

明,种皮、抽气、染色时间、脱水时间和水合时间,对透明效果有明显影响。去掉种皮、固定时抽气、染色时间及脱水时间和水合时间加长取得良好的透明效果,并建立了一套肉苁蓉种子整体透明与染色技术,用于肉苁蓉种子胚的形态观察。这项技术为观察肉苁蓉种子萌发过程中胚的形态变化和对不同刺激(如神州4号人造卫星搭载、植物生长物质等)的反应提供了一种新的手段。

3.2 寄生植物肉苁蓉的种子萌发机制是肉苁蓉栽培学的重要问题。最近报道,肉苁蓉种子在1/2MS培养基上有萌发现象<sup>[10]</sup>。本实验结果表明,5℃湿沙层条件下肉苁蓉的种子可萌发,但萌发率很低。关于肉苁蓉种子萌发的机制和萌发条件,仍是需要进一步研究的课题。

#### References:

- [1] Yang H Y. The use of whole stain-clearing technique for observations on embryo sac, embryo, endosperm and embryoid [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1986, 28(6): 575-581.
- [2] Wu X D, Yang S J. The use of whole clearing technique for observation of *Arabidopsis thaliana* embryonic development [J]. *J Agric Biotechnol* (农业生物技术学报), 1997, 5(1): 95-97.
- [3] Chen J S, Zhao S X. A study on cell embryology of rice 84-15 [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 1999, 16(3): 284-287.
- [4] Li Z L. *Technology of Plant Flaking* (植物制片技术) [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1987.
- [5] Li T R, Ge J X, Xu Y Y. The seed germination of *Cistanche deserticola* Y. C. Ma and its relationship with host plant *Haloxylon ammodendron* Bunge [J]. *J Inner Mongolia Univ* (内蒙古大学学报), 1989, 20(3): 395-400.
- [6] Herr J M. A new clearing-squash technique for the study of ovule development in angiosperms [J]. *Am J Bot*, 1971, 58: 785-790.
- [7] Herr J M. An analysis of methods for permanently mounting ovules cleared in four-and-a-half type clearing fluids [J]. *Stain Technol*, 1982, 57: 161-169.
- [8] Grane C F. Apomixis and crossing incompatibilities in some Zephyranthes [A]. *Dissertation of Doctoral Degree of University of Texas* [D]. Austin TX: University of Texas, 1978.
- [9] Stelly D M, Peloquin S, Palmer R G, et al. Mayer's hemalum-methyl salicylate, A stain-clearing technique for observation within whole ovules [J]. *Stain Technol*, 1984, 59: 155-166.
- [10] Sheng J H, Zhai Z X, Guo Y H. Morphology of seed germination and haustorium formation in *Cistanche deserticola* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(9): 1047-1049.

## 广东菲牛蛭生活水体的化学环境

谭恩光

(中山大学中山医学院 生物学教研室, 广东 广州 510089)

蛭类俗称蚂蟥,是传统中药。《本草纲目》对水蛭的药理、疗效、使用方法作了较全面记载。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,吸血的非牛蛭唾液腺含有较丰富的抗血液凝固水蛭素,在医药学上有重要价值。有关吸血蛭类繁殖饲养研究,国内谭恩光(2002)曾报道广东菲牛蛭 *Hirudinaria manillensis* Lesson 的生长和生殖,及吸血山蛭的生态分布、生长、摄食和生殖<sup>[1~3]</sup>。国外 Keegan(1968)对东南亚的非牛蛭生活习惯进行观察<sup>[4]</sup>。1992年 Steiner 从产自马尼拉的非牛蛭中分离纯化新的水蛭素,测定其原始结构和功能表明有抗凝活性<sup>[5]</sup>。1993年 Scacheri 从非牛蛭中分离出2种水蛭素变异体,测定其氨基酸序列,cDNA 克隆和表达,表达产物有抗凝活性<sup>[6]</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,并克隆和侧

序,表明与马尼拉的非牛蛭水蛭素基因 Hm<sub>1</sub> 和 Hm<sub>2</sub> 同源性分别为 90% 和 88.6%,说明国产菲牛蛭有抗凝作用<sup>[7]</sup>。有关蛭类田间饲养主要是非吸血的金线蛭,如宽体金线蛭。现报道广东菲牛蛭生活水体的化学环境,为田间规范化人工饲养牛蛭提供基础资料。

### 1 材料与方法

1.1 水样的采集,在广州市郊的水稻田、菜田的沟渠,低洼处等有牛蛭活动的水体,分别采集水样,后混合在一起,带回实验室分析。结合室内人工饲养牛蛭的水体,从幼体开始饲养,每月采水样1次,检测其化学成分1次,每月换水1次。检测水样重复3年。

1.2 水样化学分析方法,水样采回后,分析 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Cl<sup>-</sup>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 和 pH 值共 10 项。其测定方法:PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 磷钼兰比色法;Cl<sup>-</sup> 硝酸银滴定法;SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 铬酸钼比色法;HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 酸碱滴定法;pH 用 pH 测定仪;Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、

收稿日期:2005-01-28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(3880086、39160017);广东省医学基金资助(1996);广东省中医药基金资助(200011)。

作者简介:谭恩光,男,广东阳江人,教授,研究方向为蛭类及在医学上应用。E-mail:tanenguang@21cn.com

$\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 均用火焰原子分光光谱法,离子质量浓度  $\text{mg/L}$ 。

1.3 牛蛭饲养方法:与文献报道<sup>[1]</sup>相同。

## 2 结果

从图1~4看出:(1)在广州地区菲牛蛭生活水体中化学成分较高的离子质量浓度是  $\text{HCO}_3^-$  (46~109.5  $\text{mg/L}$ )、 $\text{Ca}^{2+}$  (19.33~35.14  $\text{mg/L}$ )、 $\text{SO}_4^{2-}$  (9.84~126.0  $\text{mg/L}$ )、 $\text{Cl}^-$  (9.75~29.3  $\text{mg/L}$ )、 $\text{Na}^+$  (5.02~19.87  $\text{mg/L}$ )。离子质量浓度较低的是  $\text{PO}_4^{3-}$  (0.17~2.9  $\text{mg/L}$ )、 $\text{Fe}^{3+}$  (0.16~0.43  $\text{mg/L}$ )。(2)不同年份水体化学成分有所不同,主要表现为  $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  的每年波动情况较明显。(3)历年年内  $\text{Ca}^{2+}$  质量浓度波动不大,相对较平稳,pH值波动也不大,维持在中性范围(5.8~7.7)。(4)牛蛭生长发育过程中,幼体、亚成体、成体时期水体化学成分无明显规律性差异。

因此,在广州地区菲牛蛭生活水体有较高的  $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ ,有较稳定的  $\text{Ca}^{2+}$ ,pH值(中性偏酸)。

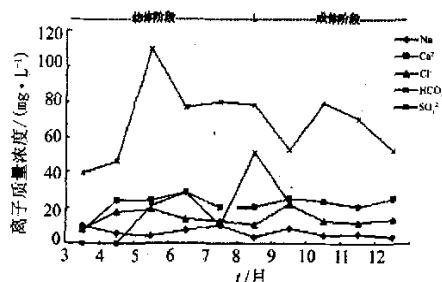


图1 牛蛭生活水体化学因子变化(1994)

Fig. 1 Chemical factors change in live water of *H. manillensis* (1994)

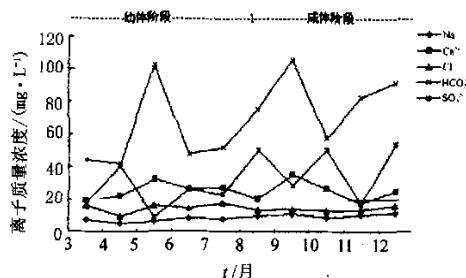


图2 牛蛭生活水体化学因子变化(1995)

Fig. 2 Chemical factors change in live water of *H. manillensis* (1995)

## 3 讨论

牛蛭属主要分布在东南亚地区,我国主要分布在中部东南和西南地区。该属已知种有菲牛蛭 *H. manillensis*,颗粒牛蛭 *Poecilobdella granulosa*,湖北

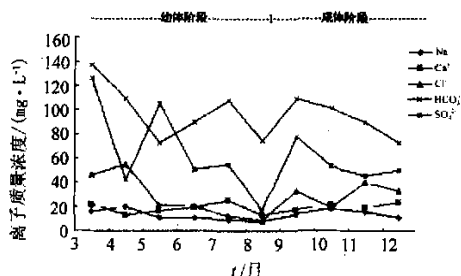


图3 牛蛭生活水体化学因子变化(1996)

Fig. 3 Chemical factors change in live water of *H. manillensis* (1996)

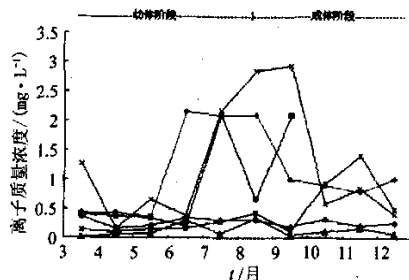


图4 牛蛭生活水体  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  变化(1994—1996)

Fig. 4  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  change in live water of *H. manillensis* (1994—1996)

牛蛭 *P. hubeiensis* 和 *P. viridis*。菲牛蛭分布在菲律宾、泰国、越南,中国的东南、中部、西南部等地区。因此菲牛蛭适应不同的环境条件。不同地区的牛蛭生活的水体应有所不同。主要与当地地理环境条件,及所用的化肥农药有关。本实验所检测的是广州市郊菲牛蛭生活水体的主要化学成分。所以,配制人工水体时,要从当地牛蛭生活水体分析结果作为依据,以适用当地牛蛭种类饲养用水。Young 等报告<sup>[8]</sup>,英国在水体碱度( $\text{CaCO}_3$ )60  $\text{mg/L}$  以上几乎所有水蛭种类都较丰富,少数种出现在 18  $\text{mg/L}$  以下。

从化学成分之间关系看, $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 强碱性金属离子较低。而中性  $\text{Ca}^{2+}$  离子较稳定, $\text{HCO}_3^-$ 弱酸根量较高,波动也较大,有助于调节水体 pH 值。因此配制人工饲养水体时可以通过  $\text{HCO}_3^-$  来调节,维持牛蛭生活水体所需 pH 值的稳定性,如加饲料后,pH 发生变化,可用  $\text{HCO}_3^-$  来调节。

水体中  $\text{SO}_4^{2-}$  量较高,原因可能有:1. 使用含  $\text{SO}_4^{2-}$  的化肥如硫酸铵类;2. 大气中  $\text{SO}_2$  量较高, $\text{SO}_2$  污染较重;3. 酸雨形成水体中  $\text{SO}_4^{2-}$  增多。广州地区是全国酸雨较严重地区之一<sup>[9]</sup>。虽然牛蛭能生活在  $\text{SO}_4^{2-}$  量较高的水体,但从规范化饲养看,是不符合 GAP 要求的,因此在配制人工饲养用水体时

要考虑这一点。

#### References:

- [1] Tan E G, Huang L Y, Wang B. Studies on growth and reproduction of *Hirudinaria manillensis* in Guangdong Province [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 23(9): 839-840.
- [2] Tan E G, Qian Y T, Chen M S, et al. Preliminary study on the ecological distribution of land-leeches in Hainan Island [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 1989, 9(4): 384-385.
- [3] Tan E G, Chen J, Qian Y T. Growth, feeding and reproduction of the Leech *Haemadipsa hainana* Song [J]. *J Hainan Univ: Nat Sci* (海南大学学报: 自然科学版), 1992, 10(1): 16-20.
- [4] Keegan H L, Toshioka S, Suzuki H. Blood-sucking Asia leeches of families Hirudidae and Haemadipsidae [R]. Japan: US Army Medical Command, July, 1968.
- [5] Steiner V. Primary structure and function of novel oglycosylated hirudins from the leech *Hirudinaria manillensis* [J]. *Biochemistry*, 1992, 31, 2294-2298.
- [6] Scacheri 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.
- [7] Tan E G, Liu X P. Cloning and sequencing of hirudin gene of *Hirudinaria manillensis* in Guangdong [J]. *Acad J Sun Yat-sen Univ Med Sci* (中山医科大学学报), 2002, 23(2): 84-86.
- [8] Young J Q. A quantitative study of the comparative distribution of non-parasitic leeches and triclads in the stony littoral of British Lake [J]. *Int Revue Ges Hydrobiol*, 1981, 66(6): 847-862.
- [9] Zheng S S. Study on the present situation and the distribution of time and space of acid rain in Guangdong [J]. *China Environ Sci* (中国环境科学), 1992, 12(4): 316-318.

## 珠海芦荟 GAP 基地专用肥的研究

蒋林<sup>1,3</sup>, 杨岗<sup>2</sup>, 黄清春<sup>3</sup>, 胡婉如<sup>1</sup>, 徐鸿华<sup>3</sup>

(1. 仲恺农业技术学院, 广东 广州 510225; 2. 珠海市药品检验所, 广东 珠海 519000;

3. 广州中医药大学 广东 广州 510405)

芦荟为较常用的中药,《中国药典》2000年版一部收载芦荟为百合科植物库拉索芦荟、好望角芦荟,或者其他同属近缘植物叶的汁液浓缩干燥物。芦荟有泻下,抗肿瘤、抗炎,促免疫,抗胃溃疡,促伤口愈合,抗辐射,保肝,降血压,降血糖,抗菌等作用<sup>[1]</sup>。

笔者自2000年开始对库拉索芦荟 *Aloe vera* L. 规范化种植进行研究。其中田间管理技术是规范化种植技术的核心之一,田间管理的重要内容之一是土、肥、水的管理,肥力是重点。施肥与作物产量、品质、生产成本、土壤培肥等农业问题和面源污染等环境问题密切相关。而专用肥料是平衡施肥技术的物化产品,是培肥土壤和促进农业持续增产的重要条件,具有针对性、区域性、专用性强及肥料利用率高、施用方便、功能多等特点。

芦荟的施肥首先要通过符合生态系统(包括周边的农田、农业、农村、城镇和化工工业)物质循环特征的综合分析和诊断,根据作物生长特点,并考虑种植地的供肥能力,施肥种类、方法和数量,包括在不同的生长期的变化。生态平衡施肥的目的是能够提高作物单产、改善品质、相对降低肥料的投入成本,增加收入,减少肥料面源污染,培肥土壤,间接减少化

工污染和不可再生资源的快速消耗。在芦荟种植技术的研究上,上述方面报道甚少。本研究的目的是探索不同的肥料对芦荟生产水平的影响,为合理的生态平衡施肥和芦荟专用肥的研制提供科学依据。

### 1 材料与方法

1.1 实验地土壤肥力概括:芦荟 GAP 种植示范基地位于珠海市金湾区红旗镇八一林场,远离城镇,周边无污染性的化工企业。该地区属沿海一带,地处山区丘陵及冲积平原地带。土壤为花岗岩母质发育而成的赤红壤,风化程度较高,土层厚,质地为沙质壤土。据实验结果,该基地土壤有机质 3.72%,全氮(N)、全磷( $P_2O_5$ )和全钾( $K_2O$ )分别为 1.37、0.96、17.8 g/kg;有效氮(N)、有效磷( $P_2O_5$ )和有效钾( $K_2O$ )分别为 65.2、40.5、241 mg/kg。土壤肥力属于一般水平<sup>[2]</sup>。

1.2 实验材料:一年生库拉索芦荟(珠海市库拉索芦荟综合开发有限公司芦荟 GAP 基地提供)。

1.3 实验设计:见表 1。

根据《中药材生产质量管理规范》(GAP)的第十二条和第十三条要求,选用全国农业技术推广服务中心推荐的九隆生物有机肥(无机-有机-微生物

收稿日期:2004-12-10

基金项目:广东省重点科技攻关计划专题(2KB01201S)

作者简介:蒋林(1963—),男,广西桂平人,博士,副研究员,主要从事中药资源研究和教学工作,现在中山大学药学院博士后流动站做研究工作。 E-mail: linderson\_jiang@163.net