



University of Tehran

The effect of using a mineral premix in the culture medium on growth, survival and intestinal tissue indices in neonate medicinal leech (*Hirudo medicinalis*)

Mehrdad Farhangi^{1*} | Ali Jadidfard² | Soheil Eagderi³ | Saeed Ziaei-Nejad⁴

1. Corresponding Author, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: medfarhangi@ut.ac.ir
2. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: alijadidfard@ut.ac.ir
3. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: soheil.eagderi@ut.ac.ir
4. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran. Email: zbsaeed@yahoo.com

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article History:
Received: 26 May 2026
Revised: 09 June 2026
Accepted: 04 July 2026
Published online: 05 July 2026

Keywords:
*Medicinal leech (Hirudo medicinalis),
Mineral premix,
Culture medium,
Growth and survival,
Intestinal histology.*

ABSTRACT

Since ancient times, medicinal leech has been used in traditional medicine to treat a wide range of diseases such as varicose veins and acne in different parts of the world. In this study, a mineral premix containing copper sulfate, iron sulfate, zinc oxide, manganese oxide, calcium iodate, cobalt and zinc was added to three experimental treatments including water (treatment 1), soil (treatment 2), and water and soil of the growing environment (treatment 3) and a control treatment (water and soil, without the use of mineral premix) in cultivating medicinal leeches was carried out in a completely randomized design (each treatment in 3 replications) for 60 days. In each of the rearing tanks, which contained 1.1 liter of chlorine-free water, 10 neonate medicinal leech weighing 0.43 ± 0.02 grams (mean \pm standard deviation) were randomly distributed. The results at the end of the experimental period showed that the use of mineral premix in water and soil (treatment 3) caused an excessive reduction in growth indices (the highest average weight gain was $37.26 \pm 1.05\%$ among the three treatments) and survival (average survival indices were 0% and $16.66 \pm 5.77\%$ in treatments 1 and 3, respectively) in the three experimental treatments. In contrast, the control treatment had the highest average weight gain ($275.63 \pm 4.3\%$) and the highest average survival index (100%) ($P < 0.05$). The use of mineral premix in all experimental treatments affected intestinal tissue and caused its destruction compared to the control treatment. The results showed that adding mineral premix to the natural culturing environment of leeches by increasing the amount of minerals in the environment disrupts their balance and consequently reduces the efficiency of biological indices in these organisms.

Cite this article: Farhangi, M., Jadidfard, A., Eagderi, S., Ziaei-Nejad, S., Ziaei-Nejad, S. (2026). The effect of using a mineral premix in the culture medium on growth, survival and intestinal tissue indices in neonate medicinal leech (*Hirudo medicinalis*). *Journal of Fisheries*, 79 (2), 85-95. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2026.415248.1486>.



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2026.415248.1486>.



اثر استفاده از پرمیکس مواد معدنی در بستر پرورش بر شاخص‌های رشد، بقاء و بافت روده در نوزاد زالوی طبی (*Hirudo medicinalis*)

مهرداد فرهنگی^{۱*} | علی جدیدفرد^۲ | سهیل ایگدری^۳ | سعید ضیایی‌نژاد^۴

۱. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: medfarhangi@ut.ac.ir

۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: alijadifard@ut.ac.ir

۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: soheil.eagderi@ut.ac.ir

۴. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم النبیه (ص) بهبهان، بهبهان، ایران. رایانامه: zbsaeed@yahoo.com

چکیده

اطلاعات مقاله

از گذشته‌های دور تاکنون از زالوی طبی در طب سنتی در درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها از جمله واریس و آکنه در نقاط مختلف دنیا استفاده به عمل می‌آید. در این پژوهش یک پرمیکس مواد معدنی حاوی سولفات مس، سولفات آهن، اکسید روی، اکسید منگنز، یدات کلسیم، کبالت و روی به سه تیمار آزمایشی شامل آب (تیمار ۱)، خاک (تیمار ۲) و آب و خاک محیط پرورش (تیمار ۳) و یک تیمار شاهد (آب و خاک، بدون استفاده از پرمیکس مواد معدنی) در پرورش زالوی طبی اضافه و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (هر تیمار در ۳ تکرار) طی مدت ۶۰ روز مورد مطالعه قرار گرفت. در هر یک از مخازن پرورش که حاوی ۱/۱ لیتر آب فاقد کلر بود، ۱۰ قطعه نوزاد زالو با وزن 0.43 ± 0.02 گرم (انحراف معیار \pm میانگین) به صورت تصادفی توزیع شد. نتایج در پایان دوره آزمایش نشان داد که استفاده از پرمیکس مواد معدنی در آب و خاک (تیمار ۳) موجب کاهش بیش از حد شاخص‌های رشد (بیشترین میانگین افزایش وزن 37.26 ± 1.05 درصد در بین سه تیمار) و بقاء (میانگین شاخص بقاء صفر درصد در دو تیمار ۱ و ۳ و میانگین شاخص بقاء 16.66 ± 5.77 درصد در تیمار ۲) در سه تیمار آزمایشی گردید. در مقابل تیمار شاهد از بیشترین میانگین افزایش وزن (275.63 ± 4.3 درصد) و بیشترین میانگین شاخص بقاء (۱۰۰ درصد) برخوردار بود ($P \leq 0.05$). استفاده از پرمیکس مواد معدنی در کلیه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد بر بافت روده مؤثر بوده و موجب تخریب آن شد. نتایج نشان داد که افزودن عناصر معدنی به محیط پرورش طبیعی زالوها با افزایش بیش از حد مواد معدنی در محیط پرورش، تعادل آنها را بر هم زده و به تبع آن، باعث کاهش بازده شاخص‌های زیستی در این موجودات می‌شود.

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۰۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۱۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۱۴

کلیدواژه:

زالوی طبی (*Hirudo medicinalis*).

پرمیکس مواد معدنی،

بستر پرورش،

رشد و بقاء،

بافت‌شناسی روده.

استناد: فرهنگی، مهرداد، جدیدفرد، علی، ایگدری، سهیل؛ ضیایی‌نژاد، سعید (۱۴۰۵). اثر استفاده از پرمیکس مواد معدنی در بستر پرورش بر شاخص‌های رشد، بقاء و بافت روده در

نوزاد زالوی طبی (*Hirudo medicinalis*). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۹ (۲)، ۸۵-۹۵. DOI:

<http://doi.org/10.22059/jfisheries.2026.415248.1486>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2026.415248.1486>



۱. مقدمه

زالوها از کرم‌های حلقوی محسوب و در شاخه Annelidae و رده Hirudina طبقه‌بندی می‌گردند (Mann, 1962; Gouda, 2006) و دارای ۲ راسته مهم Arhynchobdellida و Rhynchobdellida می‌باشند (Borda & Siddall, 2004). تاکنون حدود ۸۰۰ گونه زالو مورد شناسایی واقع شده که اکثر آنها ساکن آب‌های شیرین و مابقی در دریاچه‌ها و دریاها و همچنین برخی مناطق خشک کره زمین زندگی می‌کنند (Tong et al., 2022). زالوها از لحاظ رفتار تغذیه‌ای دو دسته هستند: دسته اول شامل زالوهای واجد آرواره و یا دندان بوده که از طریق وارد کردن خرطوم خود از خون و مایعات بدن موجود میزبان (اغلب مهره‌داران) تغذیه می‌کنند. این گونه زالوها اغلب انگل و یا ناقل برخی از بیماری‌ها هستند. دسته دوم عبارت از زالوهایی می‌باشند که فاقد آرواره بوده و شکار خود را (اغلب بی‌مهرگان) به صورت یکجا می‌بلعند. از این گونه زالوها اغلب تحت عنوان زالوهای شکارچی یاد می‌شود (Sawyer, 1986; Elliott & Kutschera, 2011).

در حال حاضر وجود بیش از ۴۵ گونه زالو در آب‌های شیرین رودخانه‌ها و آب‌های لب‌شور بخش‌های جنوبی دریاچه خزر به ثبت رسیده است. در این بین زالوی طبی (*Hirudo medicinalis*) یکی از مهمترین گونه‌های بومی ایران محسوب شده که در استان‌های شمالی کشور از جمله گیلان، مازندران و گلستان زیست کرده (Dehghani et al., 2014) و توسط برخی از محققین تحت عنوان *Hirudo orientalis* مورد شناسایی واقع شده است (Grosser & Pesic, 2008). این گونه هم‌را فردیت است و به دلیل داشتن آرواره، دارای زندگی انگلی بوده و به‌طور معمول از خون موجوداتی همچون قورباغه و لاک‌پشت تغذیه می‌کند (Sawyer, 1986). از گذشته‌های دور تاکنون از زالوی طبی در حجامت و زالودرمانی در طب سنتی ایران و سایر نقاط جهان استفاده به‌عمل می‌آید (Abdullah et al., 2012; Hosseini et al., 2024). زالودرمانی برای اولین بار در سال ۱۰۲۰ هجری قمری توسط ابن‌سینا دانشمند معروف ایرانی در کتاب (قانون در طب) مطرح و در قرن ۱۲ میلادی ارزش و اعتبار آن به اوج خود رسید (Singh, 2010)، به‌طوری که در اوایل قرن ۱۹ میلادی میلیون‌ها قطعه زالو به‌منظور استفاده در مراکز درمانی و بیمارستان‌ها از کشورهای ولز، فرانسه، آلمان و انگلیس وارد ایرلند شد (Sawyer, 2013). زالوی طبی پس از چسبیدن به موجود میزبان و انتخاب موضع مناسب برای تغذیه، شروع به مکیدن خون لخته، آلوده و فاقد اکسیژن نموده (Hyson, 2005) و از سوی دیگر بزاق دهان خود را که حاوی طیف گسترده‌ای از ترکیبات زیست‌فعال از جمله هیرودین، هیالورونیداز، دستاییلاز، اگلین و ترکیبات پروستاگلندین می‌باشد را به موضع مذکور تزریق می‌نماید. در واقع این موجود دو عمل تصفیه و رقیق‌سازی خون را به‌صورت هم‌زمان انجام می‌دهد (Abdullah et al., 2012). اخیراً تحقیقات گسترده‌ای در مورد خواص و کاربردهای متعدد ترکیبات زیست‌فعال موجود در بزاق دهان زالو صورت گرفته که با نتایج بسیار ارزشمندی نیز همراه بوده‌اند (Pietrzak et al., 2012; Unal et al., 2023). ترکیبات مذکور در درمان عفونت‌های لته (Abdullah et al., 2012) بیماری‌های قلبی و عروقی، بیماری‌های پوستی و حتی برخی بیماری‌ها و اختلالات سیستم عصبی (میگرن و سیاتیک) بسیار مؤثر تلقی می‌شوند (Singh, 2010; Hosseini et al., 2024; Ahmad et al., 2024). علاوه بر این، در اغلب کلینیک‌های جراحی پیوند اعضا در سطح بین‌المللی از زالوها به‌عنوان یکی از ارکان اصلی در ترمیم مؤثر و سریع تر بافت‌های پیوندی و اتصال عروق استفاده به‌عمل می‌آید (Abdullah et al., 2012).

امروزه بروز آلودگی‌های زیست‌محیطی و صید بی‌رویه برخی زالوها (به‌خصوص زالوهای طبی) به‌منظور بهره‌برداری از آنها در زمینه‌های مختلف علوم پزشکی، بیوشیمی، سم‌شناسی و صیادی در سراسر جهان موجب گردیده تا این موجودات ارزشمند در معرض خطر انقراض قرار گیرند (Petrauskiene, 2004). با این حال، تاکنون مطالعات محدودی در خصوص بیوتکنیک پرورش مصنوعی زالوها در سطح بین‌المللی صورت گرفته است (Elliott & Mann, 1979; Zulhisyam et al., 2011; Aminov et al., 2025). از سوی دیگر، با وجود احداث مراکز متعدد تکثیر و پرورش زالوی طبی در ایران اطلاعات مستند محدودی در خصوص بیوتکنیک پرورش این موجود در کشور منتشر گردیده و اکثر مطالعات انجام شده در این زمینه به‌طور اصلی در راستای معرفی زالوهای آب شیرین (Abdi et al., 1997)، پراکنش جغرافیایی، سیستماتیک و زیستگاه (Gholami, 2005) این موجودات و بیش از همه با تأکید بر نقش انگلی زالوها و نحوه انتقال بیماری‌ها (Jalali et al., 2009) توسط آنها معطوف شده است. لازم به ذکر است که کلیه حیوانات آبی از جمله زالوی طبی برای انجام عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و همچنین حفظ حیات طبیعی

خود به مواد معدنی مختلف نیاز دارند. با توجه به نبود اطلاعات کافی در این زمینه، در پژوهش حاضر تلاش شد تا اثر استفاده از یک پرمیکس مواد معدنی در بستر پرورش بر شاخص‌های رشد، بقاء و بافت‌شناسی دستگاه گوارش نوزاد زالوی طبی بررسی شود. تعیین یک بستر مناسب پرورش برای این گونه ارزشمند در شرایط پرورش مصنوعی (آزمایشگاهی) بسیار مهم و ضروری خواهد بود.

۰۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. تهیه و سازگار نمودن زالوها

نوزادان زالو از یکی از تالاب‌های استان گیلان صید گردیدند. سپس ۱۲۰ قطعه زالو به مدت دو هفته با محیط پرورش مد نظر تطبیق داده شدند. دما، pH و دوره روشنایی به ترتیب در محدوده 19 ± 2 سانتی‌گراد، $7/3 \pm 0/2$ و ۲۴ ساعت تمام تاریکی تنظیم گردید. طی این مدت (دو هفته) غذاهای صورت نگرفت.

۲-۲. طراحی و انجام آزمایش

در این مطالعه از ۴ تیمار (۱ تیمار شاهد و ۳ تیمار آزمایشی و هر تیمار در ۳ تکرار) با هدف بررسی اثر استفاده از یک پرمیکس مواد معدنی در بستر پرورش و تعیین مناسب‌ترین محیط پرورش از نظر شاخص‌های زیستی طی مدت ۶۰ روز در قالب یک طرح کاملاً تصادفی استفاده به عمل آمد (جدول ۴). به همین منظور از ۱۲ مخزن شیشه‌ای استوانه‌ای شکل استفاده شد. به هر یک از مخازن پرورش که $3/5$ لیتری بود، $1/1$ لیتر آب شیرین فاقد کلر اضافه و سپس ۱۰۰ گرم خاک از محیط زیست طبیعی به آن افزوده شد. همچنین در هر یک از مخازن ۱۰ قطعه نوزاد زالو با وزن $0/43 \pm 0/02$ گرم (انحراف معیار \pm میانگین) به صورت تصادفی توزیع شد. کلیه تیمارها هر ۲۰ روز یکبار با خون تازه گاو تغذیه شدند. به علاوه هر ۲۰ روز یکبار حدود ۳۰ درصد آب محیط پرورش تعویض گردید. دما، pH و دوره نوری در دامنه مشابه با دوره سازگاری تنظیم شد.

۲-۳. شاخص‌های مورد سنجش

۲-۳-۱. اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکی-شیمیایی آب و خاک محیط پرورش زالوی طبی

از ۱۰ نقطه خاک و آب محیط پرورش به صورت تصادفی نمونه‌برداری انجام شد و سپس نمونه‌های تهیه شده با یکدیگر مخلوط و جهت انجام تحلیل‌های مدنظر به آزمایشگاه منتقل شدند (AOAC, 1980; APHA, 1995). نتایج آنالیزهای مذکور در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است.

۲-۳-۲. پرمیکس مواد معدنی

اطلاعات مربوط به تعیین ترکیبات پرمیکس مواد معدنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که در این ماهی در حد ۱ درصد در جیره غذایی مصرف می‌شود (شرکت بهپرور، کرج، ایران) در محیط پرورش زالو استفاده گردید که در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۱- شاخص‌های فیزیکی-شیمیایی خاک مورد استفاده در محیط پرورش زالوی طبی.

میزان	نوع شاخص
۷۲۰	EC (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)
۷/۴	pH
۱/۵۶	کربن آلی (%)
۲/۶۹	ماده آلی (%)
۱۳/۶	میزان رس (%)
۱۴/۶	میزان سیلت (%)
۷۱/۸	میزان شن و ماسه (%)
ماسه-شنی	نوع بافت

جدول ۲- شاخص‌های فیزیکی-شیمیایی آب مورد استفاده در محیط پرورش زالوی طبی.

میزان	نوع شاخص
۶۰۸	EC (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)
۲۵۶	TDS (میلی گرم در لیتر)
۷/۳	pH
۶۴	غلظت کلسیم (میلی گرم در لیتر)
۲۴/۳	غلظت منیزیم (میلی گرم در لیتر)
۳۷/۲	غلظت کربنات (میلی گرم در لیتر)
۱۵۶	غلظت بی‌کربنات (میلی گرم در لیتر)

جدول ۳- ترکیب شیمیایی پرمیکس مواد معدنی مورد استفاده در محیط پرورش زالوی طبی.

میلی گرم در کیلوگرم	نوع ترکیب
۶۰۰	سولفات مس
۶۰۰۰	سولفات آهن
۱۰۰۰	اکسید روی
۵۰۰۰	اکسید منگنز
۶۰۰	یدات کلسیم
۱۰۰	کیالت
۲۰	سلنیم

جدول ۴- میزان استفاده از پرمیکس مواد معدنی در تیمارهای آزمایشی مختلف پرورش زالوی طبی.

میزان	تیمارها
*	شاهد
۱۰ گرم محلول در آب	۱
۱۰ گرم مخلوط در خاک	۲
۵ گرم مخلوط در خاک و ۵ گرم محلول در آب	۳

۲-۳-۳. شاخص‌های رشد و بقاء زالوی طبی

در انتهای دوره پژوهش شاخص‌های رشد، زیتوده، وضعیت و بقاء با استفاده از روابط زیر مورد سنجش قرار گرفتند:

$$100 \times \text{وزن اولیه (گرم)} / \{\text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن ثانویه (گرم)}\} = \text{شاخص افزایش وزن بدن (\%)}$$

$$100 \times \text{دوره آزمایش (روز)} / \{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه (گرم)} - \text{لگاریتم طبیعی وزن ثانویه (گرم)}\} = \text{ضریب رشد ویژه (درصد/روز)}$$

$$\text{تعداد زالو} \times \text{وزن متوسط زالوها} = \text{زیتوده}$$

$$100 \times \{\text{طول}^3 \text{ (سانتی‌متر)} / \text{وزن (گرم)}\} = \text{شاخص وضعیت (\%)}$$

$$100 \times ((\text{زالوهای تلف شده} + \text{زالوهای زنده}) / \text{زالوهای زنده}) = \text{شاخص بقاء (\%)}$$

۲-۳-۴. بافت‌شناسی دستگاه گوارش زالوی طبی

به منظور بررسی اثر احتمالی استفاده از پرمیکس مواد معدنی بر بافت دستگاه گوارش، در پایان آزمایش از هر تکرار ۳ قطعه زالو به طور تصادفی انتخاب شد. پس از بیهوش کردن زالوها با پودر گل میخک بخش انتهایی دستگاه گوارش (روده) آنها با استفاده از تیغ اسکالپل خارج و در محلول تثبیت کننده فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید. سپس نمونه‌های تثبیت شده به منظور انجام مطالعات بافت‌شناسی (روش هماتوکسیلین-اؤزین) به آزمایشگاه منتقل شدند (Van Dyk & Pieterse, 2008).

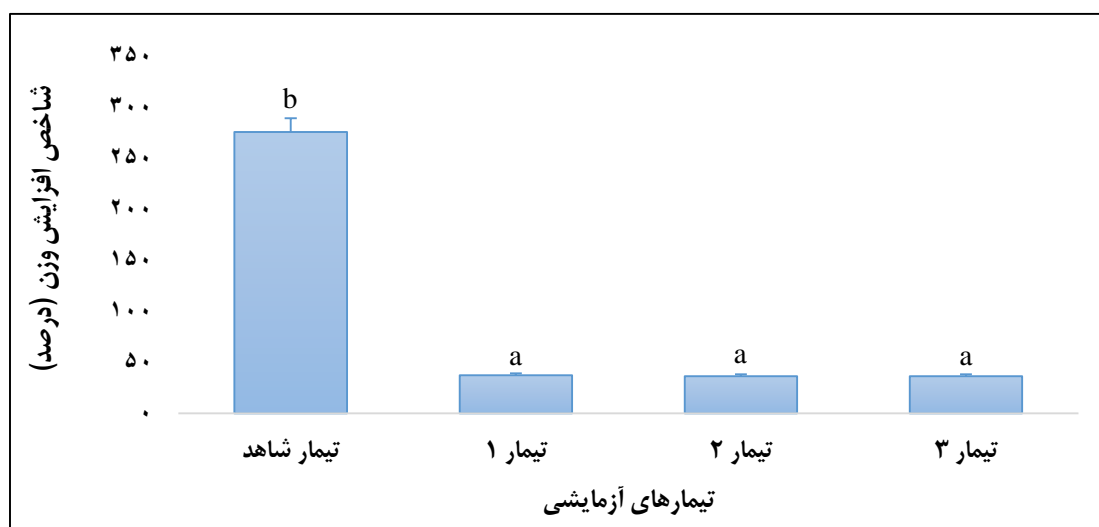
۲-۳-۵. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

ابتدا کلیه داده‌های به درصد با استفاده از روش $\arcsin\sqrt{x}$ تبدیل و نرمال شدند. بعد از تحقق دو شرط اصلی آزمون‌های پارامتریک (Zar, 1996)، از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) برای مقایسه واریانس بین تیمارها و از آزمون دانکن برای بررسی وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (در سطح خطای ۵ درصد) با کمک نرم‌افزار آماری تحت ویندوز SPSS استفاده به عمل آمد.

۳. یافته‌های پژوهش

۳-۱. شاخص افزایش وزن

نتایج حاصل از تأثیر استفاده از پرمیکس مواد معدنی بر شاخص افزایش وزن (رشد) در نمودار شکل ۱ ارائه شده است. براساس نتایج، استفاده از پرمیکس مواد معدنی موجب کاهش شاخص افزایش وزن در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ در مقایسه با تیمار شاهد (بیشترین میانگین شاخص افزایش وزن $275/63 \pm 4/3$ درصد) شد ($P \leq 0/05$). در عین حال بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.



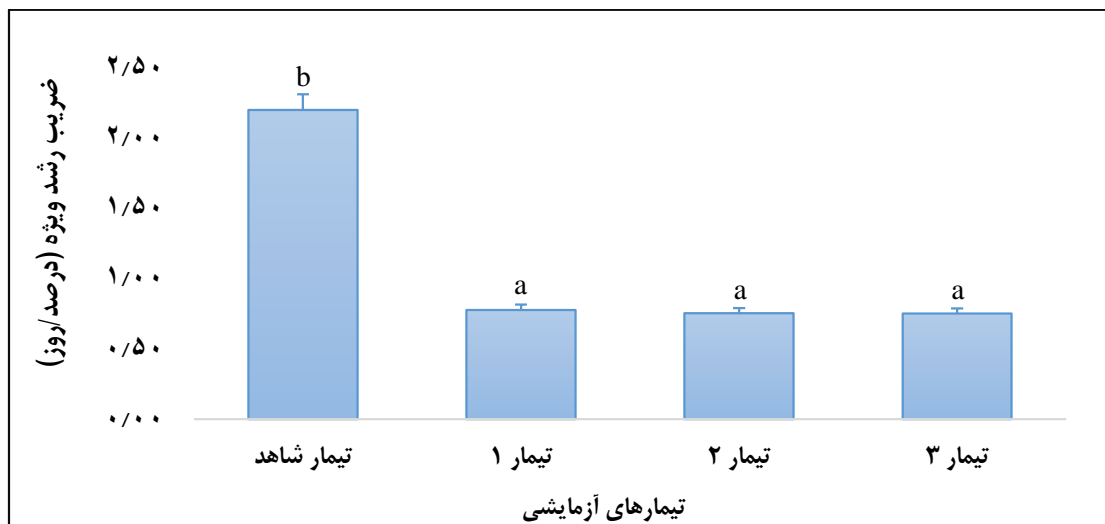
شکل ۱- نمودار مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) شاخص افزایش وزن در تیمارهای آزمایشی. ستون‌های با حداقل یک حرف غیرمشترک انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($P \leq 0/05$).

۳-۲. ضریب رشد ویژه

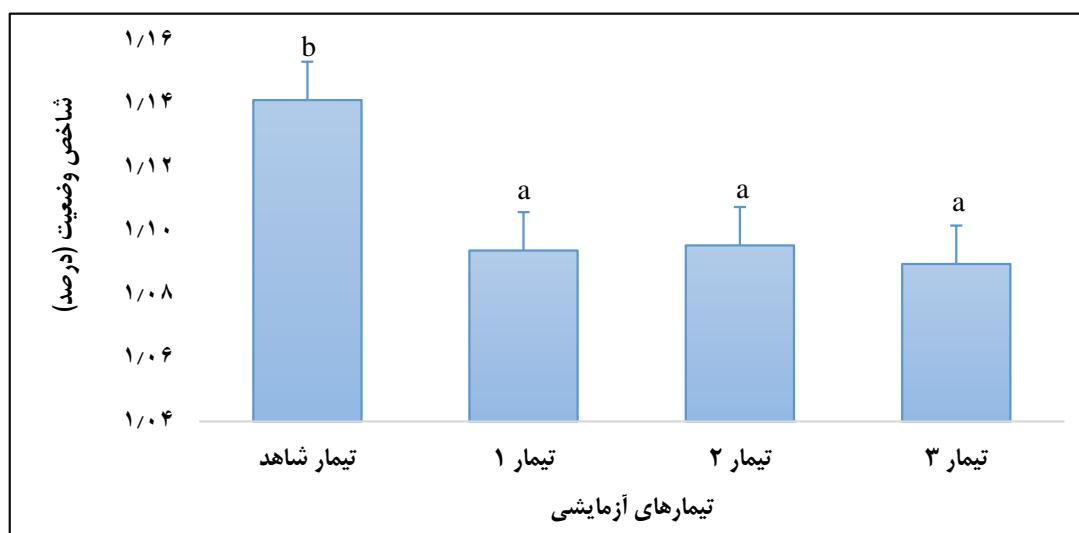
نتایج حاصل از تأثیر استفاده از پرمیکس مواد معدنی بر ضریب رشد ویژه در نمودار شکل ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج، استفاده از پرمیکس مواد معدنی کاهش ضریب رشد ویژه را به دنبال داشته و اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد ($P \leq 0/05$). به طوری که میانگین ضریب رشد ویژه در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ در مقایسه با تیمار شاهد (بیشترین میانگین ضریب رشد ویژه $2/21 \pm 0/02$ درصد) کمتر بود. در عین حال بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

۳-۳. شاخص وضعیت

نتایج حاصل از تأثیر استفاده از پرمیکس مواد معدنی بر شاخص وضعیت در نمودار شکل ۳ ارائه شده است. بر اساس نتایج، استفاده از پرمیکس مواد معدنی موجب کاهش شاخص وضعیت در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ در مقایسه با تیمار شاهد (بیشترین میانگین شاخص وضعیت $1/14 \pm 0/01$ درصد) شد ($P \leq 0/05$). با این حال تیمارهای ۱، ۲ و ۳ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.



شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) ضرب رشد ویژه در تیمارهای آزمایشی. ستون‌های با حداقل یک حرف غیرمشترک انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($P \leq 0.05$).



شکل ۳- نمودار مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) شاخص وضعیت در تیمارهای آزمایشی. ستون‌های با حداقل یک حرف غیرمشترک انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($P \leq 0.05$).

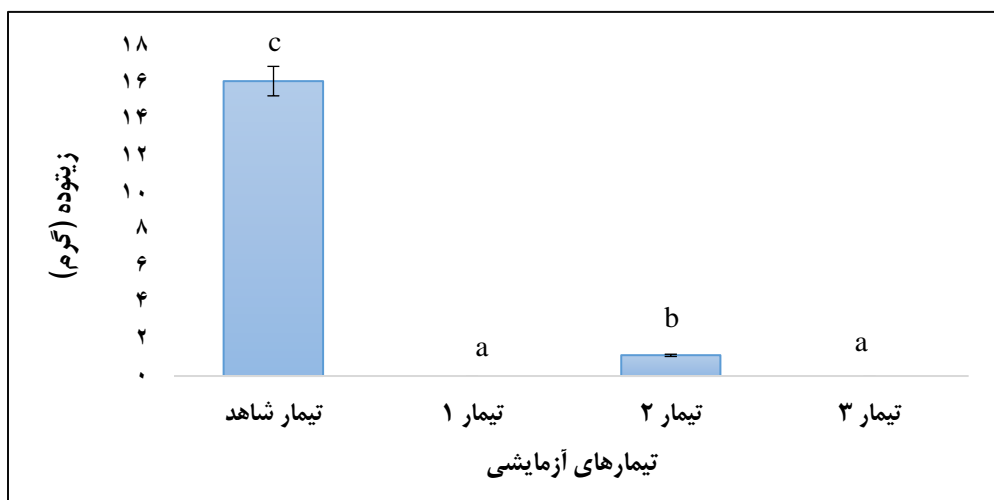
۳-۴. شاخص زیتوده

نتایج حاصل از تأثیر استفاده از پرمیکس مواد معدنی بر شاخص زیتوده در نمودار شکل ۴ ارائه شده است. بر اساس نتایج، استفاده از پرمیکس مواد معدنی موجب کاهش چشمگیر نرخ شاخص زیتوده شده و اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد ($P \leq 0.05$). به طوری که میزان زیتوده در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به علت وجود تلفات بالا در مقایسه با تیمار شاهد (بیشترین میانگین زیتوده در عین حال میزان زیتوده در تیمار ۲ در مقایسه با تیمارهای ۱ و ۳ بیشتر بود) ($P \leq 0.05$).

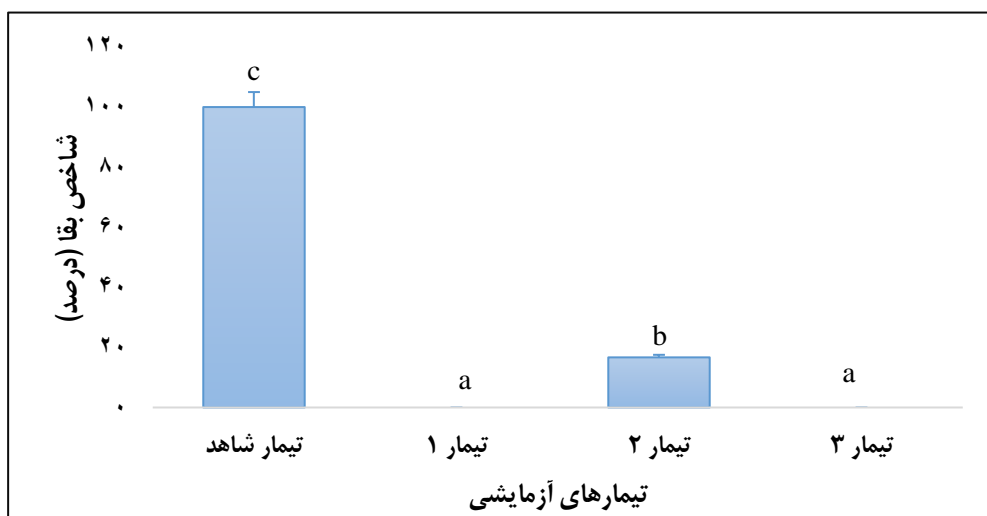
۳-۵. شاخص بقاء

نتایج حاصل از تأثیر استفاده از پرمیکس مواد معدنی بر شاخص بقاء در نمودار شکل ۵ ارائه شده است. بر اساس نتایج، استفاده از

پرمیکس مواد معدنی موجب کاهش نرخ بقاء در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ در مقایسه با تیمار شاهد (بیشترین میانگین بقا ۱۰۰ درصد) شد ($P \leq 0/05$). در عین حال میانگین شاخص بقاء در تیمار ۲ در مقایسه با تیمارهای ۱ و ۳ بیشتر بود ($P \leq 0/05$).



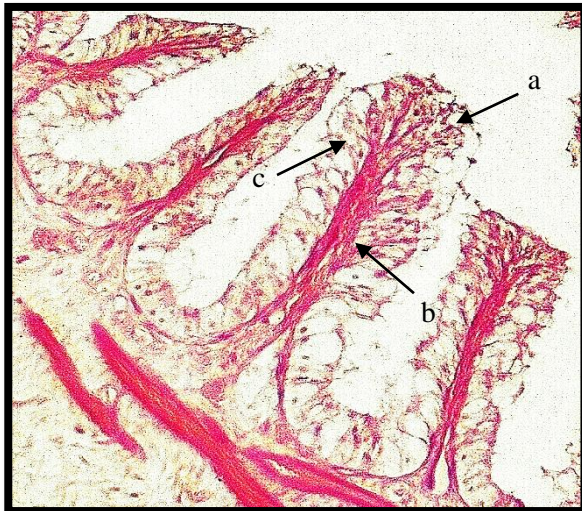
شکل ۴- نمودار مقایسه میانگین (± انحراف معیار) زیتوده در تیمارهای آزمایشی. ستون‌های با حداقل یک حرف غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($P \leq 0/05$).



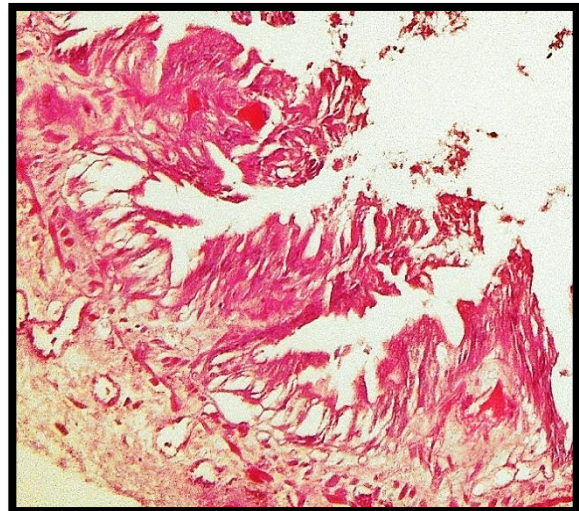
شکل ۵- نمودار مقایسه میانگین (± انحراف معیار) شاخص بقاء در تیمارهای آزمایشی. ستون‌های با حداقل یک حرف غیرمشترک انگلیسی بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($P \leq 0/05$).

۳-۶. بافت شناسی دستگاه گوارش (روده)

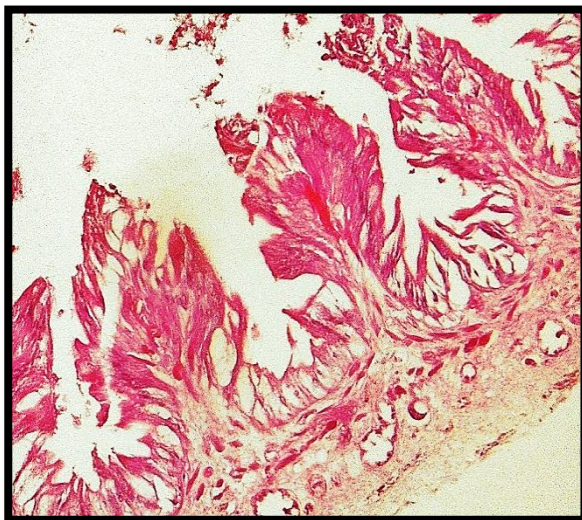
نتایج ناشی از اثر استفاده از پرمیکس مواد معدنی در تیمارهای آزمایشی مختلف بر بافت روده در شکل ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که استفاده از پرمیکس مواد معدنی در کلیه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد بر بافت روده مؤثر بوده و موجب تخریب آن شده است. در واقع کلیه بخش‌های روده اعم از انتروسیت‌ها، سلول‌های جامی و لاکتال در تیمارهای حاوی پرمیکس مواد معدنی (به‌خصوص تیمار ۳) دچار دگرشکلی شده و ماهیت خود را از دست دادند.



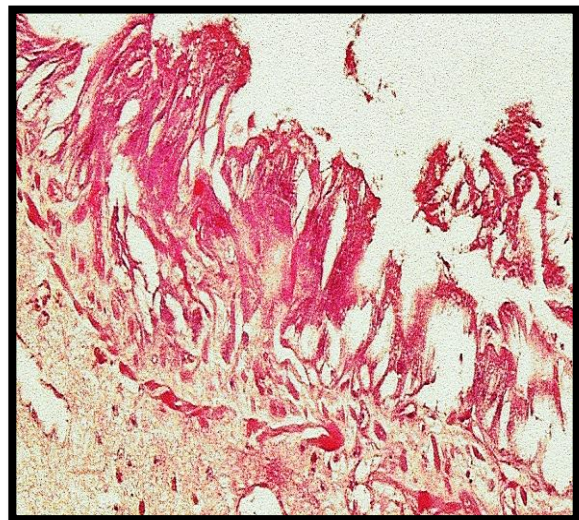
تیمار شاهد



تیمار ۱



تیمار ۲



تیمار ۳

شکل ۶- تصاویر مقایسه برش بافت روده زالوی طبی رنگ‌آمیزی شده با روش هماتوکسیلین-انوزین در تیمارهای آزمایشی مختلف در پایان دوره پرورش (بزرگنمایی ۴۰X).
 (a) انتروسیت (Enterocyte)، (b) لاکتال (Lacteal) و (c) سلول جامی (Goblet cell).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

این پژوهش با هدف بررسی اثر استفاده از پرمیکس مواد معدنی در محیط پرورش زالوی طبی بر شاخص‌های رشد و بقاء و تغییرات بافتی در دستگاه گوارش انجام شد. نتایج حاکی از آن بود که افزودن پرمیکس مواد معدنی به محیط پرورش (خاک و آب) باعث افزایش بیش از حد مواد معدنی در آب و خاک شده و یک محیط غنی را به وجود می‌آورد. وجود پرمیکس مواد معدنی که حاوی ترکیباتی از جمله سولفات مس، سولفات آهن و اکسید روی بود در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به‌عنوان یک عامل بازدارنده در ارتباط با شاخص‌های رشد و بقاء در نوزادان عمل کرده و در هیچ یک از سه تیمار مذکور شواهدی مبنی بر تأثیر مثبت مواد معدنی مورد استفاده بر شاخص‌های مذکور مشاهده نشد. در واقع افزایش بیش از حد مواد معدنی (بیش از حد مجاز) در آب و خاک با ورود به بافت‌های مختلف بدن، تغذیه نوزادان را با مشکل مواجه کرد. از سوی دیگر، در تیمار شاهد که در آن تنها از آب و خاک (ماسه-شنی) محیط طبیعی زالوی طبی استفاده شده بود، وجود عناصر معدنی مهم از جمله کلسیم و منیزیم و مواد آلی در آب و خاک محیط پرورش باعث گردید تا شرایط مناسبی برای تغذیه هرچه بهتر نوزادان فراهم شود (Mann, 1962, Spencer & Jones).

(2007).

مطالعه مشابهی در خصوص استفاده از پرمیکس مواد معدنی در محیط پرورش زالوی طبی صورت نگرفته است. در این بین مطالعات محدودی در مورد اثر استفاده از بسترهای پرورشی مختلف بر شاخص‌های زیستی زالوی طبی انجام شده که البته از لحاظ طراحی با پژوهش حاضر متفاوت بوده‌اند. در مطالعه‌ای اثر استفاده از بسترهای پرورشی متفاوت (تیمار ۱ خاک و آب و تیمار ۲ آب) بر شاخص‌های رشد، تولیدمثل و بقاء در گونه *Hirudinea spp.* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه مذکور نشان داد که استفاده همزمان از آب و خاک به‌عنوان محیط پرورش می‌تواند ضمن افزایش شاخص رشد، باعث تسریع در مرحله بلوغ جنسی و تولید پیله شود (Zulhisyam *et al.*, 2011). برخلاف مطالعه مذکور در مطالعه دیگری نشان داده شد که وجود مکان‌های مرطوب و صخره‌هایی با ارتفاع کم در زیر آب می‌تواند شرایط مناسبی را جهت رشد و تولیدمثل زالوی طبی فراهم آورد. در واقع در این مطالعه وجود خاک به‌عنوان یکی از بسترهای پرورش زالو اهمیت چندانی در بهبود شاخص‌های زیستی نداشت (Elliott & Mann, 1979). در مطالعات انجام شده هیچ‌گونه آنالیزی در خصوص نوع خاک و ترکیبات آلی و معدنی موجود در آب و خاک مدنظر و تعادل این ترکیبات با یکدیگر به‌منظور فراهم شدن یک بستر مناسب پرورش، صورت نگرفت. در پژوهش حاضر سعی شد تا با درک خصوصیات فیزیکی-شیمیایی آب و خاک بستر، ظرفیت زالو و واکنش‌های مثبت و منفی این موجود در مواجهه با ورود ترکیبات معدنی جدید به محیط پرورش مورد سنجش قرار گیرد.

مطالعات انجام شده در مورد سایر آبزیان در خصوص اثر استفاده از مواد معدنی بر شاخص‌های زیستی با نتایج متفاوتی همراه بوده است. این امر به طیف گسترده استفاده از مواد معدنی به‌صورت شیمیایی مختلف و اثر متقابلی که بین این مواد وجود دارد بر می‌گردد. در مطالعه‌ای که در گونه دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) صورت گرفت، نشان داده شد که غلظت‌های ۶۸۰ و ۱۴۰۰ میکروگرم در لیتر از عناصر مس و روی در محیط پرورش اثرات مطلوبی را در ارتباط با بهبود شاخص رشد موجب می‌شوند (De schamphelaere & Janssen, 2004). بر خلاف مطالعه مذکور در پژوهش دیگری تأثیر استفاده از برخی مواد معدنی موجود در آب محیط پرورش مانند سولفات مس بر شاخص رشد دافنی ماگنا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه مذکور نشان داد که افزایش بیش از حد سولفات مس (۳۰۰۰ میکروگرم در لیتر) با کاهش ۳۸ درصدی شاخص رشد (De schamphelaere *et al.*, 2007) همراه است. در مطالعه‌ای که تأثیر مواد معدنی موجود در محیط پرورش آرتمیای آب شور (*Artemia salina*) مورد بررسی قرار گرفت، نشان داده شد که افزایش بیش از حد مواد معدنی و در رأس آنها مس (۶۷ میلی‌گرم در لیتر)، جیوه (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و کادمیم (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) با کاهش چشمگیر ۵۰ درصدی میزان بقاء طی مدت ۱۲۴ ساعت همراه است (Gebhardt, 1976). نتایج این مطالعات نشان داد که اگرچه گونه‌های مورد بررسی از لحاظ زیستی با گونه زالوی طبی تفاوت دارند، با این حال افزودن سطوح مختلف مواد معدنی می‌تواند آثار و نتایج مطلوب و یا نامطلوبی را به‌همراه داشته باشد (De schamphelaere & Janssen, 2004; De schamphelaere *et al.*, 2007). در واقع افزودن ترکیبات معدنی به محیط پرورش صرفاً به‌عنوان یک عامل منفی و بازدارنده محسوب نشده و تعیین و استفاده از غلظت‌های مناسب این ترکیبات و بعضاً افزودن تدریجی آنها به بستر پرورش می‌تواند موجب بهبود شاخص‌های زیستی شود (Brix *et al.*, 2006). از طرفی، با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان اظهار داشت که زالوی طبی به‌دلیل حساسیت بالا و امکان زندگی در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند به‌عنوان شاخص مناسبی برای سنجش آلودگی‌های زیست-محیطی و مسمومیت آب (Petrauskiene, 2001) و نیز مطالعات سم‌شناسی مورد استفاده واقع شود. به‌عنوان مثال در مطالعه‌ای از غلظت‌های ۰/۱۳، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد فلزات سنگین مانند روی، منگنز، مس، نیکل، کادمیم و سرب در آب محیط پرورش زالوی طبی استفاده به‌عمل آمد (Petrauskiene, 2004). نتایج حاصل تغییراتی را از نظر وزن و رفتار تغذیه‌ای نشان داد، به‌گونه‌ای که با گذشت ۴ هفته، وزن زالوها در کلیه غلظت‌های مورد اشاره کاهش یافت. همچنین در غلظت ۲٪ از فلزات سنگین استفاده از وعده غذایی (خون گاو) به صفر درصد رسیده و در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد میزان دفع تا حد قابل توجهی (۵۰٪) کاهش یافت.

استفاده از پرمیکس مواد معدنی در محیط پرورش زالوی طبی بافت روده نوزادان را تحت تأثیر قرار داده و در تیمارهای ۱ و ۳ موجب تخریب بافت روده شد. در واقع در دو تیمار مذکور علاوه بر تورم بافتی، بخش‌های مختلف روده نیز دچار تغییر شکل شده و به‌طور کامل حالت طبیعی بافت روده از بین رفت. از طرفی، با وجود اینکه تیمار ۲ شرایط بهتری در مقایسه با دو تیمار مذکور

داشت، با این حال در مقایسه با تیمار شاهد از شرایط مطلوبی برخوردار نبوده و بخش‌های مختلف آن دچار تغییرات ساختاری محسوسی شد. از این رو افزودن مواد معدنی به محیط پرورش زالوهای نوزاد به واسطه افزایش بیس از حد این مواد در محیط آب و خاک موجب آسیب شدید بافت روده در زالوها گردید. در خصوص تأثیر مواد معدنی بر بافت روده در زالوها تاکنون مطالعه‌ای در سطح بین‌المللی انجام نشده است. اما در سایر آبزیان مطالعاتی مبنی بر تأثیر مواد معدنی موجود در محیط پرورش بر تغییرات بافت روده صورت گرفته است. به عنوان مثال در مطالعه‌ای که در دو گونه ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) و (*Lates niloticus*) انجام گردید، نشان داده شد که افزایش بیش از حد برخی از مواد معدنی از جمله مس، آهن، روی و کبالت موجب دژنره و نکروزه شدن بخش‌های مختلف روده می‌شود (Mohamed, 2008). از این رو می‌توان اظهار داشت که ماهیت برخی از مواد معدنی مانند آهن، روی و مس در غلظت‌های بیش از حد مجاز دچار تغییر شده و به جای بهبود شاخص‌های زیستی موجود زنده با ایجاد مسمومیت (Authman & Abbas, 2007) در آنها مانع بازده مناسب این شاخص‌ها شده و حتی اعمال حیاتی موجود را مختل می‌نمایند.

نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر این نکته است که افزودن عناصر معدنی به محیط پرورش طبیعی زالوها با افزایش بیش از حد مواد معدنی در محیط پرورش، تعادل آنها را بر هم زده و به تبع آن باعث کاهش بازدهی شاخص‌های زیستی در این موجودات می‌شود. البته اختلاف موجود در نتایج مطالعات مورد اشاره ممکن است به استفاده انواع متفاوت از مواد معدنی، طول دوره پرورش (Zulhisyam *et al.*, 2011) و خصوصیات فیزیولوژیکی گونه‌های مختلف (Elliott & Mann, 1979) نسبت داده شود. در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان اظهار داشت از آنجا که زالوها از زمان پیدایش تاکنون و طی یک دوره تکاملی محیط پرورش مطلوب خود را انتخاب و خود را با آن وفق داده‌اند (Sawyer, 1986; Elliott, 2008; Elliott & Kutschera, 2011)، بر همین اساس، عدم تطبیق‌پذیری آنها با محیط‌های غنی از مواد معدنی منطقی به نظر می‌رسد، زیرا روند پذیرش خاک و آب به عنوان یک بستر ایده‌آل پرورش توسط زالوها در یک دوره زمانی طولانی تثبیت شده است (Mann, 1962). از این رو این امکان وجود دارد که استفاده تدریجی از سطوح مختلف ترکیبات معدنی مختلف منجر به کاهش بروز حساسیت زالوها در طول زمان به این ترکیبات شده و حتی بهبود شاخص‌های زیستی را نیز به همراه داشته باشد.

۵. نتیجه‌گیری نهایی

به نظر می‌رسد زالوها در طول زمان، محیط زیست مناسب خود را از نظر کیفیت آب و خاک انتخاب کرده و خود را با آن سازگار می‌کنند. بر همین اساس، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی و همچنین پرورش انبوه زالوی طبی به صورت مصنوعی به این نکته مهم بیش از پیش توجه شده و خصوصیات فیزیکی-شیمیایی آب و خاک محیط پرورش زالوها به عنوان مبنای قابل اعتمادی برای پرورش مصنوعی آنها مورد توجه ویژه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

در پایان از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه تهران که بخشی از هزینه‌های انجام این تحقیق را متقبل گردید، سپاسگزاری به عمل می‌آید.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

References

- Abdi, K., Jalali, B., Moayedi, A., Naem, N., 1997. Investigation and identification of four new species of leech from Mahabad Dam Lake. *Pajouhesh Va Sazandgi* 36, 124-127. (In Persian).
- Abdullah, S., Dar, L. M., Rashid, A., Tewari, A., 2012. Hirudotherapy/Leech therapy: applications and indications in surgery. *Archives of Clinical Experimental Surgery* 1(3), 172-180. DOI:10.5455/aces.20120402072447.
- Ahmad, J., Azeez, A., Alam, M. A., Baseer, R., 2024. Effect of leech therapy in dermatophytosis: A randomized standard controlled trial. *Brain Behavior and Immunity Integrative* 8, 1-9. DOI.org/10.1016/j.bbii.2024.100090 100090.
- Aminov, R., Aminova, A., Frolov, A., Makyeyeva, L., 2025. Optimal artificial conditions for keeping and breeding medicinal leeches *Hirudo verbana* and *Hirudo orientalis*. *Annals of Parasitology* 71, 79-83. DOI: 10.17420/ap71.549.
- AOAC, 1980. Official Methods of Analysis, 13th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, USA.
- APHA, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th edition. American Public Health Association, Washington, USA.
- Authman, M.M., Abbas, H.H., 2007. Accumulation and distribution of copper and zinc in both water and some vital tissues of two fish species (*Tilapia zillii* and *Mugil cephalus*) of Lake Qarun, Fayoum province, Egypt. *Pakistan Journal of Biological Science* 10(13), 2106-2122. DOI: 10.3923/pjbs.2007.2106.2122.
- Borda, E., Siddall, M.E., 2004. Arhynchobdellida (*Annelida: Oligochaeta: Hirudinida*): phylogenetic relationships and evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30(1), 213-225. DOI: 10.1016/j.ympev.2003.09.002.
- Brix, K.V., Gerdes, R.M., Adams, W.J., Grosell, M., 2006. Effects of copper, cadmium, and zinc on the hatching success of brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 51(4), 580-583. DOI: 10.1007/s00244-005-0244-z.
- Dehghani, R., Hasanbeiki, O., Pourgholi, M., Asgari, J., 2014. Naragh suburb, center of Iran; a natural habitat of *Hirudo medicinalis*. *International Archives of Health Sciences* 1(1), 5-8.
- De schampelaere, K.A.C., Forres, I., Dierckens, K., Sorgeloos, P., Janssen, C.R., 2007. Chronic toxicity of dietary copper to *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* 81(4), 409-418. DOI: 10.1016/j.aquatox.2007.01.002.
- De schampelaere, K.A.C., Janssen, C.R., 2004. Effects of dissolved organic carbon concentration and source, pH, and water hardness on chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23(5), 1115-1122. DOI: 10.1897/02-593.
- Elliott, J.M., 2008. Population size, weight distribution and food in a persistent population of the rare medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *Freshwater Biology* 53(8), 1502-1512. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2008.01978.x.
- Elliott, J.M., Kutschera, U., 2011. Medicinal leeches: historical use, ecology, genetics and conservation. *Freshwater Biological Association* 4(1), 21-41. DOI: 10.1608/FRJ-4.1.417.
- Elliott, J.M., Mann, K.M., 1979. A key to the British freshwater leeches: with notes on their life cycles and ecology. *Freshwater Biological Association Scientific Publication*. ISBN 13: 9780900386381, 1-72.
- Gebhardt, K.A., 1976. Effects of heavy metals (cadmium, copper, and mercury) on reproduction, growth, and survival of brine shrimp (*Artemia salina*). Master's thesis, Utah State University.
- Gholami, A.A., 2005. A study on the systematics and habitats of leeches in northern Iran. Master's thesis. Field: Animal Biosystematics. University of Tehran. 86 p. (In Persian)
- Gouda, H. A., 2006. The effect of peritrich ciliates on some freshwater leeches from Assiut, Egypt. *Journal of Invertebrate Pathology* 93, 143-149. DOI.org/10.1016/j.jip.2006.06.005.
- Grosser, C., Pesic, V., 2008. *Dina farsa* sp. (*Annelida, Hirudinea: Erpobdellidae*) - a new leech species from Iran. *Lauterbornia Journal* 65, 15-26.
- Hosseini, M., Jadidi, A., Derakhshan Barjoei, M.M., Salehi, M., 2024. Application of leech therapy in medicine: A systemic review. *Frontiers in Medicine*, 11, 1417041. DOI 10.3389/fmed.2024.1417041.
- Hyson, J.M., 2005. Leech therapy: A history. *Journal of the History of Dentistry* 53(1), 25-27.

- Jalali, B., Asadollah, S., Mirzaei, F., Jalali, M., 2009. Freshwater Leeches with Emphasis on Fish-Parasitic Species. Nourbakhsh Publications, 232 p. (In Persian)
- Mann, K.H., 1962. Leeches (*Hirudinea*): Their Structure, Physiology, Ecology and Embryology. Pergamon, New York: 197 p.
- Mohamed, F.A.S., 2008. Bioaccumulation of selected metals and histopathological alterations in tissues of *Oreochromis niloticus* and *Lates niloticus* from lake Nasser, Egypt. *Global Veterinaria* 2(4), 205-218.
- Petrauskienė, L., 2001. Water toxicity assessment using medicinal leeches. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 4(2), 203-208. DOI: 10.1016/S0160-4120(02)00118-6.
- Petrauskienė, L., 2004. The Medicinal leech as a convenient tool for water toxicity assessment. *Environmental Toxicology* 19, 336-341. doi.org/10.1002/tox.20039.
- Pietrzak, A., Kanitakis, J., Tomasiewicz, K., Wawrzycki, B., Kozłowski, J., Dybiec, E., Chodorowska, G., 2012. Cutaneous complications of improper leech application. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 19(4), 790-792.
- Sawyer, R.T., 1986. Leech Biology and Behavior, Volume 2. Feeding Biology, Ecology & Systematic, Clarendon Press, Oxford, 375 p.
- Sawyer, R.T., 2013. History of the leech trade in Ireland, 1750–1915: microcosm of a global commodity. *Medical History* 57(3), 420-441. DOI: 10.1017/mdh.2013.21.
- Singh, A.P., 2010. Medicinal leech therapy (Hirudotherapy): A brief overview. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 16(4), 213-215. DOI: 10.1016/j.ctcp.2009.11.005.
- Spencer, W., Jones, G., 2007. The captive breeding and educational display of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *International Zoo Yearbook* 41(1), 138–144. Doi.org/10.1111/j.1748-1090.2007.00005.x.
- Tong, L., Dai, S.X., Kong, D.J., Yang, P.P., Tong, X., Tong, X. R., Bi, X.X., Su, Y., Zhao, Y.Q., Liu, Z.C., 2022, The genome of medicinal leech (*Whitmania pigra*) and comparative genomic study for exploration of bioactive ingredients, *BMC Genomics* 23(1), 76. DOI: 10.1186/s12864-022-08290-5.
- Unal, K., Erol, M.E., Ayhan, H., 2023. Literature review on the effectiveness of medicinal leech therapy in the wound healing. *Ankara Medical Journal* 23(1), 151-164. DOI: 151-164. 10.5505/amj.2023.20280.
- Van Dyk, J.C., Pieterse, G.M., 2008: A histo-morphological study of the testis of the sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) as reference for future toxicological assessments. *Journal of Applied Ichthyology* 24(4), 415–422. DOI.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01127.x.
- Zar, J.H. 1996. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, New Jersey, 960 p.
- Zulhisyam, A.K., Ismail, A.A., Omar, I.C., 2011. Requirements for culture media of local leech breeding. Annual International Conference on Advances in Biotechnology, In: Edited by Frederic Pio and Sanjay Kumar Varma, February, 2011, Malaysia, BIOTECH, pp. 978-981.