Journal of Aquaculture Development
Vol. 19, No. 1, 2025, Pages: 133-146
DOI: 10.71901/jad-2025-2-869

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

The effect of aqueous extract of cashew, cinnamon and oak leaves on the survival, microbial load and morphological diseases of Iranian medicinal leech (*Hirudo orientalis*)

Safavipour, S.[1*], Shaloui, F[2], Tavakoli Esfahani, S.M.[3]

1-Young Researchers and Elites Club of Iran, Isfahan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
3-Iranian Leech Industry Knowledge-Based Group, Isfahan, Iran

Received: 13 October 2024 **Accepted: 11 January 2025**

Extended Abstract:

Introduction: According to the development of the fisheries sector in the country, leech therapy has a long history in traditional medicine, but leech breeding and propagation is a new science that has a young history in the country. A period of leech breeding from larvae to market must feed on blood more than 4 times. One of the most frequent cases of losses in the farm is after each feeding, which causes many leeches to transform from a healthy form to a deformed form, increasing the mortality rate. today, the role of immunity in the management of farmed leech diseases by increasing the strength of the leech's innate immune system is undeniable, which should focus on controlling diseases in the aquatic environment using the membrane immune system and through the consumption of healthy blood and the use of natural plant materials instead of chemical antibiotics.

Materials and Methods: In this study, 100 leeches from patients with deforming disease and a control group were divided into 5 treatments (control, treatment containing 1.5 ml of extract, treatment containing 3 ml of extract, treatment containing 6 ml of extract, treatment containing 9 ml of extract) and 4 replications over 75 days with an average base weight of 2.5 g in a completely randomized design. the same mixture of herbal extracts of cashew, cinnamon and oak was kept in an aquatic environment and were charged daily and the water was changed every day. The weight and microbial load on the body surface of the leeches and the survival and deformity status of the leeches were also examined.

Results and Discussion: The results showed that the consumption of herbal extract did not show significant changes in the weight of the leeches at the end of the period. Also, the treatment that had the most positive response to the doses was the 9 ml treatment of herbal extract, which showed the lowest microbial load. with increasing the dose of herbal extract, the response to the disease increased, the mortality decreased, and the survival of the leeches increased. Also, regarding the morphological parameter of the leech, the results showed that the consumption concentration of 6 and 9 ml had the greatest effect on restoring the deformity of the leeches and improving their physical condition and

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

transforming them into healthy and smooth leeches. Overall, the results showed that consuming a mixture of herbal extracts of sweet almond leaves, cinnamon, and oak containing phenols and tannins, which have antioxidant and antibacterial properties, can improve the immune and physical conditions of leeches and ensure their health without causing side effects during their life cycle. So far, no experimental design has been conducted on the morphological disease of Iranian leech in the country, but overall the results show that increasing the dosage of herbal extract (concentration of 9 ml) has been able to have a better performance on leeches than other experimental groups. Also, the active ingredients in herbal extract are known to have the power to inhibit bacteria, prevent inflammation, regenerate tissue and mucous membranes, which causes greater flexibility. It also strengthens the tendencies (reproduction, nutrition, physical activities, etc.) of leeches and makes them resistant to microbial infections. In the presence of bacterial or fungal infections, it has very positive effects on their immune system, which is even able to bind to heavy metals in the water and make them harmless, which increases the quality of the water, which can directly interfere with the distribution of the microbial load on the leech's body surface.

Conclusion: The importance of aquaculture in the leech sector has been greatly strengthened today. global warming and the complete drying of natural habitats, the decline in the fishing leech population, and increased demand have led to an increase in the global leech rate, which confirms the scenario that leech breeding and reproduction can be beneficial and profitable in the long term, which is currently a relatively unknown field that requires extensive scientific research to promote and develop but due to the fact that today in our country and even in the world there is no special medicine or supplement for leech diseases, the use of herbal supplements has been able to improve the condition of sick leeches(Deformity disease (locking)) to some extent and prevent widespread losses in the fields of this precious animal, so instead of using chemical antibiotics that have a fatal effect on the digestive flora of the leech digestive system and cause antibiotic resistance, there is a need for extensive research on other medicinal plants in the aquatic field on leech diseases to shed light on leech diseases be a pioneer in the industry.

Acknowledgment: The authors of this article express their gratitude to the field and laboratory personnel of Shahrekord University, Mr. Rahimi, the head of the science and technology park of Chaharmahal and Bakhtiari province, and the experts who helped us to provide the conditions for this research.

Keywords: : medical leech, cultivation and propagation, medicinal plants, morphological disease

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

* *Corresponding Author: s.safavipour@iau.ir*

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال نوزدهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۴، صفحه های ۱۴۶-۱۳۳
DOI: 10.71901/jad-2025-2-869

"مقاله پژوهشی"

تأثیر عصاره آبی برگ بادام هندی، دارچین و بلوط بر زنده‌مانی، بار میکروبی و بیماری‌های مرفولوژیک زالوی طبی ایرانی (*Hirudo orientalis*)

سعید صفوی پور[۱*]، فردین شالویی[۲]، سید محمد توکلی اصفهانی[۳]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان ایران، واحد اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳-گروه دانش بنیان صنعت زالوی ایران، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۲

چکیده

با توجه به توسعه بخش شیلات در کشور، زالودرمانی تاریخ دیرینه در طب سنتی دارد اما پرورش و تکثیر زالو از علوم نوینی است که قدمتی نوپا در کشور دارد، یک دوره پرورش زالو از لارو تا به بازار عرضه گردد باید بیش از ۴ مرتبه از خون تغذیه کند، یکی از بیشترین موارد تلفات در مزرعه بعد از هر تغذیه است که زالوهای بسیاری از فرم سالم به شکل دفرمه تبدیل و نرخ مرگ و میر را افزایش می‌دهد. امروزه نقش ایمنی در مدیریت بیماری‌های زالوی پرورشی از طریق افزایش قدرت سیستم ایمنی ذاتی زالو انکارناپذیر است که باید تمرکز بر روی کنترل بیماری ها در محیط آبی با استفاده از سیستم ایمنی غشایی و از طریق مصرف خون بهداشتی و استفاده از مواد طبیعی گیاهی به جای استفاده از آنتی بیوتیک های شیمیایی باشد. در این تحقیق از ۱۰۰ زالوی طبی ایرانی (*Hirudo orientalis*) بیمار دارای عوارض دفرمه و گروه شاهد در قالب ۵ تیمار (شاهد، تیمار حاوی ۱/۵ میلی لیتر عصاره، تیمار حاوی ۳ میلی لیتر عصاره، تیمار حاوی ۶ میلی لیتر عصاره، تیمار حاوی ۹ میلی لیتر عصاره) و ۴ تکرار طی ۷۵ روز با وزن پایه میانگین ۲/۵ گرم در یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مخلوط یکسان عصاره‌های گیاهی بادام هندی، دارچین و بلوط در محیط آبی نگهداری زالوها روزانه شارژ و هر روز تعویض آب انجام می‌گردید. وزن گیری، بار میکروبی سطح بدن زالو، وضعیت زنده‌مانی و بدشکلی زالوها نیز بررسی گردید، نتایج نشان داد که مصرف عصاره گیاهی تغییرات معنی‌داری را بر روی وزن زالوها در انتهای دوره نشان نداد. بیشترین واکنش مثبت نسبت به دوز ها در تیمار ۹ میلی‌لیتر مصرف کننده عصاره گیاهی بود که کمترین میزان بار میکروبی را نشان داد. با افزایش دوز مصرف عصاره گیاهی میزان واکنش به بیماری بیشتر شده و تلفات کاهشو زنده‌مانی زالوها افزایش داشته است. همچنین در خصوص پارامتر مورفولوژیکی زالو، نتایج نشان داد که غلظت مصرفی ۶ و ۹ میلی‌لیتر بیشترین تأثیر را در بازگردانی بدشکلی زالوها و بهبود شرایط بدنی و تبدیل آنها به زالوی سالم و صاف داشته است. در کل نتایج نشان داد که مصرف مخلوط عصاره‌های گیاهی برگ بادام هدف، دارچین و بلوط حاوی فنول و تانن ها که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی دارند، می‌توانند در چرخه زندگی زالوها بدون ایجاد عوارض جانبی شرایط ایمنی و فیزیکی‌شان را بهبود و سلامت‌شان را تضمین کنند.

کلمات کلیدی: زالوی طبی، تکثیر و پرورش، گیاهان دارویی، بیماری مورفولوژیک

* عهده‌دار مکاتبات: s.safavipour@iau.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

مقدمه

درصد بالای نرخ مرگ و میر زالوهای طبی در مراکز پرورش و تکثیر باعث هدررفت منابع مالی زیادی در صنعت زالو در کشور می‌شود (Chahardehi *et al*., 2016). با توجه به اینکه آنتی‌بیوتیک‌ها داروهای ارزشمندی برای درمان بسیاری از بیماری‌های انسانی و دامی می‌باشند. با این حال استفاده بیش از حد از این داروها و وجود مکانیسم‌های پیچیده و هوشمند ایجاد کننده مقاومت در باکتری‌ها سبب شده است که مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک ها، از جمله معضلاتی که در طی دهه‌های اخیر همواره گریبانگیر سیستم‌های پزشکی و درمانی باشد. این مسئله باعث می‌شود تا بشر به فکر جایگزین کردن عوامل ضد میکروبی مؤثر و با عوارض جانبی کمتر به جای مواد ضد میکروبی با اثر کمتر و عوارض ناخواسته بیشتر باشد. ترکیب بسیاری از عصاره‌های گیاهی قادر به از بین بردن انواع ترکیبات فعال اکسیژن دار و به موجب آن می‌توانند به طور مستقیم از اثرات تنش اکسایشی بکاهند. این ترکیبات همچنین می‌توانند به طور غیرمستقیم و از طریق فعال نمودن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی نقش حفاظتی خود را اعمال نمایند (Pour Hashemi and Panahi, 2012). تحقیقات نشان داده است که عصاره گیاهان دارویی مانند دارچین، و برگ بادام هندی یا میوه بلوط خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی می‌باشند. ترکیبات گیاهان فوق معمولاً شامل: عصاره غنی از آزولن ها و دیگر ترکیبات فارنزول، لینالول، آلفا هومولن، کاریوفیلن، ترپینیول، آلفا مورولن و کادینن است. همچنین حاوی مقدار کمی از آلفا توجون است، اسید فرمیک، اسید والرینیک، اسید سالیسیک و استوکسی بنزآلدیید از دیگر ترکیبات است فلاونوییید ها و ترکیبات فنلی مانند: آپی ژنین، لوتیولین گلوکوزید، کاسموزین، ویتکسین، ایزو ویتکسین وجود دارد. اسید آمینه و الکالوییدهایی مانند: استاشیدرین، تریگونلین و بتونیسین وجود دارد. همچنین کومارین، استرول‌های گیاهی مثل تانن‌ها نیز جزو اصلی آن به حساب می‌آیند (McSweeney *et al*., 2001). اصطلاح تانن برای اولین بار در سال ۱۷۹۶ توسط سیگوین در تشریح مواد استخراج شده از بعضی از گیاهان به کار گرفته شد، که می‌توانستند در روند تبدیل پوست حیوانات به چرم نقش بسزایی داشته باشند. تانن‌ها که به اسم‌های دیگری چون اسید تانیک، گالوتانن و اسیدگالوتانیک نیز شناخته شده‌اند، ترکیبات پیچیده طبیعی هستند که از مواد شیمیایی پلی فنلی تشکیل شده‌اند و در پوست، برگ و ریشهٔ اکثر گیاهان از جمله چای، دارچین و خصوصاً برگ بادام هندی به وفور یافت می‌شود. این مواد با وزن مولکولی بالا و دارای تعداد قابل ملاحظه‌ای گروه هیدروکسیل فنلیک هستند که امکان تشکیل ارتباطات تقاطعی بین پروتئین و سایر ماکرومولکول ها را میسر می‌سازد. این مواد همچنین شامل گروهی از فنل‌های غیرپروتئینی سمی هستند که گاهی خاصیت قابض بودن دارند (Hagerman *et al*., 1998). تانن‌ها از دو گروه تانن‌های قابل هیدرولیز و تانن‌های متراکم تشکیل شده‌اند، تانن‌های قابل هیدورلیز در چوب، برگ‌ها، میوه‌ها و پوست گیاهان یافت می‌شوند. این ترکیبات دارای هسته مرکزی می‌باشند که مرکز تشکیل ساختار آنها تانن‌ها می‌باشند. این ترکیب متعلق به دسته‌ای از مواد به نام گالوتانن‌ها است. گالوتانن از یک پلی آلال مرکزی همانند گلوکز و چندین واحد اسید گالیک تشکیل شده‌اند که در بادام هندی و و بلوط این خواص

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

نمایانگر تر هستند (Dobre *et al*., 2011). تحقیقات نشان داده است که ایمنی زالوها اکثراً وابسته به نوع باکتری همزیست آنها دارد (Malek and Khodadoust, 2015)، زالوها خون را به سرعت هضم نمی‌کنند و مقدار کمی از آنزیم‌های هضمی را خودشان تولید می‌کنند. اما در عوض بر آنزیم‌های تولید شده توسط فلور میکروبی هم سفرگان داخلی تکیه می‌کنند. زالوها دارای باکتری‌هایی در روده هستند که آنزیم‌های خاصی را تولید می‌کنند. باکتری‌های هم سفره که گونه‌های خاصی دارند آنزیم‌های هضمی تخصصی تولید می‌کنند. زالوهای خون‌خوار مانند *هیرودو مدیسینالیس* (*Hirudo medicinalis*) یک گونه باکتری به نام *آئروموناس هیدروفیلا* (*Aeromonas hydrophila*) را در روده خود دارد که دو وظیفه‌ی مهم آن عبارتند از: این باکتری یک ماده آنتی بیوتیک ترشح می‌کند که از رشد سایرباکتری‌ها ممانعت کرده و به دنبال آن تجزیه خون را که به مدت طولانی در سیستم گوارشی آنها باقی می‌ماند به تعویق می‌اندازد و دیگری اینکه این باکتری واجد مواد آنزیمی است که نقش مهمی در هضم و جذب مواد غذایی زالو ایفا می‌کنند (Ceylan *et al*., 2023). به نظر می‌رسد بخشی از نیاز ویتامینی زالوها به کمک باکتری‌های روده آنها تأمین می‌شود که مصداق دقیقی از رابطه همسفرگی داخلی است. در زمان تغذیه زالوهای طبی چینه دان آنها را با خون پر می‌کنند. چینه دان زالوها، بزرگ تر و وسیع تر از روده است و محلی است که عمل هضم انجام می‌گردد. خون می‌تواند در چینه دان زالوها به مدت طولانی باقی مانده و به آرامی و به کمک آنزیم باکتریایی تجزیه شود. آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی چینه دان مانع از فساد و همولیزخون به وسیله میکروارگانیسم‌های خارجی می‌شوند، تا باکتری‌های هم سفره زالو بتوانند خون را تجزیه کنند، همین عمل باعث می‌شود که زالوها حتی تا یک سال نیاز به غذا در طبیعت نداشته باشند و از ذخایر چینه دان های خود برای برطرف کردن نیاز بدن خون استفاده می‌کنند (Safavipour *et al*., 2017). امروزه نقش ایمنی در مدیریت بیماری‌های زالو پرورشی از طریق افزایش قدرت سیستم ایمنی ذاتی زالو انکارناپذیر است که باید تمرکز بر روی کنترل بیماری‌ها با استفاده از سیستم ایمنی زالو و از طریق مواد مؤثر باشد (Chery, 2015). در این امر رابطه ثابتی بین عامل بیماری‌زا در جهت حمله و میزبان در جهت دفع این حمله وجود دارد. صنعت زالو در کشور به دلیل نوپا بودن نیاز به شناخت عظیمی از بیماری‌های این موجود و شناسایی آنها به پرورش دهندگان دارد. همواره عدم وجود تعادل بین میزبان، عامل بیماری‌زا و محیط شرایط لازم را برای تهاجم عامل بیماری فراهم می‌کند و در نهایت سبب برانگیختن پاسخ ایمنی می‌شود. پرورش زالوی طبی در ایران معمولاً به صورت سنتی و در محیط‌های باز و نیمه باز صورت می‌گیرد (Malek *et al*., 2019). به دلیل طولانی بودن طول دوره پرورش زالوهای طبی (۶ تا ۸ ماه) و طول دوره تکثیر (۱۰ الی ۱۲ ماه)، بازدهی تولید پایین بوده و با استفاده از این روش، تولید در سطح انبوه از توجیه اقتصادی مناسبی برخوردار نیست. امروزه روش پرورش، اعمال مدیریت بر میزان، زمان تولید و همچنین تعداد دفعات تغذیه و طول دوره رشد و تولیدمثل از سطح قابل قبولی برخوردار نخواهد بود. وجود تلفات زیادی در مزارع پرورش و تکثیر زالو به یک معضل بزرگ برای تولید کنندگان و پرورش دهندگان تبدیل شده است که ناشی از مدیریت نامناسب و تغذیه غلط و عدم استفاده از یک

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

خون بهداشتی و استریل و کمبود دانش فنی در این زمینه می‌باشد (Ceylan *et al*., 2015)، که هدف و نوآوری ما هم در این موضوع، بررسی بالینی اثرات گیاهان دارویی بادام هندی، دارچین و بلوط بر زنده‌مانی، بار میکروبی سطح بدن و ناهنجاری‌های مورفولوژیکی زالوها بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در پاییز و زمستان ۱۴۰۲ در آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه شهرکرد به مدت ۷۵ روز انجام شد. در این آزمایش با ۱۰۰ قطعه زالوی طبی بیمار (بیماری بدشکلی) با وزن تقریبی ۲/۵ گرم (سایز ۷ الی ۱۰سانتیمتر) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، هریک با ۴ تکرار و ۵ قطعه زالوی طبی در هر تکرار انجام گرفت. زالوها از مجموعه دانش بنیان صنعت زالوی ایران واقع در پارک علم و فناوری شهرکرد خریداری شدند. قبل از شروع آزمایش محوطه سالن کاملاً تمیز شد. تانک آب مورد استفاده در تمام طول دوره شرایط یکسانی داشت و مشخصات فیزیکوشیمایی آب (از قبیل آمونیاک، سختی آب و کلر) روزانه چک و بررسی می‌شد.

شرایط و نحوه‌ی نگهداری از زالوها در شرایط ازمایشگاهی

شرایط استانداردی که زالوها باید در آن قرار بگیرند شامل شرایط دمایی و آبی ویژه‌ای است. زالوها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در پت‌های پلاستیکی به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر تعداد ۵ زالوی طبی قرار داده شد. به منظور جلوگیریاز فرار زالوها، درب پت ها با استفاده از تور و کش بسته شد تا جریان هوا نیز برقرار باشد. تعویض آب بعد از مصرف مکمل عصاره‌های گیاهی هر روز در ساعت مشخص با چک کردن و سورت بندی روزانه، جدا کردن تلفات و زالوهای سالم از زالوهای بیمار انجام گرفت. در نهایت دوز مصرفی در هر تیمار و تکرار تزریق شد و کلیه مشاهدات عینی ثبت گردید.

عصاره گیری گیاهی و بررسی‌های آن در شرایط INVITRO

تهیه این عصاره گیاهی با نام تجاری «کاتالیچ» از شرکت زیست دانه ایرانیان مستقر در مرکز رشد پارک علم و فناوری شهرکرد با حجم ۱۰ لیتر برای این آزمایش تهیه شد. روش کار تهیه این عصاره به نقل از منبع مذکور به شرح زیر است:

گیاهانی به ترتیب برگ بادام هندی، میوه ی بلوط، پوست درخت دارچین جمع آوری و شناسایی شده و عصاره‌گیری از هر کدام توسط روش هریکیریشنان (Harikrishnan *et al*., 2009) انجام شد. در این روش از هر گیاه صد گرم پودر شده برای عصاره‌گیری با اتانول ۷۰ درصد و آب مقطر استفاده شد. جداسازی حلال با استفاده از روتاری تبخیرکننده انجام و عصاره باقیمانده در ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند. سپس به میزان لازم رقیق سازی با آب مقطر انجام گرفت، در ادامه با استفاده از روش چاهک (Method well) که توسط Magiorakos و همکاران در سال ۲۰۱۲ ارائه شد، ابتدا میزان ۶۰ میکرولیتر از هریک از عصاره‌ها به گوده‌های میلی‌متری ایجاد شده در روی محیط کشت بلاد آگار اضافه و محیط‌ها در دمای ۳۰ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و سپس میزان قطر هاله ایجاد شده (عدم رشد)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

باخط کش درحد میلی‌متر اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که عصاره آبی مصرفی توانسته است فعالیت ضد باکتریایی داشته باشد و انتخاب آنها در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت و طی نسبت های یکسان با یکدیگر مخلوط شدند که این مخلوط آبی «کاتالیچ» نام دارد.

تیمارهای آزمایشی

A: گروه کنترل زالوی بیمار بدون استفاده از مخلوط عصاره گیاهی (کاتالیچ) (شاهد)

B: گروه با افزودن مخلوط عصاره گیاهی (کاتالیچ) به آب ظرف به میزان ۱/۵ میلی‌لیتر روزانه

C: گروه با افزودن مخلوط عصاره گیاهی (کاتالیچ) به آب ظرف به میزان ۳ میلی‌لیتر روزانه

D: گروه با افزودن مخلوط عصاره گیاهی (کاتالیچ) به آب ظرف به میزان ۶ میلی‌لیتر روزانه

E: گروه با افزودن مخلوط عصاره گیاهی (کاتالیچ) به آب ظرف به میزان ۹ میلی‌لیتر روزانه

در طول آزمایش تغذیه زالوها صورت نگرفت. در این آزمایش وزن زالوهای هر تکرار به صورت گروهی پس از اعمال ۴ ساعت از بدو ورود به سطل ها و در سه مرحله تعیین و ثبت شد. در بدو ورود زالوها به مزرعه یک آزمایش کشت باکتریایی از سطح مقطع زالوها (پوست) انجام و گزارشات آن ثبت شد. همچنین برنامه نوردهی سالن بصورت متناوب با ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی بود.

شاخص‌های مورد اندازه گیری

بررسی حیات و وضعیت مرفولوژیکی زالوها

در هنگام ورود زالوها به سالن تمامی آنها وزن کشی شده و تعداد ۵ عدد در هر پت با شرایط قرنطینه‌ای و میانگین وزن یکسان قرار داده شد. دمای سالن در بدو ورود زالوها روی ۱۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید و پس از ۲۴ ساعت دما روزانه افزایش و به دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) رسید. زالوی بیمار در این طرح زالویی بود که به بیماری بدشکلی یا تغییر شکل ظاهری زالو دچار بود و در بازار مصرف به آن بیماری سوسیسی نیز می‌گویند. جهت ارزیابی زنده‌مانی زالوها، هر روزه همه تکرارهای آزمایشی مورد بازرسی و به محض مشاهده تلفات، لاشه زالوهای تلف شده جمع آوری و ثبت گردید. یکی از پارامترهای مهم بازار فروش زالوها علاوه بر گیرایی آنها خصوصیات مورفولوژیکی زالوی زنده است که باید عاری از نقص باشد. برای این کار هر روزه خصوصیات مورفولوژیک زالوها (شکل ظاهری آنها که بایستی سالم و صاف و بدون تورفتگی و تغییر شکل باشد) مورد بررسی قرار می‌گیرد (Safavipour *et al*., 2017). به محض مشاهده بهبودی در زالوهای طرح آن زالو سریعاً جدا می‌گردید و به ظرف قرنطینه بیست روزه منتقل می‌شد. در نهایت زنده‌مانی و بدشکلی آن‌ها بر اساس درصد بیان شد.

بررسی توزیع بار میکروبی زالوها

در ابتدا جهت بررسی توزیع بار میکروبی و کشت نوع باکتری‌ها موجود در سطح پوست زالوهای بیمار، چند نمونه از آنها به آزمایشگاه معتمد سازمان دامپزشکی استان اصفهان (آرین دام) ارسال شد. نتایج نشان داد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) و پروتئوس اس پی پی (*Proteus s.p.p*) و ای کلای (*Escherichia coli*) در تمام نمونه ها مشترک است. سپس جهت بررسی توزیع

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

بار میکروبی در طول دوره از روش توتال کانت (Total Count) یا شمارش کلونی که سال ۱۳۸۱ توسط موسسه استاندارد و تحقیقات ایران ارائه شد، استفاده شده است. در این روش برای آماده سازی نمونه از سطح بدن زالو سوآپ تهیه شد و سپس رقیق و آماده کشت شدند. در ادامه نمونه بر روی محیط کشت مناسب پخش یا تلقیح شد. در ادامه انکوباسیون پلیت‌های کشت در شرایط دمایی و زمانی مناسب انجام گرفت تا میکروارگانیسم‌ها رشد کنند و کلونی تشکیل دهند. سپس از انکوباسیون، کلونی‌های قابل مشاهده روی پلیت‌ها با چشم غیرمسلح یا ابزارهای شمارش کلونی شمارش شدند و نتایج آن گزارش گردید. این بررسی در طی آزمایش در سه مرحله انجام و نتایج آن گزارش گردید (Iranian Standards and Research Institute, 2002).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها به صورت طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزاری آماری SAS9.2 انجام شد و با استفاده از مقدار pvalue، انجام و سطح معنی‌داری ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

تغییرات وزن زالو در ۷۵ روز نشان داد که با گذشت زمان سرعت هضم غذا در زالوهای بیمار با شیب ملایم انجام می‌شود و زالوها خیلی کند وزن خود را از دست می‌دهند و تغییرات معنی‌داری در پایان دوره در خصوص کاهش وزن زالوها مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). در کل تغییرات وزن نشان داد که با گذشت زمان دستگاه گوارش زالوها خون داخل چینه دان‌ها را مصرف کرده و وزن خود را تقریباً به یک سوم وزن روز اول آزمایش رسانده‌اند و مصرف عصاره گیاهی تغییرات معنی‌داری را بر روی وزن زالوها در انتهای دوره ایجاد نکرد (جدول ۱) (p>۰/۰۵).

جدول ۱: تغییرات وزن بدن زالوها در طول دوره (گرم)

Table 1: Changes in leeches' body weight during the period (grams)

Treatment	Leech body weight		
	First day	Day 40	Day 75
Control	2.905 ±0.25^{ab}	1.638 ± 0.13	1.0273±0.07622
1.5 ml herbal extract	2.81±0.25^{b}	1.38 ±0.13	1.0235±0.07622
3 ml herbal extract	2.99±0.25^{ab}	1.742 ±0.13	1.0236±0.07622
6 ml herbal extract	2.78±0.25^{b}	1.208 ±0.13	1.0227±0.07622
9 ml herbal extract	2.14±0.25^{c}	1.982 ±0.13	1.0251±0.07622

a-c: در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵).

a-c: In each column, means with different letters are significantly different (p<0.05).

در ادامه نتایج نشان داد که گروه شاهد و گروه مصرف کننده ۹ میلی‌لیتر عصاره گیاهی به ترتیب کمترین و بیشترین وضعیت زنده‌مانی را در طی آزمایش از خود نشان داده‌اند. بطوریکه با افزایش دوز مصرف عصاره گیاهی میزان واکنش به بیماری بیشتر شده و تلفات کاهش داشته است. همچنین از لحاظ مورفولوژیکی غلظت مصرفی ۶ و ۹ میلی‌لیتر بیشترین تأثیر را در بازگردانی بدشکلی زالوها، بهبود شرایط بدنی و تبدیل آنها به زالوی صاف داشته است، تا بتواند به دوره قرنطینه ورود نمایند. همچنین گروه شاهد نیز که

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

هیچ گونه عصاره گیاهی دریافت نکرده بود دارای بدترین حالت بدشکلی، بیشترین تغییرات مورفولوژیکی و تشدید بیماری زالوها بوده است، به طوری که اکثراً تلف شدند (جدول ۲، شکل ۱).

جدول ۲: تغییرات مورفولوژی و زنده‌مانی زالوها در طی دوره آزمایش (درصد)

Table 2: Changes in morphology and survival of leeches during the experimental period (%)

		Treatment				
	Treatment	Control	1.5 ml extract	3 ml extract	6 ml extract	9 ml extract
Day	٪live	27	38	41	54	79
	٪Dead	73	62	59	46	21
	٪Natural morphology	41	63	51	70	86*
	٪Abnormal morphology	59	37	49	30	14



شکل ۱: زالوهای بیمار با ظاهر بیمار (سمت راست) و زالوهای سالم شده آخر دوره (سمت چپ)

Figure 1: Sick leeches with a sick appearance (right image) and healthy leeches at the end of the course (left image)

نتایج نشان داد که میزان باکتری در روز اول آزمایش متفاوت بوده و میزان باکتری موجود در سطح بدن زالوهای بیمار تیمار ۹ میلی‌لیتر نسبت به سایر تیمارها بیشتر بوده است. بطوریکه بیشترین میزان جمعیت میکروبی تفاوت معنی‌داری در روز اول آزمایش با سایر تیمارها داشته است ($p<۰/۰۵$). در دوره دوم بررسی بار میکروبی (روز ۴۰ آزمایش) تیمار ۱/۵ میلی‌لیتر مصرف کننده عصاره گیاهی توانسته بود کمترین میزان بار میکروبی را از خود نشان دهد، ولی هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین سایر تیمارها وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). در روز آخر دوره (روز ۷۵) نیز نتایج نشان داد که بیشترین تیماری که واکنش مثبت نسبت به دوز مصرفی عصاره گیاهی داشته است، تیمار ۹ میلی‌لیتر مصرف کننده عصاره گیاهی بود که کمترین میزان بار میکروبی را ثبت کرد،ت اما نسبت به سایر تیمارها هیچ گونه تغییرات معنی‌داری نداشته است (جدول ۳) ($p>۰/۰۵$).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

جدول ۳: جمیت میکروبی سطح پوست زالوها در طی دوره آزمایش

Table 3: Microbial community of the skin surface of leeches during the experimental period

Treatment	Microbial load trait		
	First day	Day 40	Day 75
Control	0.84 ±0.18^{ab}	0.79± 0.17	0.48± 0.12
1.5 ml herbal extract	0.54±0.18^{b}	0.47± 0.17	0.44± 0.12
3 ml herbal extract	0.78±0.18^{bc}	0.58± 0.17	0.53± 0.12
6 ml herbal extract	0.79±0.18^{bc}	0.52± 0.17	0.46± 0.12
9 ml herbal extract	1.59±0.18^{a}	0.64± 0.17	0.43± 0.12

a-c: در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵).

a-c: In each column, means with different letters are significantly different (p<0.05).

بحث

یکی از رایج ترین مشکلات در تولید و پرورش زالو مشکل تغییر شکل مورفولوژیکی است که به عنوان بیماری سوسیسی شکل در بازار نیز توصیف می‌شود. متاسفانه ممکن است برخی از تولیدکنندگان به دلیل این مشکل تمام زالوهای خود را از دست بدهند. مهم‌ترین بازتاب این مشکل از دست دادن روحیه و انگیزه و آسیب بزرگ به کار است. گزارشات نشان داده‌است که روده میانی زالو فاقد آنزیم‌های مانند کربوهیدرازها، لیپازها و پروتئازها و به ویژه اندوپپتیدازها می‌باشد. گرچه در گونه‌های همه چیز خوار ممکن است برخی آنزیم‌های فوق به میزانی جزئی حضور داشته باشند ولی وجود آنزیم اگزوپپتیداز در اغلب گونه‌های مطالعه شده اثبات شده است. بدیهی است که کمبود برخی از آنزیم‌های فوق که حضورشان برای گوارش غذا ضروری است به وسیله میکروفلور هم سفره داخلی تأمین می‌شود (Petrauskiene, 2004). نتایج تحقیقات سایرین اثبات کرده‌اند که باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* قادر به تولید پروتئازها، لیپازها و آمیلازها می‌باشد. مهم‌ترین آنها سینتاز است که در تخریب گویچه‌های سرخ موجود در غذای خورده شده نقش مهمی دارد. همولیزین پروتئازی است که به تجزیه هموگلوبین کمک می‌کند. مقدار بسیار کمی از خون هضم نشده در روده باقی می‌ماند که از طریق مخرج دفع می‌شود (Ceylan *et al*., 2020). بنابراین نوع تغذیه یا کیفیت آبی که در آن زالو شنا می‌کند، می‌تواند حامل باکتری‌های خاصی باشد که فلور میکروبی مفید زالو را تغییر دهد، بیماری ایجاد کند و با تشکیل کلنی موجب مرگ دسته جمعی زالوها شود. حال می‌توان تبیین کرد استفاده از عصاره گیاهان دارویی در آب محیط زیست زالوها می‌تواند بر سلامتی آنها تأثیر گذار باشد.

تحقیقات نشان داده است که مکانیسم جذب املاح آب یا مواد داخل آب برای زالوها را می‌توان این طور نیز بیان نمود که در زالوها سه نوع ابزار حسی وجود دارد: فیبر عصبی با انتهای آزاد در اپیدرم، سلول‌های حسی اپیدرمال و سلول‌های حسی حساس به نور فیبرهای عصبی با پایانه آزاد هستند. پایانه عصبی منشأ گرفته از عصب اصلی هستند که در اغلب موارد شامل حلقه‌های عصبی درون عضله‌ای یا زیر اپیدرمی باشند که نقش مهمی در جذب پوستی خواهند داشت. این مکانیسم کنترل پمپ کردن مواد در زالوی *هیرودو اورینتالیس* از هر گانگلیون بخشی دو عصب به هر طرف حرکت می‌کنند و شاخه‌هایی به دیوارهای سینوس جانبی می‌فرستند (Manav *et al*., 2019). اعصاب

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

بخش قدامی سرعت پمپ کردن را تسریع می‌کنند، درصورتی‌که اعصاب پشتی باعث تأخیرمی‌شوند. بعد از این که همه اعصاب تحریک شوند انقباضات برای مدت طولانی ادامه می‌یابند. چنین مکانیسمی میوژنیک نامیده می‌شودکه برای تشخیص آن از حالتی که در محرک منشأ گرفته از سیستم عصبی وجود دارد، نروژنیک نامیده می‌شود. سازمان‌بندی موجود در زالو را می‌توان با سازمان‌بندی موجود در قلب پستانداران مقایسه کرد (Baranzini *et al*., 2020)، جایی که ضربان میوجنیک است و توسط فیبرهای سیمپاتیک ثانویه شدت می‌یابد اما توسط شاخه‌ای از عصب واگ به تأخیر می‌افتد. بنابراین می توان نتیجه گرفت استفاده از عصاره‌ها توانسته بر سیستم عصبی و ماهیچه‌ای زالوها موثر واقع شود و با انقباضات متعدد خود بدشکلی را از بین ببرد و مشکل بیماری تغییرات ریختی آن‌ها را بهبود دهد. روغن‌های اسانسی یا اسانس‌ها مواد فرار عمدتاً مستخرج از گیاهان دارویی هستند که غالباً با استفاده از تقطیر با بخار آب و یا هیدرولیز آنزیمی و سپس تقطیر با بخار آب حاصل می‌شوند. آن‌ها دامنه گسترده‌ای از ترکیبات همچون ترپنوئیدها، الکل‌ها، آلدهیدها و استرهای غیرحلقوی را در خود جای می‌دهند (Khoob, 2012). در واقع، این اجزای فعال هستند که خواص متعدد اسانس‌ها شامل فعالیت‌های ضدقارچی، ضدمیکروبی، ضداکسیدانی و ضدالتهابی خود پتانسیل بالایی برای تنظیم ایمنی دارند (Abd El-Hack *et al*., 2016)، که اثرات آنها در تقویت پاسخ‌های ایمنی پرنده‌های گوشتی و آبزیان ثابت شده است (Abdelrazek *et al*., 2015). این تنوع در سنجش اثرات ضدباکتریایی و ضداکسیدانی اسانس‌ها در شرایط برون‌تنی نیز به خوبی انعکاس پیدا کرده است. آنالیز تقریبی میوه بلوط نشان می‌دهد که، ترکیب شیمیایی بلوط مشابه غلات است. میوه بلوط به علت داشتن مقادیر بالایی کربوهیدرات که به طور عمده نشاسته می‌باشد (۸۰ تا ۹۰ درصد مواد قندی آن)، دارای انرژی بالایی است. میوه بلوط حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و تانن می‌باشد که این ترکیبات از ترکیبات ضد تغذیه ای گیاهان برای حیوانات هستند. میوه بلوط حاوی ۹۱ درصد ماده خشک، ۴/۷۵ درصد پروتئین و ۵ درصد چربی می‌باشد، همچنین دانه بلوط حاوی ۸/۸ درصد تانن بوده که ۵۷ درصد آن قابل هیدرولیز بوده و اصلی ترین ماده تاننی آن اسید تانیک است (Khoob, 2012). تانن‌ها به دلیل اثراتی که روی میکروارگانیسم و تعداد پروتوزوآها دارند، باعث تغییر در بیوهیدروژناسیون دستگاه گوارش می‌شوند. این اثرات مثبت را می‌توان اینجور استناباط نمود که تانن‌ها با حفظ پروتئین‌های خوراک زالو از تجزیه شدن در چینه دان و عبور دادن آنها به انتهای دستگاه گوارش سبب افزایش جریان اسیدهای آمینه ضروری به روده و افزایش جذب این اسیدآمینه‌ها شده، که نتیجه آن تولید پروتئین بیشتر و افزایش رشد بدن زالو در دوره پرورش می‌شوند (Dhifi *et al*., 2016). دانشمندان رفتار رشد تعداد مشخصی از جدایه‌های باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus iniae*) و لاکتوکوکوس گارویه (*Lactococcus garvieae*)، در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۸۰، ۲۶۰ و ۹۸۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر، از اسانس‌های *اوکالیپتوس کامالدولنسیس* (*Eucalyptus camaldulensis*)، پونه معطر (*Mentha pulegium*) و *آلوئه ورا* (*Aloe vera*) در غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۲، ۰/۲۸، ۲ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از داروی کلرآمین T در دمای ۸۲ درجه سانتی‌گراد و نیز حداقل

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

غلظت مهارکنندگی آنها مشخص کردند که اثر ضد باکتریایی وجود دارد (El-Baroty *et al*., 2010). در کل نتایج نشان داد که با افزایش دوز مصرف عصاره گیاهی (غلظت ۹ میلی‌لیتر) توانسته است عملکرد بهتری بر زالوها نسبت به سایر گروهای آزمایشی داشته باشد. همچنین مواد مؤثره موجود در عصاره گیاهی با قدرت مهار باکتری‌ها، جلوگیری از التهاب، بازسازی بافت و غشای مخاطی شناخته شده‌اند که باعث انعطاف پذیری بیشتر می‌شود. همچنین باعث تقویت تمایلات (تولید مثل، تغذیه، فعالیت‌های جسمانی و...) زالوها می‌شود و آنها را در مقابل عفونت‌های میکروبی مقاوم می‌سازد. در صورت وجود عفونت‌های باکتریایی یا قارچی، تاثیرات بسیار مثبتی در سیستم ایمنی آنها دارد که حتی قادرند به فلزات سنگین موجود در آب متصل شوند و آنها را بی خطر سازند (Elliott, 2008). این موضوع باعث افزایش کیفیت آب شده که می تواند در توزیع بار میکروبی سطح بدن زالو دخالت مستقیم داشته باشد. اگرچه بیماری‌ها رخدادی طبیعی در انواع موجودات می‌باشد اما پرورش متراکم و فوق متراکم زالوها در مراکز طبیعی، برکه‌ها، مراکز صنعتی و مصنوعی سبب شیوع انواع بیماری‌های غیرمنتظره شده است. در نهایت منجر به محدودسازی میزان تولید و افزایش ضرر و زیان اقتصادی می‌گردد. این موضوع از سوی دیگر باعث کاهش مصرف انواع آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزیان گردیده که در نتیجه از اثرات جانبی این ترکیبات بر بدن انسان در حوزه درمانی و در دراز مدت بر محیط زیست به شدت می‌کاهد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از پرسنل مزرعه و آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه شهرکرد جناب آقای مهندس رحیمی، ریاست پارک علم و فناوری استان چهارمحال و بختیاری و کارشناسانی که بخاطر فراهم نمودن شرایط انجام این تحقیق ما را یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را ابراز می‌نمایند.

منابع

1. Abd El-Hack, M.E., Alagawany, M., Ragab Farag, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K., Zorriehzahra, J. and Adel, M., 2016. Beneficial impacts of thymol essential oil on health and production of animals, fish and poultry: a review. *Journal of Essential Oil Research*, *28*(5), pp.365-382. DOI:10.1080/10412905.2016.1153002
2. Abdelrazek, H., Yusuf, M.S., Hassan, M.A., Soliman, M.T.T. and El Nabtiti, A., 2015. Ameliorative effect of oregano essential oil on mycotoxins-induced immune impairments in growing Japanese quail. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, *C, Physiology and Molecular Biology*, *7*(2), pp.101-114. DOI: 10.21608/eajbsc.2015.13695
3. Baranzini, N., De Vito, A., Orlandi, V.T., Reguzzoni, M., Monti, L., de Eguileor, M., Rosini, E., Pollegioni, L.,Tettamanti, G., Acquati, F. and Grimaldi, A., 2020. Antimicrobial role of RNASET2 protein duringinnate immune response in the medicinal leech Hirudo verbana. *Frontiers in Immunology, 11*, pp.1–18. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00370
4. Ceylan, M.N., Cetinkaya, O.T., Küçükkara, R. and Akçimen, U., 2015. Reproduction Efficiency of the Medicinal Leech Hirudo verbana Carena, 1820.*Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *15*(3), pp.411-418. DOI: 10.4194/1303-2712-v15_2_27
5. Ceylan, M., 2020. Effects of maternal age on reproductive performance of the

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

14. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Kim, M.C., Kim, J.S., Han, Y.J. and Heo, M.S., 2009. Innate immune response and disease resistance in Carassius auratus by triherbal solvent extracts. *Fish and Shellfish Immunology*, *27*(3), pp.508-515. DOI:10.1016/j.fsi.2009.07.004
15. Iranian Standards and Research Institute, 2002. Microbiology of Food and Animal Feed, Enumeration of Staphylococcus aureus coagulans and other species, first edition, No. 6806. [InPersian]
16. Khoob, A., 2012. Using acorns in feeding carp, Shiraz University, pp.45-52. [InPersian]
17. Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M. and Giske, C., 2012. Multidrug-resistant, extensivelydrug-resistant and pandrug-resistant bacteria: aninternational expert proposal for interim standard definitionsfor acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection journal*, *18*(3), pp.268-281. DOI:10.1111/,.1469-0691.2011.03570.x
18. Malek, M. and Khodadoust, M., 2015. Iranian medical leech, the wonder of creation over time. *Nesha Alam Journal*, 6, pp.80-73. [InPersian]
19. Malek, M., Jafarifar, F., Roohi E., Aminjan, A., Salehi, H. and Parsa, H., 2019. Culture of a new medicinal leech: Growth, survival and reproduction of Hirudo orientalis Utevsky and Trontelj, 2005 under laboratory conditions. *Journal of Naralt Hist*, *53*(11– 12), pp.627–637 DOI:10.1080/00222933.2019.1597200.
20. Manav, M., Ceylan, M. and Buyukcapar, H.M., 2019. Investigation of reproductiveefficiency, growth performance and survival of the southern medicinal leech,Hirudo verbana Carena, 1820 fed withmammalian and poultry blood. *Animal Reproduction Science*, 206, pp.27-37. DOI:10.1016/j.anireprosci.2019.05.004
21. McSweeney, M.C., Palmer, B., McNeil, D.M. and Krause, D.O., 2001. Microbial interactions with tannins: Nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Thenology*, *91*(1-2), pp.83-93.

southern medicinal leech, Hirudo verbana Carena, 1820. *Animal Reproduction Science*, *218*, 106507, pp.1-6. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2020.106507
6. Ceylan, M., Küçükkara, R. and Karataş, E., 2023. Effects of cocoon incubation angle on hatching success of medicinal leeches (*Hirudo* spp.). *Invertebrate Reproduction & Development*, *67*(3–4), pp.121–128. DOI:10.1080/07924259.2023.2241418
7. Chahardehi, M.Y., Nikishov, A.A. and Abtahi, B., 2016. Effects of different maintenance systems and density on behavioral responces of young european medicinal leeches, Hirudo medicinalis. *Journal of plasma and biomarkers*, *9*(2), pp.33-38. [InPersian]
8. Cheryl, M., 2015. Those Amazing Leeches, Publisher Scholastic.
9. Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N. and Mnif, W., 2016. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. *Medicines*, *3*(4), 25. DOI:10.3390/medicines3040025
10. Dobre, A.A., Gagiu, V. and Petru, N., 2011. Antimicrobial activity of essential oils against food-borne bacteria evaluated by two preliminary methods. *Romanian Biotechnological Letters*, *16*(6), pp.119-125.
11. El-Baroty, G.S., Abd El-Baky, H.H., Farag, R.S. and Saleh, M.A., 2010. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *African Journal of Biochemistry Research*, *4*(6), pp.167-174. DOI:10.5897/AJBR.9000056
12. 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), pp.1502–1512. DOI:10.1111/j.1365-2427.2008.01978.x
13. Hagerman, A.E., M.E. Rice. and Ritchard, N.T., 1998. Mechanisms of protein precipitation for the tannins. *Journal of Agricaltural and Food Chemestry*, *46*(7), pp.2590-2595. DOI:10.1016/0003-2697(87)90596-3

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]

DOI: 10.1016/S0377-8401(01)00232-2
22. Petrauskiene, L., 2004. The medicinal leech as a convenient tool for water toxicity assessment. *Environmental Toxicology*, *19*(4), pp.336-341. DOI:10.1002/tox.20039
23. Pour Hashemi, M. and Panahi, P., 2012. Medicinal values of native oak and non-wood products. National Conference on Environment and Plant Products, Tehran, pp.1-3. [InPersian]
24. Safavipour, S., Modaresi, M. and Emadinia, A., 2017. Leechology (2nd editidtion), Isfahan Islamic Azad University Publications, pp.120-125. [In Persian]

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.71901/jad-2025-2-869]