

УДК 595.143.6

## ОПТИМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПРИЗНАКОВ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ (*HIRUDO MEDICINALIS*) В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО РАЗВЕДЕНИЯ СООБЩЕНИЕ 1. РАЗМЕР КЛАДКИ

О. М. Утевская

Харьковский национальный университет, пл. Свободы, 4, Харьков, 61077 Украина

Получено 14 января 1999

**Оптимальные значения репродуктивных признаков медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) в условиях искусственного разведения. Сообщение 1. Размер кладки.** Утевская О. М. — Изучена зависимость численности потомства медицинских пиявок по достижению 6-месячного возраста от количества коконов в кладке. Выяснено, что для успешного размножения размер кладки является признаком с промежуточным оптимумом. Наибольшая численность взрослого потомства была у пиявок, кладки которых состояли из 5–6 коконов.

Ключевые слова: *Hirudo medicinalis*, размножение, коконы.

**Optimal Values of Reproductive Characteristics of the Medicinal Leech (*Hirudo medicinalis*) under Conditions of Breeding. Communication 1. The Number of Cocoons per Clutch.** Utevskaia O. M. — The dependence of the number of offspring reaching a six-month age on the number of cocoons per clutch was studied. The number of cocoons per clutch was found to be a character with intermediate optimum in respect of a success of reproduction. The leeches depositing 5–6 cocoons had the most numerous six-month old offspring.

Key words: *Hirudo medicinalis*, reproduction, cocoons.

### Введение

В настоящее время технология содержания и разведения медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis* L.) максимально оптимизирована благодаря детальным исследованиям биологических сторон этого процесса. Наибольший вклад в разработку научно обоснованной методики содержания пиявок внесли М. В. Синева (1944, 1949, 1950), Г. Г. Щеголев (Щеголев, 1948; Щеголев, Перфильева, 1953), Д. В. Запкувене (1972 а–в), R. T. Sawyer (1986). Работы этих исследователей отличались систематическими экспериментальными поисками оптимальных условий жизнедеятельности пиявок.

Повышение эффективности разведения пиявок реализовывалось за счет оптимизации сред содержания, температурных режимов и способов кормления. Характеристики водной среды для постоянного содержания животных (рН=7,0–7,8, концентрация кислорода 6,8–14,0 мг/л) были определены на основе изучения гидрохимических показателей природных водоемов, населенных пиявками (Запкувене, 1972 в). В опытах М. В. Синевой (1949) проверялись различные среды для откладки коконов (торф, глина, песок, вода) и были сделаны выводы о предпочтении пиявками торфяного грунта. Кусковой увлажненный торф предлагался Г. Г. Щеголевым и Н. С. Перфильевой (1953) не только для откладки коконов, но и для постоянного содержания взрослых особей с целью уменьшения заболеваемости. М. В. Синевой (1949) и Д. В. Запкувене (1972 а) были определены температурный интервал совокупления (от 17–18°C до 35°C) и наименьшая температура откладки коконов (15–16°C), а также показано, что температура среды влияет на продолжительность созревания отложенных коконов. Большое влияние на рост и репродукцию пиявок оказывает пищевой режим (Davies, McLoughlin, 1996). Оптимальный режим кормления, заключающийся в определенной периодичности питания на разных стадиях роста, был разработан М. В. Синевой (1950) и сейчас широко используется для быстрого выращивания пиявок. В качестве источников питания были испытаны природные хозяева пиявок — лягушки, кролики, а также кровь млекопитающих (Синева, 1944; Запкувене 1972 б; Sawyer, 1986). На медицинских пиявках были опробованы не только природные источники питания, но и различные диеты, заключающиеся в питании свежей бычьей кровью с добавлением антикоагулянта, дефибринированной кровью, отцентрифугированной сывороткой и смесью клеток крови с культурой ткани (Wilkin, Scofield, 1991). В настоящее время большое значение приобретает модернизация цикла выращивания пиявок. Современная технология «замкнутого цикла», разработанная исследователями фирмы БИОКОН (Никонов, 1998), предусматривает максимальную автоматизацию технологического про-

цесса, что позволяет сократить долю ручного труда и получать высокоактивных и стандартизированных медицинских пиявок.

Изучая способность медицинской пиявки к многократной, повторяющейся в течение ряда лет откладке коконов, Г. Г. Щеголев (1948) отметил значение этого аспекта для селекционной работы, когда от ценной для разведения особи желательнее получить максимальное количество потомства. Безусловно, успешное разведение медицинских пиявок определяется не только соблюдением всех тонкостей технологического процесса, но и во многом зависит от репродуктивных качеств размножающихся особей. У пиявок общая численность получаемого потомства определяется, главным образом, количеством откладываемых коконов. По данным ряда авторов, количество откладываемых коконов варьирует от 1 до 9 штук, из каждого кокона выходит до нескольких десятков нитчаток (Синева, 1949; Щеголев, 1948; Запкувене, 1972 а; Davies, McLoughlin, 1996; Utevskaia, 1998).

Очевидно, что наибольшей плодовитостью отличаются особи, откладывающие максимальное количество коконов. Однако нередки случаи, когда максимальное проявление признака не является оптимальным, а сопряжено с пониженной жизнеспособностью. Классическим примером признака с промежуточным оптимумом является размер кладок обыкновенного скворца (*Sturnus vulgaris*). Д. Лэк (цит. по Бигон и др., 1989), изучая выживание птенцов после вылета из гнезда, обнаружил, что из больших кладок не получалось большого числа потомков вследствие большой смертности из-за пониженной массы при рождении и недостаточного питания. Так как определение оптимальных величин репродуктивных признаков представляет практический интерес для селекции, направленной на повышение продуктивности медицинской пиявки, в данной работе изучалась зависимость численности взрослого потомства от количества откладываемых родительскими особями коконов.

Было принято во внимание, что период между откладкой коконов и достижением молодью половозрелости включает в себя несколько этапов, каждый из которых характеризуется своими особенностями.

1-й этап — откладка коконов. Размер кладки приблизительно определяет максимально возможное количество потомков.

2-й этап — эмбриональное развитие в коконах. Известно, что часть коконов, откладываемых медицинскими пиявками, не развивается и не дает молоди (Щеголев, 1948; Запкувене, 1972 а). По-видимому, это связано с тем, что пиявки откладывают неоплодотворенные коконы, либо коконы с нежизнеспособными эмбрионами. Доля нормально развивающихся коконов, из которых к концу эмбрионального развития выходит жизнеспособная молодежь, в данной работе была определена как *созреваемость* и выражалась в процентах от общего числа отложенных коконов.

3-й этап — выход молоди из коконов. *Количество нитчаток в коконе* варьирует в широких пределах и определяет *численность производимого потомства*, но в меньшей степени, чем размер кладки.

4-й этап — рост молоди. Первые месяцы жизни характеризуются высокой смертностью среди молодых пиявок (Utevskaia, 1998). Таким образом, существенным фактором, влияющим на численность взрослого потомства, является *выживаемость* молоди. Под *выживаемостью* в данной работе понималась доля молодых особей, доживших до 6-месячного возраста. Выбор периода в 6 мес. обусловлен тем, что за этот срок в благоприятных условиях пиявки достигают половозрелости и вырастают до размеров, пригодных для медицинского использования (Запкувене, 1972б). *Численность 6-месячного потомства* медицинской пиявки являлась основным показателем успешности размножения.

Таким образом, зависимость численности 6-месячного потомства от размера кладки складывалась из взаимодействия таких компонентов, как количество отложенных коконов, их *созреваемость*, количество нитчаток в коконе и *выживаемость* молоди.

## Материал и методы

Объектами исследований были однолетние медицинские пиявки (форма *officinalis*) массой до 10 г, выведенные в лабораторных условиях. Селекционные работы с ними до этого не проводились, выбор особей осуществлялся случайно. Для всех особей данный репродуктивный период был первым.

Накормленные пиявки помещались попарно в емкости с водой, где в течение месяца при температуре 25°C между ними происходили многократные совокупления. Затем пиявки кормились и поодиночке высасывались на торф для откладки коконов. Коконы, отложенные каждой из 87 ос. в течение 2 мес., подсчитывались (всего собрано 371 кокон), определялось количество нормально развивающихся коконов, количество нитчаток, выходящих из каждого кокона (для 288 нормально развивающихся коконов), и численность потомства, произведенного каждой особью. Нитчатки из каждого кокона помещались в отдельную емкость с водой и кормились по способу, описанному Д. В. Запкувене (1972 б). Погибшие особи удалялись. Через 6 мес. после выхода из коконов проводился повторный подсчет потомства (для 60 коконов) и определялся процент выжившей молоди.

Для обработки результатов применялись методы дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализов.

## Результаты

**Созреваемость коконов.** Созреваемость коконов для всей исследуемой группы в целом составила  $(78,44 \pm 3,05)\%$  и оказалась неодинаковой в кладках разного размера. В кладках из 1–2 коконов средний процент нормально развившихся коконов

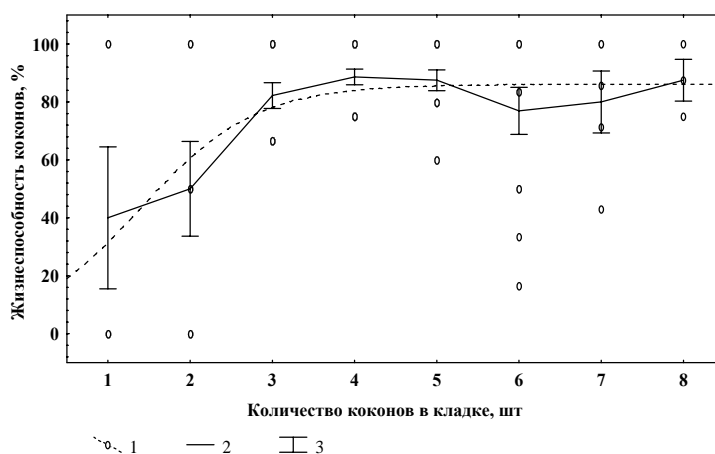


Рис. 1. Процент нормально развивающихся коконов при разном количестве коконов в кладке: 1 — линия регрессии; 2 — средний процент; 3 — ошибка среднего.

Fig. 1. Proportion of normally developing cocoons in clutches with different number of cocoons: 1 — regression line; 2 — mean; 3 — standard error.

был достоверно ниже, чем для кладок из 3–8 коконов, в то время как созреваемость для кладок из 3–8 коконов была практически одинаковой (рис. 1).

Установлено, что от 21 до 26% общего варьирования созреваемости обусловлено влиянием размера кладки ( $P < 0,01$ ). С учетом значения критерия криволинейности был сделан вывод о нелинейном характере связи между созреваемостью и размером кладки; по значению коэффициента корреляционного отношения степень связи была оценена как средняя (табл. 1). Для описания нелинейной зависимости между созреваемостью коконов и размером кладки предложено уравнение логистической кривой:

$$y = 86,084 / [1 + \exp(1,967 - 1,415x)],$$

где  $y$  — созреваемость коконов,  $x$  — размер кладки. Полученная линия регрессии возрастала с ростом  $x$  от 1 до 3, по мере дальнейшего увеличения  $x$  в пределах обозреваемых величин значение  $y$  асимптотически приближалось к 86,08. Наблюдалось хорошее согласование линии регрессии с графическим изображением средних значений созреваемости по кладкам разного размера.

Количество вышедших из кокона нитчаток. Среднее количество вышедших из кокона нитчаток было равно  $10,98 \pm 0,27$ . Количество вышедших из кокона нитчаток было приблизительно одинаковым для кладок из 2–8 коконов, несколько сниженное значение в кладках из 1 кокона могло быть обусловлено ошибкой выборки (рис. 2).

Установлено, что от 3,5 до 5% общего варьирования количества нитчаток в коконе обусловлено влиянием размера кладки ( $P < 0,05$ ). С учетом значения критерия криволинейности был сделан вывод о нелинейном характере связи; по значению коэффициента корреляционного отношения степень связи была оценена как слабая (табл. 1). Для описания нелинейной зависимости между количеством нитчаток в коконе и размером кладки предложено уравнение гиперболы второго порядка:

$$y = 11,329 - 6,118 / x^2,$$

где  $y$  — количество нитчаток в коконе,  $x$  — размер кладки. Полученная линия регрессии возрастала с ростом  $x$  от 1 до 2; по мере дальнейшего увеличения  $x$  в пределах обозреваемых величин значение  $y$  асимптотически приближалось к 11,33. Наблюдалось хорошее согласование линии регрессии с графическим изображением среднего количества нитчаток в коконе по кладкам разного размера.

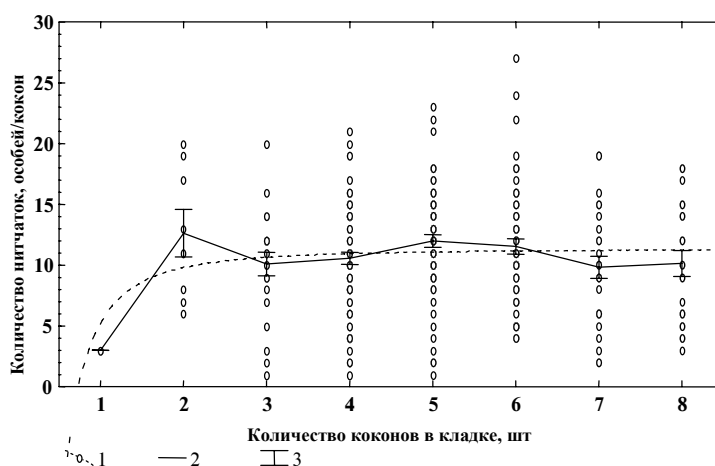


Рис. 2. Количество личинок, выходящих из кокона, при разном количестве коконов в кладке: 1 — линия регрессии; 2 — среднее количество; 3 — ошибка среднего.

Fig. 2. Number of hatchlings per cocoon in clutches with different number of cocoons: 1 — regression line; 2 — mean; 3 — standard error.

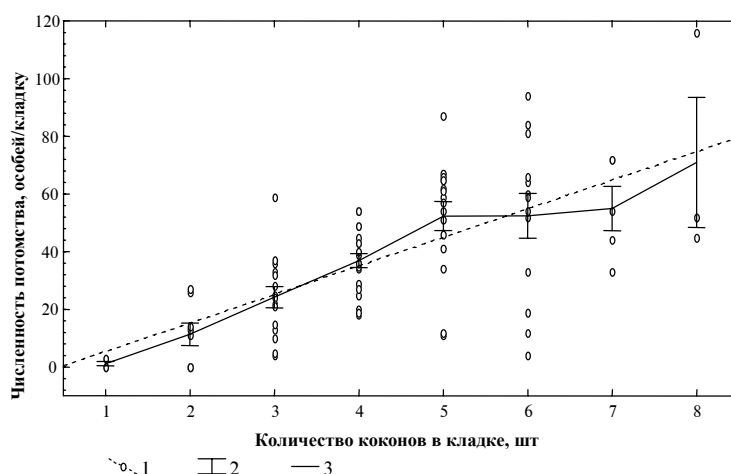


Рис. 3. Численность произведенного потомства в зависимости от количества коконов в кладке: 1 — линия регрессии; 2 — средняя численность; 3 — ошибка среднего.

Fig. 3. Dependence between the number of offspring and the number of cocoons per clutch: 1 — regression line; 2 — mean; 3 — standard error.

**Численность производимого потомства.** Численность производимого потомства имела тенденцию возрастать с увеличением размера кладки. Следует отметить, что средняя численность потомства была одинакова для кладок, состоящих из 5–7 коконов, отличия по количеству молоди между такими кладками были незначительными (рис. 3).

Установлено, что около 50% общего варьирования численности производимого потомства обусловлено влиянием размера кладки ( $P < 0,001$ ). С учетом значения критерия криволинейности был сделан вывод о линейном характере связи; по значению коэффициента корреляции степень связи была оценена как сильная (табл. 1). Для описания линейной зависимости между численностью производимого потомства и размером кладки предложено следующее уравнение:

$$y = -4,542 + 9,912x,$$

где  $y$  — численность производимого потомства,  $x$  — размер кладки. Линия регрессии представляет собой прямую, образующую острый угол наклона с положительным направлением оси абсцисс.

Выживаемость молоди. Для исследуемой группы в целом выживаемость составила  $(59,8 \pm 3,2)\%$ . Средняя выживаемость молоди для кладок из 3–6 коконов оказалась наивысшей (рис. 4).

Установлено, что от 25 до 32% общего варьирования выживаемости обусловлено влиянием размера кладки ( $P < 0,01$ ). С учетом значения критерия криволинейности был сделан вывод о нелинейном характере связи; по значению коэффициента корреляционного отношения степень связи была оценена как средняя (табл. 1). Для описания нелинейной зависимости между выживаемостью молоди и размером кладки предложено уравнение параболы второго порядка:

$$y = -8,562 + 31,237x - 3,208x^2,$$

где  $y$  — выживаемость молоди,  $x$  — размер кладки. Функция принимает максимальное значение при  $x=4,867$ , что находится в пределах обозреваемых величин. Из полученного уравнения регрессии следовало, что максимальной выживаемостью обладала молодь из кладок с 5 коконами, что хорошо согласовывалось с результатами сравнения средних значений выживаемости молоди из кладок разного размера.

Численность потомства по достижении 6-месячного возраста. Кривая зависимости численности потомства по достижении 6-месячного возраста от размера кладки постепенно возрастала от малых кладок до кладок из 5 коконов, где имела четко выраженный пик (рис. 5). Характерно, что, несмотря на более высокие показатели численности выходящей молоди, по достижении 6-месячного возраста число потомков от кладок, состоящих более чем из 5 коконов, было меньшим за счет более высокой смертности молоди.

Установлено, что от 49 до 51% общего варьирования численности 6-месячного потомства обусловлено влиянием размера кладки ( $P < 0,001$ ). С учетом значения кри-

Таблица 1. Влияние размера кладки на плодовитость медицинской пиявки

Table 1. Relationship between number of cocoons per clutch and fecundity indices of the medicinal leech

Показатели плодовитости	№	Показатели связи					
		Коэффициент корреляции			Корреляционное отношение		
		r	t	P	h	t	P
Процент нормально развивающихся коконов	1	0,29±0,10	2,8(k=85)	<0,01	0,54±0,08	6,9(k=85)	<0,001
Количество нитчаток в коконе	2	0,01±0,06	0,1(k=286)	>0,05	0,23±0,06	4,0(k=286)	<0,001
Численность производимого потомства (на одну кладку)	3	0,68±0,08	8,6(k=85)	<0,001	0,71±0,08	9,4(k=85)	<0,001
Процент молоди, дожившей до 6-месячного возраста	4	0,22±0,13	1,6(k=53)	>0,05	0,54±0,12	4,7(k=53)	<0,001
Численность 6-месячного потомства (на одну кладку)	4	0,55±0,11	5,0(k=58)	<0,001	0,73±0,09	8,0(k=58)	<0,001

Таблица 1. (Продолжение)

№	Критерий криволинейности			Форма связи	Степень связи	Уравнение регрессии
	$\gamma$	F	P			
1	0,20	3,7(k <sub>1</sub> =6, k <sub>2</sub> =79)	<0,01	нелинейная	средняя	$y=86,084 / (1+\exp[1,967-1,415x])$
2	0,05	2,6(k <sub>1</sub> =6, k <sub>2</sub> =280)	<0,05	нелинейная	слабая	$y=11,329-6,118/x^2$
3	0,04	1,1(k <sub>1</sub> =6, k <sub>2</sub> =79)	>0,05	линейная	сильная	$y=-4,542+9,912x$
4	0,25	2,8(k <sub>1</sub> =6, k <sub>2</sub> =47)	<0,05	нелинейная	средняя	$y=-8,562+31,237x-3,208x^2$
4	0,22	4,0(k <sub>1</sub> =6, k <sub>2</sub> =52)	<0,01	нелинейная	сильная	$y=-21,868+18,235x-1,537x^2$

Примечание. r — коэффициент корреляции; t — критерий Стьюдента; P — уровень значимости; h — коэффициент корреляционного отношения;  $\gamma$  — критерий криволинейности; F — критерий Фишера; k — степень свободы; y — величина показателя плодовитости; x — количество коконов в кладке.

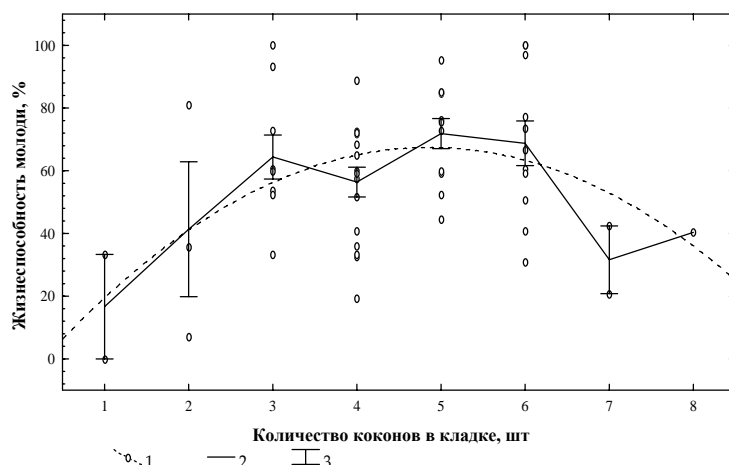


Рис. 4. Процент молоди, дожившей до 6-месячного возраста из кладок с различным количеством коконов: 1 — линия регрессии; 2 — средний процент; 3 — ошибка среднего.

Fig. 4. Survival rate of offspring from clutches with different number of cocoons: 1 — regression line; 2 — mean; 3 — standard error.

терия криволинейности был сделан вывод о нелинейном характере связи; по значению коэффициента корреляционного отношения степень связи была оценена как сильная (табл. 1). Для описания нелинейной зависимости между численностью 6-месячного потомства и размером кладки предложено уравнение параболы второго порядка:

$$y = -21,868 + 18,235x - 1,537x^2,$$

где  $y$  — численность 6-месячного потомства,  $x$  — размер кладки. Функция принимает максимальное значение при  $x=5,932$ , что несколько отличается от оптимального значения величины кладки, наблюдаемого в эксперименте (5 коконов).

## Обсуждение

Численность потомства медицинских пиявок по достижении 6-месячного возраста являлась основным показателем успешности размножения и в значительной степени определялась размером кладки (рис. 5). Для разных кладок была характерна неодинаковая степень воздействия факторов, оказывающих влияние на этот показатель, таких как созреваемость коконов, количество нитчаток в коконе и выживаемость молоди. Созреваемость коконов (рис. 1) и количество нитчаток в коконе (рис. 2) являлись факторами, оказывающими влияние на численность производимого потомства (рис. 3), причем степень их проявления зависела от размера кладки незначительно. Выживаемость молоди (рис. 4), напротив, в значительной степени определялась размером кладки и оказывала влияние на успех размножения.

Совокупное действие факторов, связанных с размером кладки и оказывающих влияние на численность 6-месячного потомства, сопоставлялось для кладок малого, среднего и большого размеров.

Для малых кладок (1–2 кокона) был характерен пониженный процент жизнеспособных коконов (рис. 1), небольшое количество производимых потомков (рис. 3) и пониженная выживаемость молоди (рис. 4), в результате чего численность 6-месячного потомства была невысока и изменялась от  $0,2 \pm 0,2$  до  $7,6 \pm 5,8$  молодых особей на одну пиявку (рис. 5).

Вероятной причиной пониженной созреваемости коконов из малых кладок могло быть отсутствие оплодотворения у родительской особи. При отсутствии в половых путях спермы партнера не происходило достаточной стимуляции процесса формиро-

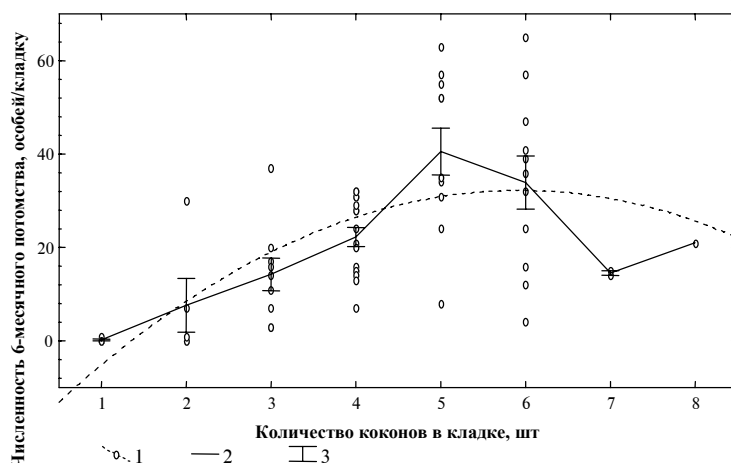


Рис. 5. Численность 6-месячного потомства, полученного из кладок с различным количеством коконов: 1 — линия регрессии; 2 — средняя численность; 3 — ошибка среднего.

Fig. 5. Number of six-month old offspring obtained from clutches with different number of cocoons: 1 — regression line; 2 — mean; 3 — standard error.

вания коконов, и при этом пиявка либо не откладывала коконов вовсе, либо откладывала 1–2 кокона, которые были неоплодотворенными и поэтому не могли дать молоди. Еще одной из причин, по которой пиявки откладывали малое количество коконов, мог быть недостаточный запас питательных веществ (Запкувене, 1972 а), который, в свою очередь, зависит от количества и качества поглощенной пиявкой пищи. Вполне вероятно, что пониженная созреваемость коконов и сниженная выживаемость молоди из малых кладок были обусловлены недостаточностью и неполноценностью питательных веществ, содержащихся в коконах.

Кладки среднего размера (3–6 коконов) обладали наиболее благоприятным сочетанием рассматриваемых характеристик — высоким процентом жизнеспособных коконов (рис. 1), средней (для 3–4 коконов) и высокой (для 5–6 коконов) численностью производимого потомства (рис. 3), высокой выживаемостью молоди (рис. 4), что обусловило высокую численность потомства по достижении 6-месячного возраста — от  $14,2 \pm 3,5$  до  $40,5 \pm 5,0$  молодых особей на одного родителя (рис. 5). Самыми продуктивными оказались кладки из 5 коконов — в среднем  $40,5 \pm 5,0$  молодых особей на одного родителя. Среднее количество коконов, откладываемых медицинскими пиявками, составляющее  $4,3 \pm 0,2$ , относилось к области кладок среднего размера и было близко по своему значению к оптимуму.

В больших кладках (7–8 коконов) высокий процент жизнеспособных коконов (рис. 1) и многочисленность производимого потомства (рис. 3) не компенсировали пониженной выживаемости молоди (рис. 4), вследствие чего численность потомства по достижении 6-месячного возраста — от  $14,5 \pm 0,5$  до 21,0 молодых особей на одного родителя — была ниже, чем в кладках среднего размера (рис. 5).

Для медицинской пиявки характерно то, что при каждом последующем репродуктивном цикле увеличиваются как размер кладки, так и количество вышедших из кокона нитчаток (Шеголев, 1948; Запкувене, 1972 а; Davies, McLoughlin, 1996). Такое повышение плодовитости увеличивает репродуктивную ценность взрослых особей и объясняется большими репродуктивными ресурсами крупных особей.

## Выводы

Количество коконов, откладываемых медицинскими пиявками, является признаком с промежуточным оптимумом. Оптимальными в отношении численности взрос-

лого потомства являются кладки размером 5–6 коконов. Большие кладки в условиях аквакультуры оказываются невыгодными в силу того, что молодь, выходящая из таких кладок, менее жизнеспособна, чем молодь из кладок среднего размера, а содержание и кормление большого количества молодежи, которая погибнет, не достигнув половозрелости и товарного вида, требует определенных затрат и повышает себестоимость конечного продукта.

#### Благодарности

Автор выражает глубокую признательность Л. А. Атраментовой, С. Ю. Утевскому и А. Ю. Утевскому (Харьковский национальный университет) за ценные замечания и проявленное внимание.

- Бигон М., Харпер Дж., Таунсенд К.* Экология. Особи, популяции и сообщества. — М.: Мир, 1989. — Т. 2. — 477 с.
- Занкувене Д. В.* Разведение и выращивание медицинских пиявок в лабораторных условиях (1. Разведение *Hirudo medicinalis f. serpentina* и *H. medicinalis f. officinalis*) // Тр. АН ЛитССР. Сер. В. — 1972 а. — 3, № 59. — С. 71–76.
- Занкувене Д. В.* Разведение и выращивание медицинских пиявок в лабораторных условиях (2. Выращивание *Hirudo medicinalis f. serpentina*) // Тр. АН ЛитССР. Сер. В. — 1972 б. — 3, № 59. — С. 77–83.
- Занкувене Д. В.* Распространение медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis f. serpentina* Moquin-Tandon, 1846) в Литовской ССР и опыт ее искусственного разведения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Вильнюс, 1972 в.
- Лукин Е. И.* Пиявки пресных и солоноватых водоемов // Фауна СССР. Пиявки. Т. 1. — Л.: Наука, 1976. — 484 с.
- Никонов Г. И.* Медицинская пиявка и основы гирудотерапии. — С.-Пб.: СДС, 1998. — 320 с.
- Синева М. В.* Наблюдения над выращиванием медицинских пиявок // Зоол. журн. — 1944. — 23, № 6. — С. 293–303.
- Синева М. В.* Биологические наблюдения над размножением медицинской пиявки // Зоол. журн. — 1949. — 28, № 3. — С. 213–224.
- Синева М. В.* Зависимость роста медицинской пиявки от приемов пищи. // Бюл. Моск. об-ва исп. природы, отд. биол. — 1950. — 55, № 6. — С. 50–56.
- Щеголев Г. Г.* Наблюдения над многократной откладкой коконов медицинскими пиявками // Зоол. журн. — 1948. — 27, № 5. — С. 13–16.
- Щеголев Г. Г., Перфильева Н. С.* О содержании пиявок в кусковом торфе: Тез. докл. XIV Науч. конф. Рязан. мед. ин-та им. акад. И. П. Павлова. — 1953. — С. 73–76.
- Davies R. W., McLoughlin N. J.* The effects of feeding regime on the growth and reproduction of the medicinal leech *Hirudo medicinalis* // Freshwater Biology. — 1996. — 36. — P. 563–568.
- Sawyer R. T.* Leech Biology and Behaviour. In 3 vol. — Oxford: Clarendon Press, 1986.
- Утевская О. М.* Analysis of reproductive ability of the medicinal leech (*Hirudo medicinalis*) bred under laboratory conditions // Vestnik zoologii. — 1998. — 32, N 1–2. — С. 119–122.
- Wilkin P. J., Scofield A. M.* Growth of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*, under natural and laboratory conditions // Freshwater Biology. — 1991. — 25. — P. 547–553.