

等地,气候地理条件与多伦差别较大,赤芍的红外谱图区别也较大。但是,样品主成分的区别大小并不与产地间距离远近成正比。如陕西旬邑、黄龙等地虽然距离道地产区较远,然而所产赤芍的 FTIR 谱图与多伦相似,主体化学成分相近,可能与这些地区海拔高、气候干燥、土壤中微量元素特异有关。正如利比希“最小因子定律”<sup>[7]</sup>所说:植物的生长往往不受环境中较充足,而且在植物生长过程中所需较大的营养物质的限制,而是受土壤中某些微量元素的制约,即植物的生长取决于环境中处于最低量状态的营养物质。

红外光谱法在化合物分子结构测定和矿物分析方面的应用十分广泛,但用于植物药材鉴定尚处于探索阶段。傅里叶变换红外光谱方法利用干涉图和光谱图之间的对应关系,通过测量干涉图和对干涉图进行傅里叶积分变换来测定和研究光谱图,从而使它具有比经典的红外光谱法高得多的信噪比和分辨率,而且固、液、气样品可以方便的直接测定,具有简便、准确、快速的特点,可以补充其他方法之不足,

加速了用于道地药材鉴定方面的应用。值得强调的是:多伦产芍药根的全组分 FTIR 谱图具有一定特异性,它是优质赤芍的来源,但是由于生态环境的急剧恶化,这一珍贵种质已经濒危<sup>[8]</sup>,亟待保护,以便对其药理作用和化学成分进行更深入的研究。

致谢:衷心感谢清华大学化学系仪器分析中心周群老师在实验中给予热情指导,特别感谢中药所杨莲菊、何希荣、格小光、唐晓军老师协助采集样品。

参考文献:

- [1] 中国药材公司,中国测绘科学院. 中国药材资源地图集 [M]. 北京:科学出版社,1994.
- [2] 胡世林. 中国道地药材原色图说 [M]. 济南:山东科学技术出版社,1998.
- [3] 胡世林. 中国道地药材论丛 [M]. 北京:中医古籍出版社,1997.
- [4] 田进国,胡世林,娄红祥,等. 不同产地白芍和赤芍的红外光谱鉴别 [J]. 中药材,1995,18(4): 176-179.
- [5] 孙素琴,周群,胡鑫尧,等. 分子振动光谱与中药研究的最新进展 [J]. 光谱学与光谱分析,2000,20(2): 199.
- [6] 孙素琴,张宣,秦竹,等. FTIR 光谱法直接鉴别植物生药材 [J]. 光谱学与光谱分析,1999,19(4): 542.
- [7] 郭继明,淮虎银. 药用植物与环境 [M]. 北京:中国医药科技出版社,1997.
- [8] 赵一之. 内蒙古珍稀濒危植物图谱 [M]. 北京:中国农业科技出版社,1992.

## 广东菲牛蛭生长和生殖的研究

谭恩光\*,黄立英,关莹,王波\*

(中山医科大学 生物学教研室,广东 广州 510089)

**摘要:**目的 研究室内菲牛蛭生长动态和生殖,为人工饲养菲牛蛭提供基础资料。方法 在同一个卵袋产下的幼蛭,放入盛有天然水的 80 cm×60 cm×50 cm 的玻璃缸内饲养,每 10 d 称牛蛭体重 1 次,每天记录水温,每月换水一次,每次在野外采回的水要检测 10 种化学成分。在活兔身上吸血,每次称出出血量。观察生长发育变化,记录交配产卵过程。结果 从孵化出的幼蛭经 14 个月时间,吸血 5、6 次,生长发育达到性成熟,第 1、2、3 次吸血为幼体阶段,第 4 次吸血后进入亚成体阶段,第 5 次吸血后,部分个体达到性成熟,有的个体第 6 次吸血后进入性成熟。生长动态曲线是一跳跃曲线。记录了交配、产卵过程。结论 阐明牛蛭生长动态和生殖过程。在室内饲养牛蛭成功。

**关键词:**菲牛蛭;生长动态;生殖

中图分类号: R282.3 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0837-04

## Studies on growth and reproduction of *Hirudinaria manillensis* in Guangdong Province

TAN En-guang, HUANG Li-ying, GUAN Ying, WANG Bo

(Department of Biology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510089, China)

**Abstract Object** To study the dynamic growth and reproduction of *Hirudinaria manillensis* Lesson in laboratory with providing the data of artificially breeding leech in the field. **Methods** The newly hatched juvenile from same cocoon were bred in 80 cm×60 cm×50 cm aquaria with natural water from rice paddy and weighted every ten days. Water temperature was recorded daily and water was exchanged

\* 收稿日期: 2001-03-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (3880068, 39160017); 省中医药管理局基金 (200011)

作者简介: 谭恩光 (1936-), 男, 广东阳江人, 教授, 研究方向为蛭类及其在医学上的应用。E-mail: Tanenguang@21cn.com

\* 通讯作者

monthly. Ten chemical elements of water from rice paddy were analyzed in the laboratory. Leeches were allowed to engorge the blood on living rabbits and the amount of engorged blood was measured every time to observe the growth and development, record the copulation and cocoon-deposit, and make the curve of dynamic growth of the leech. **Results** The newly hatched juvenile grew and developed for 14 months to sexual maturation period by engorging rabbit's blood of five or six times. The leeches were still juvenile in the first three times of engorging, became subadult in the fourth. Then some developed to the sexual maturation period individually in the fifth, and some individually in the sixth. The curve of dynamic growth displayed rising and falling with the record of copulation and cocoon deposit. **Conclusion** The above study elucidate the dynamic growth, reproduction and the successfully breeding of leeches in the door.

**Key words** *Hirudinaria manillensis* Lesson; dynamic growth; reproduction

蚂蟥是一味传统中药。《本草纲目》对水蛭的药物治疗效,使用方法,做了较全面记载<sup>[1]</sup>。现代药理实验表明水蛭注射液能使肿瘤细胞坏死,消失,对网状内皮细胞有增强作用。与非吸血蛭类比较,吸血的菲牛蛭,唾液腺含有较丰富的抗血液凝固的水蛭素,在医药学上有重要的价值。随着人民生活水平的提高,食物结构的改变,我国老龄人口的增加,抗血栓中药的需求日益增加。有关蛭类生长发育生殖的研究,国外 Mann 对 *Erpobdella octoculata* (L), *Erpobdella testacea* (Sav) 的生活史进行研究<sup>[2]</sup>; Sawyer 等对 *Haementeria ghilianii* 的生长、生殖进行研究<sup>[3]</sup>; Keegan 对东南亚的菲牛蛭一些生活习性进行研究<sup>[4]</sup>。Moore 对印度牛蛭分类、分布和习性进行研究。国内谭恩光等研究吸血山蛭 *Haemadipsa hainan* 的生态分布生长摄食和生殖<sup>[5,6]</sup>。1992年 Steiner 从产自马尼拉的菲牛蛭分离纯化新的水蛭素,测定原始结构和功能,表明有抗凝活性<sup>[7]</sup>。1993年 Seacheri 从菲牛蛭分离出 2 种水蛭素变异体,测定其氨基酸的序列、cDNA 克隆和表达,表达产物有抗凝活性<sup>[8]</sup>。2002年谭恩光等从广东产的菲牛蛭基因组中 PCR 扩增出水蛭素基因,并克隆和测序,结果表明与马尼拉产的菲牛蛭水蛭素基因 Hm<sub>1</sub> 和 Hm<sub>2</sub> 同源性分别为 90% 和 88.6%,说明国产菲牛蛭的水蛭素具有抗凝作用<sup>[9]</sup>。但对我国产的菲牛蛭生长、发育、生殖尚未见研究报道。本研究为田间规范化人工养殖菲蛭提供基础资料。

## 1 材料与方法

1.1 材料:在广州市郊水稻田间的沟渠采集大、中、小菲牛蛭 *Hirudinaria manillensis* Lesson,在室内分别饲养。大蛭产卵,卵孵化出幼蛭,从幼蛭开始再进行生长发育、生命周期饲养研究。

1.2 室内饲养的容器及水体:玻璃缸大小为 80 cm×60 cm×60 cm,缸内水深 20 cm,放养 10 条。缸

口用纱网盖住,防止水蛭外爬,缸内悬挂一盏 60 W 灯泡。一般 8:00 亮灯,17:30 熄灯,下雨天不亮灯。室内饲养用水来自有菲牛蛭出现的水体,采回后检测 10 种化学因子 (Na<sup>+</sup> . . . . .),每个月换水 1 次。为以后野外人工饲养菲牛蛭配制人工水提供数据。

1.3 生长、发育和生殖的观测:饲养开始称体重 1 次,以后每 10 d 称体重 1 次,直至性成熟,以测出体重与日期数据,绘制成生长动态曲线,另每次喂血前后也要称体重 1 次,了解食物营养对水蛭体重增长的作用。每天观测水温、气温。幼体开始饲养,在兔身上吸第 1 次血,隔一段时间,视蚂蟥饥饿程度决定吸第 2、3、4 . . . . . 次血。根据饲养山蛭的经验,第 3 次吸血后要注意观察体前段生殖环带区变化,当环带区变宽,色变灰,标志幼体结束,进入亚成体。当环带区在生殖孔附近出现米黄色颗粒时,标志着性开始成熟,要注意其交配和产卵。记录交配过程、日期、产卵期、产卵过程、孵化日期和每个卵袋孵化出幼体数目。

## 2 结果

2.1 广东菲牛蛭生长动态:图 1 表明广东菲牛蛭生长动态曲线。从幼体开始室内饲养直至性成熟,在活兔身上吸血 6 次。其中幼体阶段第 1~3 次,第 4 次吸血后进入亚成体阶段,第 5 次吸血后逐步进入成体阶段。第 5 次至第 6 次吸血之间开始产卵袋,完成一个生命周期,历时 14 个月。室内饲养广东菲牛蛭,吸血是吸血蛭类唯一营养物质来源,对吸血蛭类生长发育起重要作用。孵化后的幼蛭,第 1 次吸入血量 1.8 g/10 条,是体重的 2.16 倍,第 3 个月才吸第 2 次血,吸入血量 6.9 g/10 条,是体重的 4.4 倍。第 5 个月才吸第 3 次血,吸入血量 10.03 g/10 条,是体重的 2.18 倍。第 8 个月吸第 4 次血,吸入血量 21.06 g/10 条,是体重的 3.04 倍。第 11 个月吸第 5 次血,吸入血量 46.8 g/10 条,是体重的 3.05 倍。第 16 个月吸第 6 次血,吸入血量 38.4 g/10 条,是体重

的 1.3 倍。第 5 次吸血后,第 6 次吸血前后,个体逐步开始产卵

生命周期共吸 6 次血,共吸入 125.3 g / 10 条血量,其中第 4,5 次吸入血量分别为 14.73 和 32.8 g,这两次吸血量之和占生命周期吸血量 54.21%,第 4,5 次吸血阶段是蛭类生长发育重要阶段——产卵前后阶段,是动物繁衍后代的生命阶段,也是体重增长,体形明显变大阶段,需要大量的营养物质为生殖作好准备。

从图 1 看出,每次吸血使菲牛蛭体重大大增加,使生长动态曲线直线升高相当距离,每次吸血后使生长动态曲线直线升高,生命周期有 5,6 次升高,结果整条生长动态曲线呈现出跳跃式生长动态曲线,每次跳跃升高有较大的变化,这与每次吸血量有关,跳跃升高最大的是第 4,5 次。

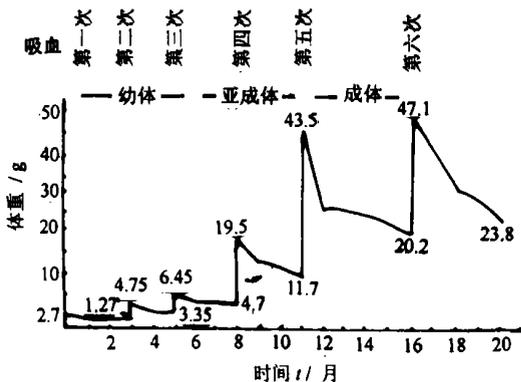


图 1 广东菲牛蛭生长动态曲线

2.2 广东菲牛蛭的生殖: 从刚孵化出的幼蛭开始饲养,经过 5~6 次吸血,历时 14~19 个月的生长发育,有些个体开始性成熟。性成熟个体由于生殖腺发育成熟而变大,使环带区变大,外表可见环带区灰色的生殖腺组织。由于牛蛭是个体较大的吸血蛭类,而且雌雄性生殖孔在身体前 1/3 段的 31/32~36/37 环间,交配时两个体后吸盘和身体后半段固定在玻璃缸壁或底面,前半段抬起,腹面互相贴近,两个体以口吸盘互相吻吸,一个个体的雌性生殖孔对应另一个体的雄性生殖孔,并且互相紧贴,身体前段作波浪状收缩,在这一过程中把精液注入对方雌性生殖孔,完成异体受精过程。交配一般发生在早上或夜间。1994 年 1 月 29 日发现一对牛蛭交配,当时水温 15℃,气温 16℃。交配后过一段时间,牛蛭开始产卵,产卵时,产卵个体由于身体前段肌肉缓慢地不断收缩,雌性生殖孔开始也缓慢地排出一些透明的粘液小泡,随着粘液小泡变多,这些透明的小泡向侧向背面扩展,把生殖环带区绕成一圈,最后排出一些黄

色的粘液(精液),排完后,生殖环带区变小,身体前段向后退缩,而排出的卵袋表面粘液固定不动。最后身体前段完全退出卵袋并用前吸盘把卵袋的小孔封住,就完成产卵过程。产卵一般也在早上或夜间进行。1994 年 4 月 1 日产下卵袋一个,当时阴天湿度大,水温 19.5℃,气温 21℃,产后的亲蛭仍在卵袋旁边。卵袋大小为 2.2 cm×1.3 cm,长椭圆形。卵在卵袋内的蛋白营养液中发育,发育成为幼蛭后仍在卵袋内活动,并用自己的腭片上的锯齿磨破卵袋壁,然后一条一条钻出卵袋。产下的卵袋 23~29 d 后,孵化出幼蛭,4 月 1 日产下卵袋,4 月 23 日从卵袋内孵化出 1 条幼蛭,4 月 29 日又从卵袋钻出 12 条幼蛭,此卵袋共孵出 13 条幼蛭。一般一个卵袋孵化出 10 条幼蛭。刚孵化出幼蛭大小:(9.5~13 mm)×(2.8~4 mm),平均 11.6 mm×3.37 mm,平均体重 63.06 mg

2.3 菲牛蛭的活动与温度关系: 从室内观察和记录表明,气温 12℃,水温 10℃,部分牛蛭开始活动,表现出抬头,前段伸展,缓慢爬行,有的不活动。气温 13℃~15℃,水温 12℃~15℃,大多数牛蛭活动,有时仍有 1,2 条不活动。气温 15℃以上,水温 14℃以上,所有蛭活动,表现出游泳活动。气温 21℃以上,水温 19℃以上,牛蛭最活跃。气温 7℃,水温 6.5℃,牛蛭全部不活动,牛蛭钻入玻璃缸底的瓦片下面,有的互相缠绕成团。此外,吸饱血后第 2 天牛蛭也不活动,虽然气温水温适合牛蛭活动。

### 3 讨论

3.1 菲牛蛭生长动态曲线与其他蛭类的比较: 蛭类生长动态曲线模式有两类: 一类是连续生长动态曲线,如 *Piscicola geometra* 和 *Eripobdella octoculata* 这类生长动态曲线较平滑,这些蛭类每次取食量不大,而且较经常有机会取食,如 *P. geometra* 孵化出的个体隔几天取食 1 次,较大的个体也只隔 8~14 d 取食 1 次,每次取食体重增加 40%,而且消化较快,因此,生长动态曲线较平滑。另一类跳跃式生长动态曲线,如吸血种类的 *Haementeria ghilianii* *Hirado medicinalis* 和 *Haemadipsa hainana* 这些蛭类,每次吸血量非常大,约为体重的 4.5 倍或更多,如 *H. hainana* 一次吸血量至体重 10 倍以上。这些蛭类每次吸血的时间间隔相当长,有的达到几个月,表明在其生活的环境周围不易有机会吸到一次血。这些蛭类消化、吸收食物是很慢的,吸一次血消化时间长达数月,菲牛蛭的生长动态曲线属跳跃式曲线,但它与其他的跳跃生长动态曲线不同;菲牛蛭生命周

期要吸 5~6 次血,历时大约 14~19 个月。而 *H. ghilianii* 只吸 4 次血,历时超过 280 d 完成生命周期, *H. hainana* 也只吸 4 次血,历时 360 d 左右。

3.2 吸入血量与体重增长关系: 广东菲牛蛭从孵化出幼蛭至性成熟要吸 5~6 次血,这 5 次吸血量 (g/10 条) 分别是 17.2, 6.9, 10.3, 21.06, 46.89, 合计吸入 103.15 g/10 条。第 5 次吸血后一段时间性成熟个体体重为 34.251 g/10 条, 生命周期吸血量是性成熟个体体重的 3 倍, 即生长 1 g 蚂蟥要 3 g 血作为食物。海南山蛭从卵孵化到性成熟吸 4 次血, 这 4 次吸血量 (g/10 条) 分别为 0.385, 1.44, 5.105 5, 20.321<sup>[9]</sup>, 合计吸入 27.257 5 g/10 条, 性成熟时体重为 4.817 g/10 条, 生命周期吸入血量与性成熟个体体重之比为 5.6, 即长 1 g 蚂蟥要 5.6 g 血作为食物。因此吸入血量与性个体成熟体重之比, 海南山蛭比牛蛭大。也就是说从摄入营养物质与产生性成熟蚂蟥体重之比, 海南山蛭的效益比菲牛蛭低, 海南山蛭

吸血量大, 生长少, 菲牛蛭吸血量相对少, 生长快。至于养殖二种蚂蟥经济效益的因素很多, 在此不讨论。

参考文献:

- [1] 明·李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1981.
- [2] Mann K H. The life history of the leech *Erpobdella testacea* (Sav.) and its adaptive significance [J]. *Oikos*, 1961, 12(1): 164-169.
- [3] Sawyer R T. A leech biology and behavior. In: *The neurobiology of the leech* [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Publications, 1981.
- [4] Keegan H L, Toshioka S, Suzuki H. Blood-sucking asian leeches of families Hirudidae and Haemadipsidae [R]. Japan: US Army Medical Command July, 1968.
- [5] 谭恩光, 钱月桃, 陈鸣史, 等. 海南岛陆蛭生态分布的调查研究 [J]. *生态学报*, 1989, 9(4): 283.
- [6] 谭恩光, 陈晶, 钱月桃, 等. 海南山蛭的生长、摄食和生殖 [J]. *海南大学学报 (自然科学版)*, 1992, 10(1): 16.
- [7] Steiner V. Primary structure and function of novel oglycosylated hirudins from the leech *Hirudinaria manillensis* [J]. *Biochemistry*, 1992, 31: 2294-2298.
- [8] Seacheri E. Novel hirudin variants from the leech *Hirudinaria manillensis*, Amino acid sequence, cDNA cloning and genomic organization [J]. *Eur J Bio Chem*, 1993, 214: 295-304.
- [9] 谭恩光, 刘秀平. 广东菲牛蛭毒素基因的克隆及序列测定 [J]. *中山医科大学学报*, 2002, 23(2): 84-86.

## 光、赤霉素和乙烯利对贯叶连翘种子萌发的影响

贺军民<sup>1,2</sup>, 李发荣<sup>2</sup>, 余小平<sup>2</sup>, 潘树民<sup>2</sup>, 赵文明<sup>1\*</sup>

(1. 西安交通大学生命科学与技术学院, 陕西 西安 710049; 2. 陕西师范大学生命科学院, 陕西 西安 710062)

**摘要:** 目的 研究光、赤霉素和乙烯利对贯叶连翘 *Hypericum perforatum* 种子萌发的影响, 为贯叶连翘的人工栽培提供理论依据。方法 直接发芽法。结果 贯叶连翘种子光下萌发率达 79%, 而暗中不萌发。赤霉素和乙烯利不仅能促进种子光下萌发, 而且能诱导种子暗萌发。但乙烯利处理对幼苗胚根生长有明显的抑制作用。结论 贯叶连翘种子为需光种子, 其需光性与赤霉素和乙烯利有关。

**关键词:** 贯叶连翘种子; 光; 乙烯利; 赤霉素; 萌发率

中图分类号: R282.21 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0840-04

## Effects of light, gibberellin and ethephon on germination of seed of *Hypericum perforatum*

HE Junmin<sup>1,2</sup>, LI Fa-rong<sup>2</sup>, SHE Xiao-ping<sup>2</sup>, PAN Shu-min<sup>2</sup>, ZHAO Wen-ming<sup>1</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China;

2. College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract Object** To provide the theoretical basis for the artificial planting of *Hypericum perforatum* L., the effects of light, gibberellin and ethephon on the germination of *H. perforatum* seeds were studied. **Methods** The method of direct germination was used. **Results** The seeds germinated to 79% in the light, while didn't germinate in the dark. Gibberellin and ethephon not only promoted the germination in the light, but also induced the germination in the dark. But ethephon inhibited the growth of seedling radicals severely. **Conclusion** The seed of *H. perforatum* is light-dependent seed, its light-dependence is related to gibberellin and ethephon.

\* 收稿日期: 2002-02-03

作者简介: 贺军民 (1965-), 男, 陕西洛南人, 副教授, 博士研究生, 1988年毕业于陕西师范大学生物系, 同年考取本系硕士研究生, 1991年毕业于硕士学位并留本系工作至今, 2000年考取西安交通大学基因工程方向在职博士研究生。主要从事植物生理学及分子生物学方面研究, 发表论文 20余篇。Tel (029) 5255480(H) 5308451(O) 13038588953(手机)