

УДК 662.7:595.143.6
DOI <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2024-1-05>

Вплив температури на продуктивність видів *Hirudo verbana* та *Hirudo orientalis*

Амінов Р. Ф.

Запорізький національний університет

ORCID: 0000-0002-8471-1525

91_amin_91@ukr.net

Ключові слова: медичні
п'явки, *Hirudo verbana*, *Hirudo*
orientalis, продуктивність.

Ектопаразитарні медичні п'явки широко використовують у сільському господарстві, ветеринарії та медицині, за рахунок наявності в організмі більше 150 біологічно активних речовин, які володіють широким спектром терапевтичної дії. Погіршення стану навколишнього середовища спричинило зникнення медичної п'явки у природі, тому їх популяція здебільшого підтримується в біолабораторіях. Утримання та розведення медичних п'явок у штучних умовах потребує створення суворих оптимальних умов: вологості, температури та рН, насиченості кисню, світла тощо, тому стало актуально дослідити вплив різних температурних режимів на репродуктивну здатність видів *Hirudo verbana* Carena, 1820 та *Hirudo orientalis* Utevsky & Trontelj, 2005. В експерименті було задіяно медичних п'явок: 150 шт. виду *Hirudo verbana* Carena, 1820 та 60 шт. *Hirudo orientalis* Utevsky & Trontelj, 2005. Усі маніпуляції з тваринами проводилися з дотриманням регламентованих норм і правил поводження з лабораторними тваринами. Медичних п'явок висаджували для спаровування у ємність з водою при температурі навколишнього середовища: контрольна група + 24–26°C, перша дослідна група + 28–31°C, друга дослідна + 18–20°C. Після появи поясів плодючості у медичних п'явок висаджували їх у торф'яно-грунтове середовище на місяць. При кімнатній температурі: контрольна група +24–26°C, перша дослідна група + 28–31°C, друга дослідна + 18–20°C. Через місяць виймали для аналізу п'явок та їхній молодняк із коконів. У результаті дослідження в контрольних групах найбільш оптимальні температури при яких п'явки дають найбільшу кількість потомства з коконів *Hirudo verbana* 8,2±0,6 шт. та *Hirudo orientalis* 6,1±0,5 шт., менша смертність статевозрілих особин *Hirudo verbana* 1,1±0,2% та *Hirudo orientalis* 2,3±0,3%, менше отримання дефектних коконів *Hirudo verbana* 7,3±0,3% та *Hirudo orientalis* 8,4±0,9%. При аналізі першої дослідної групи спостерігаємо значний відсоток п'явок з появою поясів плодючості *Hirudo verbana* 93,4±4,1% та *Hirudo orientalis* 50,5±4,6%, але високою смертністю при поміщенні у торф'яно-грунтове середовище *Hirudo verbana* 45,1±3,2% та *Hirudo orientalis* 61,2±2,3%, низькою репродуктивною здатністю. У другій дослідній групі практично не відбувається поява поясів плодючості *Hirudo verbana* 0,9±0,06% та *Hirudo orientalis* 0,3±0,03%, більша частина коконів з дефектами *Hirudo verbana* 30,4±2,7% та *Hirudo orientalis* 51,4±3,5%. Узагальнюючи отримані результати при високих температурах можна отримати хибну появу поясів плодючості, що негативно може позначитися на продуктивності та життєздатності тварин. Низькі температури знижують репродуктивну здатність п'явок.

Ключові слова: медичні п'явки, *Hirudo verbana*, *Hirudo orientalis*, продуктивність.

Effect of temperature on productivity of *Hirudo verbana* and *Hirudo orientalis*

Aminov R. F.

Zaporizhia National University

ORCID: 0000-0002-8471-1525

91_amin_91@ukr.net

Key words: *medical leeches, Hirudo verbana, Hirudo orientalis, productivity.*

Ectoparasitic medicinal leeches are widely used in agriculture, veterinary medicine and medicine, due to the presence in the body of more than 150 biologically active substances that have a wide range of therapeutic effects. Deterioration of the environment caused the disappearance of the medicinal leech in nature, so their population is mostly maintained in laboratories. The maintenance and breeding of medicinal leeches in artificial conditions require the creation of strict optimal conditions: humidity, temperature and pH, oxygen saturation, light, etc., therefore it became relevant to investigate the effect of different temperature regimes on the reproductive capacity of *Hirudo verbana* Carena, 1820 and *Hirudo orientalis* Utevsky & Trontelj, 2005. Medicinal leeches were involved in the experiment: 150 pcs. species *Hirudo verbana* Carena, 1820 and 60 pcs. *Hirudo orientalis* Utevsky & Trontelj, 2005. All manipulations with animals were carried out in compliance with the regulated norms and rules for handling laboratory animals. Medicinal leeches were planted for mating in a container with water at ambient temperature: the control group +24–26°C, the first experimental group +28–31°C, the second experimental +18–20°C. After the appearance of fertility belts in medical leeches, they were planted in a peat-soil environment for a month. At room temperature: the control group +24–26°C, the first experimental group +28–31°C, the second experimental +18–20°C. A month later, leeches and their young were taken out of the cocoons for analysis. As a result of the study, in the control groups, the optimal temperatures at which leeches produce the largest number of offspring from *Hirudo verbana* cocoons were 8.2 ± 0.6 pcs. and *Hirudo orientalis* 6.1 ± 0.5 pcs., lower mortality of sexually mature individuals of *Hirudo verbana* $1.1 \pm 0.2\%$ and *Hirudo orientalis* $2.3 \pm 0.3\%$, less production of defective *Hirudo verbana* cocoons $7.3 \pm 0.3\%$ and *Hirudo orientalis* $8.4 \pm 0.9\%$. When analyzing the first experimental group, we observed a significant percentage of leeches with the appearance of *Hirudo verbana* $93.4 \pm 4.1\%$ and *Hirudo orientalis* $50.5 \pm 4.6\%$ fertility zones, but high mortality when placed in a peat-soil environment *Hirudo verbana* $45.1 \pm 3.2\%$ and *Hirudo orientalis* $61.2 \pm 2.3\%$, low reproductive capacity. In the second research group, there is practically no emergence of fertility zones of *Hirudo verbana* $0.9 \pm 0.06\%$ and *Hirudo orientalis* $0.3 \pm 0.03\%$, most of the cocoons with defects of *Hirudo verbana* $30.4 \pm 2.7\%$ and *Hirudo orientalis* $51.4 \pm 3.5\%$. Summarizing the obtained results at high temperatures, it is possible to obtain a false appearance of fertility zones, which can negatively affect the productivity and viability of animals. Low temperatures reduce the reproductive capacity of leeches.

Key words: *medical leeches, Hirudo verbana, Hirudo orientalis, productivity.*

Вступ

Медичні п'явки (МП) – це ектопаразитарні тварини, які широко використовують у сільському господарстві, ветеринарії та медицині^{1–18}. Оскільки в своєму організмі містять міні аптеку з понад 150 біологічно активних речовин (БАР)^{1–12}. Перші відомості про застосування МП в медичних цілях відносяться до Стародавнього Єгипту. Серед найбільш поширених і вивчених МП є *Hirudo verbana* Carena, 1820, *Hirudo medicinalis* Linnaeus, 1758 та *Hirudo orientalis* Utevsky & Trontelj, 2005¹. Ці три види використовуються для профілактики та ліку-

вання багатьох захворювань^{1–18}. У теперішній час із-за погіршення зміни клімату, екології в навколишньому середовищі МП практично не зустрічаються та занесені в Червону книгу України як вразливий вид, тому їх популяція здебільшого підтримується в біолабораторіях. Біотехнологічні лабораторії займаються їхнім розведенням для проведення експериментальних дослідів та для використання у лікувальних цілях. Утримання та розведення МП у штучних умовах потребує створення суворих оптимальних умов: вологості, температури та рН, насиченості кисню, світла тощо^{19–25}. Наприклад, для

розмноження та відкладання коконів МП найбільш оптимальним рН середовища їхнього утримання повинно знаходитися в межах 5,0–6,5^{21–25}. Нормальна вага дорослих тварин становить 5,94±1,06 г, а вологість торфу становить близько 70–75 %^{1,24}. Також, фізіологічні особливості тварини можуть вплинути на їхню продуктивність. Так, при посадці вагітних МП виду *Hirudo verbana* у торф'яне середовище, встановлено, що чим молодша п'явка та менше їх посаджено в середовище, тим більше потомства вони можуть дати, оптимальний вік тварин – 1 рік^{24–27}. Навіть вид крові при годуванні МП може вплинути на ріст, розмноження і навіть смертність виду. Наприклад, *Hirudo orientalis* при годуванні кров'ю овець прискорює їх ріст і впливає на відкладання фізіологічно здорового потомства¹. Згодовування курячої крові *Hirudo verbana* підвищує їхню репродуктивну здатність у 2,5 рази порівняно з годуванням кров'ю великої рогатої худоби^{1,23,24}. Згідно оптимальних температурних умов для появи поясів плодючості та їхньої репродуктивної здатності зустрічаються спірні неоднозначні наукові результати^{23–25}. У зв'язку з чим **метою дослідження** було дослідити вплив різних температурних режимів на біологічні та фізіологічні властивості видів МП *Hirudo verbana* Carena, 1820 та *Hirudo orientalis* Utevsky & Trontelj, 2005.

Матеріали та методи досліджень

Медичні п'явки. В експерименті було задіяно МП: 150 шт. виду *Hirudo verbana* Carena, 1820 та 60 шт. *Hirudo orientalis* Utevsky & Trontelj, 2005, вирощених на базі навчально-науково-дослідної лабораторії клітинної та організменної біотехнології Запорізького національного університету (ТУ У 05.0–02125243–002:2009 «П'явка медична», санітарно-епідеміологічний висновок МОЗ України № 05.03.02–06/49982, від 12.08.2009 р.). МП утримували в 3-х літрових ємкостях із дехлорованою відстояною водогінною водою об'ємом 2 л (4 осіб) при температурі оточуючого середовища +24–25°C^{1,21–24}.

Усі маніпуляції з тваринами проводилися з дотриманням регламентованих норм і правил поводження з лабораторними тваринами: принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (м. Страсбург, Франція, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», Порядком проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах, Положення про Комітет з питань етики (біоетики)¹.

Процес годування МП створювали схожими на природні умови (температура крові +37 та приміщення +20 °C, кров свиней заповнювали у тонкий кишечник тієї ж тварини)¹.

Після годування МП висаджували для спаровування у кількості по 4 шт. у ємність з від-

стояною водою при температурі навколишнього середовища: контрольна група + 24–26°C, перша дослідна група + 28–31°C, друга дослідна + 18–20°C. Обов'язково відбирали МП без візуальних дефектів на тілі (перетяжок). Після появи поясів плодючості у МП висаджували їх у торф'яно-грунтове середовище (співвідношення 1:3) на місяць. При кімнатній температурі: контрольна група +24–26°C, перша дослідна група + 28–31°C, друга дослідна + 18–20°C, розсіяному денному світлі, суворій тиші та частому провітрюванні приміщення. Кожен день перевіряли на наявність МП на поверхні середовища. Оскільки часта поява МП саме на поверхні середовища може свідчити про неготовність МП до відкладки коконів, або про недотримання оптимальних умов навколишнього середовища. Також, кожен тиждень перевіряли торф'яно-грунтове середовище на вологість. Через місяць виймали МП та їхній молодняк із м'яких коконів. Тверді кокони в горизонтальному положенні поміщали ще не менше ніж на два тижні у торф'яно-грунтове середовище для остаточного розвитку тварин. Положення заздалегідь було вибрано саме горизонтальне, оскільки за дослідженнями науковців це положення коконів найбільш оптимальне для нормального фізіологічного розвитку тварини²¹, яке зменшує утворення нагноєння та смертності у порівнянні з вертикальним положенням. Отримані первинні результати експерименту депоновані у вигляді «Exel» файлу до бази даних Mendelej²⁸.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою комп'ютерних програм SPSS v.23,0. (IBM SPSS Statistics., США) та Microsoft XP «Exel». Вибрані параметри: X – середнє значення вибірки, SE – стандартна похибка середнього значення вибірки. Достовірність відмінностей середніх значень оцінювали за критерієм Стьюдента після перевірки нормального розподілу. Відмінності вважалися достовірними при $p < 0,05$.

Результати

У результаті дослідження виявили значні зрушення у репродуктивній здатності МП обох видів *Hirudo verbana* та *Hirudo orientalis* при різних температурних режимах (Табл. 1). Так, у контрольних групах з найбільш оптимальною температурою (+24–26°C) МП давали найбільшу кількість потомства (*Hirudo verbana* 8,2±0,6 шт. та *Hirudo orientalis* 6,1±0,5 шт.), також відмічена менша смертність статевозрілих особин (*Hirudo verbana* 1,1±0,2% та *Hirudo orientalis* 2,3±0,3%) та менша кількість дефектних коконів (*Hirudo verbana* 7,3±0,3% та *Hirudo orientalis* 8,4±0,9%) При аналізі впливу високих теператур в першій дослідницькій групі спостерігаємо значний відсоток МП з появою поясів плодючості *Hirudo verbana* 93,4±4,1% та *Hirudo orientalis* 50,5±4,6%, але

Таблиця 1 – Репродуктивні показники медичних п'явок *Hirudo verbana* та *Hirudo orientalis*.

Група тварин та вид	Поява поясів плодючості, %	Загальна смертність дорослих тварин у середовищі, %	Середня кількість відкладки коконів, шт.	Середня кількість молодняка на 1 кокон, шт.	Дефектність коконів, %
Контрольна група, <i>Hirudo verbana</i> (n=50)	65,2±3,4	1,1±0,2	6,3±0,4	8,2±0,6	7,3±0,3
Перша дослідна група (високі температури), <i>Hirudo verbana</i> Carena, 1820 (n=50)	93,4±4,1*	45,1±3,2*	1,4±0,3*	5,3±0,4*	35,5±3,1*
Друга дослідна група (низькі температури), <i>Hirudo verbana</i> Carena, 1820 (n=50)	0,9±0,06*	4,5±0,5*	0,3±0,04*	4,3±0,6*	30,4±2,7*
Контрольна група, <i>Hirudo orientalis</i> (n=20)	35,1±2,9	2,3±0,3	4,5±0,6	6,1±0,5	8,4±0,9
Перша дослідна група (високі температури), <i>Hirudo orientalis</i> (n=20)	50,5±4,6*	61,2±2,3*	0,5±0,1*	4,3±0,3*	55,6±2,7*
Друга дослідна група (низькі температури), <i>Hirudo orientalis</i> (n=20)	0,3±0,03*	3,6±0,7*	0,2±0,05*	3,3±0,6*	51,4±3,5*

* – розбіжності достовірні відносно контролю за t-критерієм Стьюдента при $p \leq 0,05$.

високою смертністю *Hirudo verbana* 45,1±3,2% та *Hirudo orientalis* 61,2±2,3%, та низькою репродуктивною здатністю. У другій дослідній групі практично не відбувається поява поясів плодючості *Hirudo verbana* 0,9±0,06% та *Hirudo orientalis* 0,3±0,03%, більша частина коконів з дефектами *Hirudo verbana* 30,4±2,7% та *Hirudo orientalis* 51,4±3,5%, потомства практично немає.

Обговорення

При аналізі температурних режимів реєструється значні зрушення у репродуктивній здатності МП обох видів: *Hirudo verbana* та *Hirudo orientalis* табл.1. У контрольній групі були оптимальний температурний режим встановлено у відповідності до попередніх досліджень^{21–27}, які реєстрували при них оптимальну продуктивність та життєздатність МП. Наші результати підтверджують попередні дослідження показуючи що оптимальними температурами для репродукції були +24–26°C. За таких температур реєструється незначна смертність тварин, добра відкладка коконів із фізіологічно нормальним потомством та меншим відсотком дефекту коконів. Слід також відмітити, що у контрольній групі тільки у частини тварин з'являлися пояси плодючості, що згідно загальновідомим фактам

свідчить про їхню фізіологічну готовність до відкладки коконів. У порівнянні першої дослідної групи з контрольною спостерігається хибна поява практично у більшості частини МП поясів плодючості із–за впливу високих температур, які потім зникають у виживших тварин. Також, дані тварини дають великий відсоток не фертильних коконів із дефектами. Вищезгадані результати отримані вперше й свідчать про те, що не можна вважати тварину фізіологічно готовою до відкладки фертильних коконів при появі поясів плодючості на їхньому тілі. При порівнянні другої дослідної групи з контрольною практично не спостерігається поява поясів плодючості та відкладка незначної кількості коконів із потомством, що можливо може свідчити про знижену репродуктивну здатність при низьких температурах, що й відмічали інші автори у своїх дослідженнях^{23–26}.

Висновки

Температурні режими значно впливають на репродуктивну здатність МП. При високих температурах можна отримати хибну появу поясів плодючості, що негативно може позначитися на продуктивності та життєздатності тварин. Низькі температури знижують репродуктивну здатність МП.

Література

- (1) Амінов, Р.Ф. *Медичні п'явки в штучних умовах: отримання, зберігання та використання: монографія*; Запоріжжя: Запорізький національний університет, **2023**; с. 140.
- (2) Amani, L.; Motamed, N.; Mirabzadeh, A.M.; Dehghan, S.M.; Malek, M., et al. Semi-Solid Product of Medicinal Leech Enhances Wound Healing in Rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.*, **2021**, 16(4), e113910. URL: <https://doi.org/10.5812/jjnpp.113910>.

- (3) Davoodi, F.; Taheri, S.; Raisi, A. Leech therapy (*Hirudo medicinalis*) attenuates testicular damages induced by testicular ischemia/reperfusion in an animal model. *BMC Veterinary Research*, **2021**, *17*(256), pp. 1-15. URL: <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02951-5>.
- (4) Krashenyuk, A.I. "Neurotrophic (Neural Stimulating) and Neuromediator Effects of *Hirudo medicinalis*. Pathogenetic Mechanism of Treatment of Diseases of the Nervous System of the Human". *Acta Scientific Medical Sciences*, **2020**, *4*(3), pp. 4-9. URL: <https://doi.org/10.31080/ASMS.2020.04.0552>.
- (5) Aminov, R.; Aminova, A.; Makyeyeva, L. Morphological parameters of spleen and thymus of the male rats on the basis of the hirudological influence of *Hirudo verbena*. *Annals of parasitology*. **2022**, *68*(1), pp. 55-60. URL: <https://doi.org/10.17420/ap6801.408>.
- (6) Nowicki, A.; Jaworska, J.; Baranski, W. Leech therapy in the treatment of a penile haematoma in a stallion. *Veterinárni Medicina*, **2021**, *66*(6), pp. 266–271. URL: <https://doi.org/10.17221/163/2020-vetmed>.
- (7) Trenholme, H.N.; Masseur, I.; Reiner, C.R. Hirudotherapy (medicinal leeches) for treatment of upper airway obstruction in a dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, **2021**, *31*(5), pp. 661-667. URL: <https://doi.org/10.1111/vec.13094>.
- (8) Huang, H.; Lei, R.; Li, Y.; Huang, Q.; Gao, N.; Zou, W. *Hirudo* (Leech) for proliferative vitreous retinopathy: a protocol for systemic review and meta-analysis. *Medicine*, **2021**, *100*(3), e24412. URL: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000024412>.
- (9) Dudhrejya, A.V.; Pithadiya, S.B.; Patel, A.B. Medicinal Leech Therapy and Related Case Study: Overview in Current Medical Field. *J Pharmacogn Phytochem*, **2023**, *12*(1), pp. 21-31. URL: <https://doi.org/10.22271/phyto.2023.v12.i1a.14543>.
- (10) Chhayani, K.; Daxini, P.; Patel, P. An Overview on Medicinal Leech Therapy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **2023**, *11*, pp. 107-113. URL: <https://doi.org/10.17265/2328-2150/2023.06.001>.
- (11) Gururaja, D.; Ballal, A. Comparative Study on traditional and prevailing Leech Storage methods in Ayurveda Leech Therapy. *Centers Annals Ayurvedic Med*, **2021**, *10*(2), pp. 98-108.
- (12) Dash, B.; Pattajoshi, G.; Mohd Abbas Zaidi, S.; Das, S.S. Practice of Leech Therapy in Ayurveda-Siddha-Sowa Rigpa-Unani (ASU) System of Medicines: A Cost Effective Treatment. *International Journal of Ayurveda and Traditional Medicine*, **2021**, *3*(4), pp. 30-37.
- (13) Sonani, S.R.; Dudhamal, T.S. Leech therapy and adjuvant Ayurveda treatment in the management of diabetic foot ulcer with atherosclerosis. *BLDE Univ J Health Sci*, **2023**, *8*, pp. 192-196.
- (14) Resch, J.C.; Hedstrom, R.; Steiner, M.E.; Said, S.M.; Somani, A. Hirudotherapy for limb ischemia in the pediatric intensive care unit: A retrospective observational cohort. *Front. Pediatr.*, **2023**, *10*, 1011171. URL: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.1011171>.
- (15) Ashfaque, A.; Khan, A.M.; Safdar, M. Potential applications in modern medicine. *Journal of Biological & Scientific Opinion*, **2023**, *11*(3). URL: <https://doi.org/10.7897/2321-6328.113177>.
- (16) Fattakhov, N.K.; Tilyakhodzhaeva, G.B.; Abdulkhakimov A.R. Efficiency of application of hirudotherapy to have been having coronaviral infection. *Journal of applied research*. **2021**, *7*(4), pp. 2908-2911.
- (17) Han, Q.Q.; Wen, Z.Y.; Lyu, Q.; Pan, Y.Y. Network Meta-analysis of Chinese patent medicine containing *Hirudo* in treatment of atherosclerosis. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.*, **2023**, *48*(1), pp. 234-246. URL: <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20221018.501>.
- (18) Ünal, K.; Erol, M.E.; Ayhan, H. Literature review on the effectiveness of medicinal leech therapy in the wound healing. *Ankara Med J*, **2023**, *1*, pp. 151-164. URL: <https://doi.org/10.5505/amj.2023.20280>.
- (19) Амінов, Р.Ф. Вплив «Coral-Mine» на життєздатність та розведення медичних п'явок (*Hirudo verbena* та *Hirudo orientalis*). *Acta Biologica Ukrainica*, **2023**, *1*, pp. 5-10. URL: <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2023-1-01>.
- (20) Aminov, R.; Frolov, A.; Aminova, A. The duration of rest and feeding greatly affects the re-breeding of ectoparasites: *Hirudo verbena*, *Hirudo medicinalis* and *Hirudo orientalis*. *Annals of Parasitology*, **2022**, *68*(4), pp. 721–726. URL: <https://doi.org/10.17420/ap6804.479>.
- (21) Ceylan, M.; Küçükkara, R.; Karataş, E. Effects of cocoon incubation angle on hatching success of medicinal leeches (*Hirudo* spp.). *Invertebrate Reproduction & Development*, **2023**. URL: <https://doi.org/10.1080/07924259.2023.2241418>.
- (22) Ceylan, M.; Çetinkaya, O.; Bulut, C. Acute toxicity of zinc on Southern Medicinal Leech, *Hirudo verbena* Carena, 1820. *Acta Aquatica Turcica*, **2021**, *17*(3), pp. 421-428. URL: <https://doi.org/10.22392/actaquatr.874241>.
- (23) Ceylan, M.; Küçükkara, R.; Akçimen, U. Effects of broodstock density on reproduction efficiency and survival of southern medicinal leech, *Hirudo verbena* Carena, 1820. *Aquaculture*, **2019**, *498*, pp. 279-284. URL: [doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.08.016](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.016).

- (24) Ceylan, M. Effects of maternal age on reproductive performance of the southern medicinal leech, *Hirudo verbena* Carena, 1820. *Animal Reproduction Science*, **2020**, *218*, 106507. URL: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106507>.
- (25) Malek, M.; Jafarifar, F.; Aminjan, A.R.; Salehi, H.; Parsa, H. Culture of a new medicinal leech: growth, survival and reproduction of *Hirudo orientalis* Utevsky and Trontelj, 2005 under laboratory conditions. *Journal of Natural History*, **2019**, *53*(11-12), pp. 627-637. URL: <https://doi.org/10.1080/00222933.2019.1597200>.
- (26) Manav, M.; Ceylan, M.; Büyükçapar, H.M. Investigation of reproductive efficiency, growth performance and survival of the southern medicinal leech, *Hirudo verbena* Carena, 1820 fed with mammalian and poultry blood. *Animal Reproduction Science*, **2019**, *206*, pp. 27-37. URL: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.05.004>
- (27) Bidmal, H.; Sudagar, M.; Shakouri, M. The effect of different blood (camel and frogs) on sexual maturity, survival and the production of cocoons and larvae in oriental leech (*Hirudo orientalis*). *JAD*, **2022**, *16*(1), pp. 33-42. URL: <http://dx.doi.org/10.52547/aqudev.16.1.33>.
- (28) Амінов Р. Репродуктивні показники медичних п'явок *Hirudo verbana* та *Hirudo orientalis*. *Mendeley Data*, **2024**, *1*, [https://doi: 10.17632/r8hwwkts4d.1](https://doi.org/10.17632/r8hwwkts4d.1)