
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОВЕДЕНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ (*HIRUDO MEDICINALIS*) ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ СОДЕРЖАНИЯ

М. Юсефичахардехи¹, А.А. Никишов¹,
Б. Абтахи²

¹Кафедра стандартизации, метрологии и технологии
производства продукции животноводства
Российский университет дружбы народов
ул. Микулухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

²Факультет биологических наук
Шахид Бехешти университет, GC, Тегеран, Иран

Целью данного исследования было оценить распределение медицинской пиявки, *Hirudo medicinalis*, в объеме емкости и по типу движения, в рециркуляционной системе и найти оптимальную частоту обмена воды в этой системе. По результатам исследования установлено, что условия обитания, созданные в экспериментальной группе с оборотом воды 48 раз в сутки, оказали наилучшее положительное влияние на благосостояние медицинской пиявки.

Ключевые слова: медицинская пиявка, рециркуляционная система, тип движений.

Актуальность исследования. Европейская медицинская пиявка, *Hirudo medicinalis*, является типичным видом семейства Hirudinidae, наиболее известным за свойство кровопускания и использования в других медицинских целях [16]. Современное использование медицинских пиявок включает в себя не только медицинские цели [9], но и применение в качестве популярной модели животного в физиологических, нейробиологических, биохимических, гистологических и многих других исследованиях [8—15; 18; 20]. В последние годы некоторые популяции пиявок резко сократились из-за чрезмерной эксплуатации их в качестве приманки для рыбалки, в лечебных целях (особенно в Европе и Азии), потери водно-болотных угодий, особенно эвтрофных водоемов и болот по всей Европе [9] и вследствие загрязнения [21]. Поэтому они были включены Международным союзом охраны природы (IUCN) в Красную книгу беспозвоночных [19]. Таким образом, в целях удовлетворения спроса со стороны клинического применения китайской традиционной медицины и других научных исследований растет интерес к культивированию и размножению пиявок во многих странах [21].

Разведение пиявок для медицинских целей имеет ярко выраженный коммерческий потенциал, и в последнее время многие предприниматели приступили к разведению пиявок, но в своей работе они мало используют современные технологии и методы [1]. И все же старый метод М.В. Синевой [5] используется в различных версиях на биофабриках в России и Европе.

Учеными было показано, что поведение может быть чувствительным индикатором химически индуцированного стресса и патологий у водных организмов [15]. Изменения в опорно-двигательном аппарате или плавательной активности водных животных часто используются при исследовании экотоксичности как наиболее распространенной интегрированной поведенческой реакции [6; 17]. Однако подобных исследований о пиявках очень мало.

Хорошо известно, что избегание загрязненных вод является защитной реакцией животных. Однако мало что известно о реакции избегания медицинской пиявки [2; 7]. Поведенческие реакции медицинской пиявки, упомянутые выше, имеют большое биологическое значение и позволили бы лучше понять биологию и этологию пиявок и могут служить в качестве основы для совершенствования технологии искусственного разведения этого вида.

Цель исследования. Целью настоящего исследования было изучение характера движений и распределение медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) в объеме емкости при различных водных режимах.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили в лаборатории гирудокультуры и вермитехнологии аграрного факультета РУДН. Разведение медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) проводили в лабораторных условиях. Животные были в возрасте 10—11 месяцев с массой тела $1,6 \pm 0,1$ г. Пиявки были адаптированы к новым условиям в течение одной недели. Затем они были случайным образом распределены в 18-ти стеклянных банках. Емкость каждой банки составляла 3,5 л воды, в которой размещали 10 пиявок.

Экспериментальные банки были подключены к рециркуляционной системе со скоростью обмена воды: 0 (контроль, без оборота воды), 8, 16, 24, 36, и 48 раз в день. Объем банки условно разделили на 3 зоны (воздушная, толща воды и дно емкости) для экспертизы количественного распределения пиявок в емкости. Характер двигательной активности пиявок в течение дня (3 основных типа движения: плавательные, дыхательные и без движения) регистрировали девять раз в сутки. В ходе экспериментального периода температура колебалась в пределах $23 \pm 1,3$ °С. Исследование было проведено в течение 6 дней. Результаты исследований были обработаны с применением программных продуктов SPSS, MS Excel 2010.

Результаты исследований.

Распределение пиявок в емкости. Результаты изучения распределения пиявок в объеме емкости представлены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение пиявок в емкости

Зона емкости	Эксперимент	Число наблюдений	Показатель				
			<i>M</i>	min	max	<i>m</i>	σ
Дно	1	54	5,50 ^E	0	10	1,85	0,15
	2	54	7,39 ^D	1	10	1,91	0,15
	3	54	8,11 ^C	3	10	1,57	0,12
	4	54	8,52 ^B	4	10	1,38	0,11
	5	54	8,67 ^B	6	10	1,31	0,10
	6	54	9,36 ^A	7	10	0,87	0,09
Толща воды	1	54	2,62 ^A	0	6	1,65	0,13
	2	54	0,55 ^{BC}	0	3	0,77	0,06
	3	54	0,36 ^{CD}	0	4	0,71	0,06
	4	54	0,59 ^B	0	5	0,90	0,07
	5	54	0,27 ^D	0	2	0,56	0,04
	6	54	0,17 ^D	0	3	0,47	0,04

Зона емкости	Эксперимент	Число наблюдений	Показатель				
			<i>M</i>	min	max	<i>m</i>	σ
Над водой	1	54	1,88 ^A	0	7	1,50	0,12
	2	54	2,06 ^A	0	8	1,81	0,14
	3	54	1,53 ^B	0	6	1,48	0,12
	4	54	0,89 ^C	0	5	1,11	0,09
	5	54	1,07 ^C	0	4	1,15	0,09
	6	54	0,47 ^D	0	3	0,71	0,06

Обозначения: эксперимент 1 — без оборота воды (контрольная группа); эксперимент 2 — оборот воды 8 раз в сутки; эксперимент 3 — оборот воды 16 раз в сутки; эксперимент 4 — оборот воды 24 раза в сутки; эксперимент 5 — оборот воды 36 раз в сутки; эксперимент 6 — оборот воды 48 раз в сутки.

M — средняя арифметическая величина; *m* — ошибка репрезентативности средней арифметической величины; σ — стандартное отклонение.

Из данных табл. 1 видно, что существует значительное ($P < 0,05$) влияние скорости обмена воды на распределение пиявок во всех районах емкости. Количество пиявок в нижней части емкости было достоверно выше во всех экспериментальных группах по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$). Максимальное количество пиявок в донной области емкости было зафиксировано в 6-й группе ($9,36 \pm 0,09$), в то время как наиболее низкая численность пиявок в этом районе отмечалась к контрольной группе ($5,50 \pm 0,15$). В отличие от этого наибольшее количество пиявок в толще воды ($2,62 \pm 0,13$) наблюдалось в контрольной группе ($p < 0,05$). Наконец, в 6-й группе отмечено самое низкое количество пиявок в зоне над водой по сравнению с другими группами, в то время как самое большое количество пиявок в этом районе наблюдалось во 2-й и 1-й группах ($2,06 \pm 0,14$ и $1,88 \pm 0,12$ соответственно).

Распределение пиявок по типу движения. Результаты изучения основных видов движения пиявок в разных группах, в том числе плавательных, дыхательных и без движения, представлены в табл. 2. По результатам исследований максимальное количество плавающих пиявок было обнаружено во 2-й и 3-й группах ($0,27 \pm 0,05$ и $0,26 \pm 0,04$) с огромной разницей по сравнению с другими экспериментальными группами ($p < 0,05$).

Таблица 2

Распределение пиявок по типу движения

Тип движения	Эксперимент	Число наблюдений	Показатель				
			<i>M</i>	min	max	<i>m</i>	σ
Плавающее	1	54	0,14 ^{BC}	0	4	0,53	0,04
	2	54	0,27 ^A	0	3	0,58	0,05
	3	54	0,26 ^A	0	2	0,49	0,04
	4	54	0,20 ^{AB}	0	2	0,46	0,04
	5	54	0,07 ^C	0	1	0,25	0,02
	6	54	0,06 ^C	0	2	0,27	0,02

Тип движения	Эксперимент	Число наблюдений	Показатель				
			<i>M</i>	min	max	<i>m</i>	σ
Колебательное	1	54	0,94 ^A	0	5	1,07	0,08
	2	54	0,11 ^B	0	2	0,40	0,03
	3	54	0,09 ^B	0	2	0,30	0,02
	4	54	0,03 ^B	0	1	0,17	0,01
	5	54	0,12 ^B	0	2	0,38	0,03
	6	54	0,05 ^B	0	2	0,27	0,02
Без движения	1	54	8,93 ^C	5	10	1,13	0,09
	2	54	9,63 ^B	7	10	0,70	0,05
	3	54	9,65 ^B	8	10	0,56	0,04
	4	54	9,77 ^{AB}	8	10	0,48	0,04
	5	54	9,81 ^A	8	10	0,44	0,03
	6	54	9,89 ^A	8	10	0,37	0,03

Обозначения: эксперимент 1 — без оборота воды (контрольная группа); эксперимент 2 — оборот воды 8 раз в сутки; эксперимент 3 — оборот воды 16 раз в сутки; эксперимент 4 — оборот воды 24 раза в сутки; эксперимент 5 — оборот воды 36 раз в сутки; эксперимент 6 — оборот воды 48 раз в сутки.

M — средняя арифметическая величина; *m* — ошибка репрезентативности средней арифметической величины; σ — стандартное отклонение.

Наибольшее количество пиявок с дыхательными движениями были зафиксированы в контрольной группе ($0,94 \pm 0,08$). Наибольшее число пиявок без движений наблюдались в экспериментах 6 и 4, с $9,89 \pm 0,03$ и $9,81 \pm 0,03$ пиявок соответственно, в то время, как в контрольной группе было отмечено наименьшее количество — $8,93 \pm 0,09$ голов.

Обсуждение. К сожалению, несмотря на широкое использование пиявок в медицине, фармацевтической и косметической промышленности, в соответствии с литературными данными информация о биологии и поведения медицинских пиявок, разводимых на биофабриках, является недостаточной, и даже в некоторых случаях отсутствует. Определение оптимальных условий содержания является ключевым фактором для успешного выращивания и воспроизводства пиявок.

В данном исследовании было установлено, что проточная система имеет непосредственное воздействие на распределение пиявок в разных слоях емкости, что заключается в большем количестве пиявок на дне емкости во всех опытных группах по сравнению с контрольной группой.

Как было описано в предыдущих исследованиях, пиявки в течение суток имели тенденцию к размещению в нижней части емкости и находились там без движения [3; 4]. Но, скорее всего, из-за плохого качества воды и низкого содержания кислорода в нижней части банки в контрольной группе пиявки должны были перемещаться в верхние слои воды, где содержание кислорода выше, в то время как в банках с оборотной водой количество растворенного кислорода в слоях воды было практически равномерным, поэтому пиявки предпочитали отдыхать в нижней части воды без движения.

Большее количество пиявок с дыхательными движениями, а также меньшее их количество без движения в контрольной группе, по сравнению с опытными группами, подтверждает это предположение.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Жаров Д.Г. Секреты гирудотерапии, или как лечиться пиявками. Ростов-на-Дону: Феникс, 2003.
- [2] Лапкина Л.Н., Флеров Б.А., Чалова И.В., Яковлева И.И. Использование поведенческих реакций молоди пиявки для биотестирования // Вопросы сравнительной физиологии и водной токсикологии. Ярославль: Ярославск. госуниверситет, 1987. С. 11—17.
- [3] Михайлов С.В., Кустов С.Ю., Ярошенко В.А. Сезонная и суточная динамика активности медицинской пиявки в акваториях Краснодарского края (*Hirudo medicinalis* L.) // Фундаментальные исследования. 2006. № 3. С. 21—24.
- [4] Рассадина Е.В. Экологически обоснованная биотехнология воспроизводства *Hirudo medicinalis* L. в лабораторных условиях: Дисс. ... канд. биол. наук. Ульяновск, 2006.
- [5] Синева М.В. Биологические наблюдения над размножением медицинской пиявки // Зоологический журнал. 1994. Т. 28. № 3. С. 213—224.
- [6] Флеров Б.А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных. Ленинград: Наука, 1989.
- [7] Флеров Б.А., Лапкина Л.Н. Избегание растворов некоторых токсических веществ медицинской пиявкой // Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1976. № 30. С. 48.
- [8] Blackshaw S.E., Nicholls J.G. Neurobiology and development of the leech // J Neurobiol., 1995, 27(3): 267—76.
- [9] Elliott J.M., Kutschera U. Medicinal leeches: historical use, ecology, genetics, and conservation // Freshw. Rev., 2011, 4: 21—41.
- [10] Huguet G., Molinas M. Changes in epithelial cells in *Hirudo medicinalis* during wound healing // J Invertebr Pathol., 1992, 59:11—7.
- [11] Huguet G., Molinas M. Myofibroblast-like cells and wound contraction in leech wound healing // J Exp Zool., 1996, 275:308—16.
- [12] Kristan Jr W.B., Weeks J.C. 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., 1983. P. 243—60.
- [13] Nicholls J.G., Martin A.R., Wallace B.G. From neuron to brain. Massachusetts: Sinauer Associates, Sunderland, 1992.
- [14] Petrauskienė L. Neuronal mechanism of electrotaxis // Acta Hydrobiol Litu. 1987. 6: 28—36.
- [15] Petrauskienė L. Water and sediment toxicity assessment by use of behavioural responses of medicinal leeches // Environ. Intern. 2003. 28: 729—736.
- [16] Phillips A.J., Siddall M.E. Phylogeny of the New World medicinal leech family Macrobdellidae (Oligochaeta: Hirudinida: Arhynchobdellida) // Zool Scripta. 2005. 34 (6):559—564.
- [17] Rand G.M. Behaviour. In: Rand G.M., Petrocelli S.R., editors // Fundamentals of aquatic toxicology. New York: Hemisphere Publishing, 1985.
- [18] Sawyer R.T. Leech Biology and Behavior. New York: Oxford University Press, 1986.
- [19] Wells S.M., Pyle R.M., Collins N.M. The IUCN Invertebrate Red Data Book. IUCN // The World Conservation Union. Cambridge, UK, 1983.
- [20] Zapkuvienė D., Petrauskienė L. Medicinal leech: anatomy, physiology, ecology. Vilnius: Institute of Ecology, 2000.
- [21] Zhang B., Lin Q., Lin J., Chu X., Lu J. Effects of broodstock density and diet on reproduction and juvenile culture of the leech, *Hirudinaria manillensis* Lesson, 1842 // Aquaculture. 2008. 276: 198—204.

A COMPARATIVE BEHAVIORAL EVALUATION OF THE MEDICINAL LEECH (*HIRUDO MEDICINALIS*) UNDER DIFFERENT CONTAINING REGIME

M. Yousefchahardehi¹, A.A. Nikishov¹, B. Abtahi²

¹Department of standardization, metrology
and technology of the livestock products
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russia, 117198

²Faculty of Biological Sciences
Shahid Beheshti University, G.C., Tehran, Iran

The purpose of this study was to evaluate the distribution of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*, in the containers, type of motion in the water recirculating system, and to find the optimal frequency of exchange of water in this system. According to the results, there are found that the living conditions, created in the experimental group with a recirculation of water at the rate of 48 times a day, had the best positive impact on the welfare of the medicinal leech.

Key words: medical leech, recirculation system, the type of motion.

REFERENCES

- [1] Zharov D. G. *Sekrety girudoterapii, ili kak lechit'sja pijavkami*. Rostov-na-Donu: Feniks, 2003.
- [2] Lapkina L.N., Flerov B.A., Chalova I.V., Jakovleva I.I. *Ispol'zovanie povedencheskih reakcij molodi pijavki dlja biotestirovanija // Voprosy sravnitel'noj fiziologii i vodnoj toksikologii. Jaroslavl': Jaroslavsk. gosuniversitet, 1987. S. 11—17.*
- [3] Mihajlov S.V., Kustov S.Ju., Jaroshenko V.A. *Sezonnaja i sutochnaja dinamika aktivnosti medicinskoj pijavki v akvatorijah Krasnodarskogo kraja (Hirudo medicinalis L.) // Fundamental'nye issledovanija. 2006. № 3. S. 21—24.*
- [4] Rassadina E.V. *Jekologicheskij obosnovannaja biotehnologija vosproizvodstva Hirudo medicinalis L. v laboratornyh uslovijah: Diss. ... kand. biol. nauk. Ul'janovsk, 2006.*
- [5] Sineva M.V. *Biologicheskie nabljudenija nad razmnozheniem medicinskoj pijavki // Zoologicheskij zhurnal. 1994. T. 28. № 3. S. 213—224.*
- [6] Flerov B.A. *Jekologo-fiziologicheskie aspekty toksikologii presnovodnyh zhivotnyh. Leninograd: Nauka, 1989.*
- [7] Flerov B.A., Lapkina L.N. *Izbeganie rastvorov nekotoryh toksicheskikh veshhestv medicinskoj pijavkoj // Biologija vnutrennih vod: Inform. bjul. L., 1976. N 30. S. 48.*
- [8] Blackshaw S.E., Nicholls J.G. *Neurobiology and development of the leech // J Neurobiol. 1995. 27(3): 267—76.*
- [9] Elliott J.M., Kutschera U. *Medicinal leeches: historical use, ecology, genetics, and conservation // Freshw. Rev. 2011. 4: 21—41.*
- [10] Huguet G., Molinas M. *Changes in epithelial cells in Hirudo medicinalis during wound healing // J Invertebr Pathol. 1992. 59:11—7.*
- [11] Huguet G., Molinas M. *Myofibroblast-like cells and wound contraction in leech wound healing // J Exp Zool. 1996. 275:308—16.*
- [12] Kristan Jr W.B., Weeks J.C. *Neurons controlling the initiation, generation and modulation of leech swimming. In: Roberts A., Roberts B., editor. Neural origin of rhythmic movements // Soc Exp Biol Symp., vol. 37. Cambridge: Cambridge Univ Press., 1983. P. 243—60.*
- [13] Nicholls J.G., Martin A.R., Wallace B.G. *From neuron to brain. Massachusetts: Sinauer Associates, Sunderland, 1992.*

- [14] Petrauskienė L. Neuronal mechanism of electro taxis // *Acta Hydrobiol Litu.* 1987. 6: 28–36.
- [15] Petrauskienė L. Water and sediment toxicity assessment by use of behavioural responses of medicinal leeches // *Environ. Intern.* 2003. 28: 729—736.
- [16] Phillips A.J., Siddall M.E. Phylogeny of the New World medicinal leech family Macrobdellidae (Oligochaeta: Hirudinida: Arhynchobdellida) // *Zool Scripta.* 2005. 34 (6):559—564.
- [17] Rand G.M. Behaviour. In: Rand G.M., Petrocelli S.R., editors // *Fundamentals of aquatic toxicology.* New York: Hemisphere Publishing, 1985.
- [18] Sawyer R.T. *Leech Biology and Behavior.* New York: Oxford University Press, 1986.
- [19] Wells S.M., Pyle R.M., Collins N.M. *The IUCN Invertebrate Red Data Book.* IUCN // The World Conservation Union. Cambridge, UK, 1983.
- [20] Zapkuvienė D., Petrauskienė L. *Medicinal leech: anatomy, physiology, ecology.* Vilnius: Institute of Ecology, 2000.
- [21] Zhang B., Lin Q., Lin J., Chu X., Lu J. Effects of broodstock density and diet on reproduction and juvenile culture of the leech, *Hirudinaria manillensis* Lesson, 1842 // *Aquaculture.* 2008. 276: 198—204.