); 41.

9.Elliott, J.M., Tullett, P.A. (1984). The status of the medicinal leech *Hirudo medicinalis* in

www.SID.ir

Archive of SID

Europe and especially in the British Isles. Biological Conservation, 29; 15-26.
10. Elliot, J.M., Mann, K.H. (1979). A key to the British freshwater leeches with notes their life cycle and ecology. Fresh water Biological. Scientific Publication ,40;1-72.
11. Farnesi, K., Vagnetti, A. (1973). Esterase activity in certain glands of leech. Comp. Biochem. Physiol, 25(2); 447-56.
12. Gondran, E. (1955). The effect of selected free-living and oligocheates(Annelida). Acta Mus Maced.Sic, 2(10/21); 199-221.
13. Gouda, H.A. (2006). The effect of peritrich ciliates on some freshwater leeches from Assiut, Egypt. Journal of Invertebrate Pathology., 93; 143-149.
14. Herter, K. (1968). Der medizinische Blutegel und seine Verwandte. In Die Neue Brehm--Biicherei, No. 381. Berlin, Wittenberg Lutherstadt, A. Ziemsen Verlag.
15. Huang, A.M., Li, Z.Y., Liao, G.S., Huang, H.K., Ban, J.D., Lin, F.Q. (2006). The anticoagulant effect of Bufrudin on human plasma in vitro and rabbit plasma in vivo. Journal of Guangxi Medical University, 23(1); 30–32 (In Chinese).
16. Huguet, G., Molinas, M. (1992). Changes in epithelial cells in *Hirudo medicinalis* during wound healing. Journal of Invertebrate Pathology, 59; 11–17.
17. Huguet, G., Molinas, M. (1996). Myofibroblast-like cells and wound contraction in leech wound healing. Journal of Experimental Zoology, 275; 308–316.
18. Lapkina, L.N. (1992). Comparative study of lethal and sublethal effects of trichlorphon on leeches. Information bulletin IBVV. RAN, 94; 67–73 (In Russian).
19.. Lent, C. M., Dickinson, M. (1988). The neurobiology of feeding in leeches.Scientific, 258(6); 98-103.
20. Malecha, J. (1979). Contribution a l etude de la biologie de sciences et Techniques de Lille.no. 423.160pp., 242 figes.
21. Malecha, J., Prensier, G. (1974). Particularites ultrastructurales de la meiose chez Branchellion trpedinis (Sav), 20; 81a-82a.
22. Malecha, J., Vinkier, B. (1983). L, osmo regulation chez *Hirudinee rhynchobdelle* (O.F.M). Location experimental de la .Gen.Comp. Endocrinol, 49; 344-51.
23. Mann, K.H. (1954). The anatomy of the horse leech. *Haemopis sanguisuga*(L) with particular reference to the excretory system. Proc. Zool, 124; 69-88.
24. Mann, K.H. (1962). Leeches (Hirudinea): Their structure, physiology. Ecology and Embryology, p. 200. Oxford, London.
25. Mason, T.A., Mcllroy, P.J., Shain, D.H. (2004). A cysteine-rich protein in the Theromyzon (Annelide: Hirudinea) cocoon membrane. FEBS Letters., 561; 167-172.
26. Marotta, R., Shain, D.H. (2007). Irregular helicoids in leech cocoon membranes. Journal of Structural Biology, 158; 336-343.
27. Murat M., Mustafa C., Hakan M. (2019). Investigation of reproductive efficiency, growth performance and survival of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820 fed with mammalian and poultry blood. Animal Reproduction Science, 206; 27-37.
28. Mustafa, C., Osman, C., Ramazan, K., Ufuk, A. (2015). Reproduction efficiency of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15; 411-418.
29. Payton, B. (1981). History of medicinal leeching and early medical references. In Neurohiology of the leech, ed. by K.J. Muller, J.G. Nicholls and G.S. Stent, 27 34. Cold Spring Harbor Laboratory, USA.
30. Peterson, E.L. (1983). Visual processing in the leech central nervous system. Nature 303; 240-2.
31. Petrauskienė, L. (2001). Water toxicity assessment using medicinal leeches. Aquatic Ecosystem Health & Management, 4; 203–208.
32. Petrauskienė, L. (2003). Water and sediment toxicity assessment by use of behavioural responses of medicinal leeches. Environment International, 28; 729–736.
33. Rigbi, M., Levy, H., Iraqi, F., Teitelbaum, M., Orevi, M., Alajoutsijärvi, A. (1987). The saliva of the medicinal leech Hirudo medicinalis I. Biochemical characterization of the high molecular weight fraction. Comparative Biochemistry and Physiology B, 87(3); 567–573.
34. Roters, F.J., Zebe, E. (1992). Proteinases of the medicinal leech, Hirudo medicinalis: purification and partial characterization of three enzymes from the digestive tract. Comparative Biochemistry and Physiology B, 102; 627–634.
35. Sawyer, R. (1986). Leech biology and behaviour, Volume I. Clarendon Press. Oxford.
36. Sawyer, R., 1986. Leech biology and behaviour, Volume II. Clarendon Press. Oxford.
37. Simmonds, P. L. (1870). The trade in leeches. Pharm. J., 3; 521-2.
38. Utevsky, S., Trontelj, P. (2005). A new species of the medicinal leech (Oligochaeta, Hirudinida, Hirudo) from *Trans caucasia* and an

www.SID.ir

Archive of SID

identification key for the genus Hirudo. Parasitol Res, 98;61–66.
39. Wigglesworth, V.B. (1965). The principles of insect physiology. Methuen, London, 195-306.
40. Whitaker, I.S., Izadi, D., Oliver, D.W., Monteath, G., and Butler, P.E. (2004). Hirudo medicinalis and the plastic surgeon. British Journal of Plastic Surgery, 57; 348–353.
41. Wells, S., Coombes, W. (1987). The status of and trade in the medicinal leech. Traffic Bulletin, 8; 64–69.
42. Yang, T. (1996). *Fauna sinica* (Annelida Hirudinea). Science Press, Beijing, China, pp: 117-129 (In Chinese).
43. Zhang, B., Lin, Q., Lin, X. (2008). Effects of broodstock density and diet on reproduction and juvenile culture of the leech, Hirudinaria manillensis Lesson, 18421276(1-4); 198-204 .
45. Zulhisyam, A.K., Anwar Ismail, A., Che Omar, I. (2011). Optimization of growth conditions of *Hirudinea* sp. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(3); 268-275.

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect of Two Environment Water - Moss and Peat Moss Soil on the Number of Cocoons, the Weight of the Cocoon and the Number of Casualties of Oriental Leech (*Hirudo orientalis*)

H. Bidmal[1], M. Sudagar [2]

1. MSc student :Department of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. **bidmal@gau.ac.ir**

2.Associate Professor. Department of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received:2020.13.7 **Accepted: 2020.20.9**

Abstract

Inroduction & Objective: In recent years, leeches have been used to treat some diseases, extract many enzymes and substances that are effective in treating diseases.This study aims to influence the two environments of water-moss and peat moss soil on the number of cocoons, the weight of the cocoons and the losses in the oriental leech

Material and Methods: For this purpose, 300 productive leeches for 45 days in 6 treatments and 3 repetitions per treatment: treatment (1) 10 leeches in water-moss, treatment (2) 15 leeches, treatment (3) 25 pieces Leeches, treatment (4) 10 pieces of leeches in Peat mosss, treatment (5) 15 pieces of leeches, treatment (6) 25 pieces of leeches. Reproductive leeches were kept in a water-moss environment in tanks containing 50 liters of chlorine-free water at 28-27°c. The mosses were controlled and sprayed twice a week, and the cocoons inside the mosses were collected and stored at 25°c. Productive leeches were kept in a 10-liter plastic container in the soil of Peat mosss. The peat moss soil was inspected 3 times a week and sprayed to retain moisture, and cocoons were collected inside the moss soil and stored at 25 °c in the peat moss soil.

Results: The results showed that the number of cocoons produced in water-moss and paet moss soil did not differ significantly (p >0.05). The weight of the cocoons produced in the two environments did not differ significantly (p >0.05). Also, the number of casualties of productive leeches in the two environments showed no significant cifference (p >0.05).

Conclusion: According to the findings of the study, it is recommended to be kept in the soil of Peat moss during the reproduction of productive leeches due to the blue water in the country and the reduction of production costs.

Keywords: Water-Moss, Peat Moss Soil, Cocooning, Casualties, Oriental Leeches.

www.SID.ir