

个引物对40个番薯植物品种扩增出2 071个ISSR片段,其中62.2%的片段为多态性的。本研究也揭示了ISSR标记的多态性。在10个地黄品种中,用10个ISSR引物扩增110条带,多态性比率为71.82%。仅用一个引物ISSR6可以鉴别出本实验所用的10个怀区地黄品种。

总之,ISSR技术是一种鉴定怀地黄种质的有效和实用的工具。它能够检测到较高的多态性。用它所得到的多态带对同物异名、同名异物地黄品种的识别,对地黄生产育种组合亲本的选择;对杜绝生产中假冒伪劣品种造成危害,以及对重要地黄种质的利用都有很大指导意义。

致谢:本研究在华美生物工程公司完成,由河南温县农业科学研究所张宝华所长提供实验材料,得到了华美生物工程公司各级领导和全体员工以及在博士后工作站进行研究的研究生们的大力支持与热情帮助。

References:

- [1] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [J]. *Genomes*, 1994, 20: 176-183.
- [2] Li J B, Jiang L R, Li C H, et al. Comparisons of genetic analysis based on ISSR and SSR in PGMS and TGMS rice lines [J]. *Mol Plant Breed* (分子植物育种), 2003, 1(1): 42-47.
- [3] Qian W, Ge S, Hong D Y, et al. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers [J]. *Acta Bot*

Sin (植物学报), 2000, 42(7): 741-750.

- [4] Yamagishi M, Abe H, Nakano M, et al. PCR-based molecular markers in Asiatic hybrid lily [J]. *Sci Hortic*, 2002, 96: 225-234.
- [5] Sun Y, Li J P, Jin Y C, et al. Identification of south and north *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. and *Schisandra sphenanthera* Rehd et Wils by ISSR marker [J]. *Acta Chin Med Pharmacol* (中医药学报), 2003, 31(1): 29-30.
- [6] Zhou J Y. Study on chromosomes of *Rehmannia glutinosa* [J]. *Shandong Sci* (山东科学), 2002, 15(1): 20-22.
- [7] Wen X S, Zhao H Y, Li X N, et al. Symptom of viruses among different *Rehmannia glutinosa* varieties [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(3): 225-227.
- [8] Wang G L, Fang H J. *Plant Gene Engineering Principles and Methods* (植物基因工程原理与技术) [M]. Beijing: Science Press, 1998.
- [9] Chen J L, Huang L Q, Shao A J, et al. RAPD analysis on different varieties of *Rehmannia glutinosa* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(7): 505-506.
- [10] Zhou Y Q, Jing J Z, Li Z Y, et al. Optimization of ISSR-PCR amplification in Huai *Rehmannia glutinosa* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2004, 24: 6-11.
- [11] Qin Y X, Fu C X, Kong H H. Inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis of different cultivars in *Myrica rubra* [J]. *J Agric Biotech* (农业生物技术学报), 2002, 10(4): 343-346.
- [12] Charters Y M, Robertson A, Wilkinson M J, et al. PCR analysis of oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*) using 5'-anchored simple sequence repeat (SSR) primers [J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 442-447.
- [13] Huang J C, Sun M. Genetic diversity and relationships of sweet potato and its wild relatives in *Jpomoea series* Batatas (Convolvulaceae) as revealed by ISSR and restriction analysis of chloroplast DNA [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 1050-1060.

药用植物青叶胆的组织培养

黄衡宇

(湖南吉首大学生态研究所,湖南 吉首 416000)

摘要:目的 针对青叶胆野生资源受到严重破坏的情况,系统地探讨了通过组织培养为手段进行人工繁殖的方法。方法 以幼茎和老叶为外植体,在MS培养基上添加不同的激素配比,改变培养方式。结果 在所有实验方案中,对叶片来说,较适宜诱导愈伤组织的激素组合是Zt 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L或BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L;对幼茎来说,较适宜的诱导愈伤组织的激素组合则是BA 0.02 mg/L+Kt 0.04 mg/L+IBA 0.05 mg/L;对于芽的增殖,较适宜的激素组合是BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L或BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L;而根的诱导则在MS+Kt 0.01 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L培养基上进行。结论 采用组织培养方式可进行青叶胆的快速繁殖,为确保这一珍稀药用植物资源的保护和可持续利用提供有效途径。

关键词:青叶胆;组织培养;愈伤组织;芽丛

中图分类号:R282.13

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)02-0261-05

Tissue culture of medicinal plant *Swertia mileensis*

HUANG Heng-yu

(Institute of Ecology of Jishou University, Jishou 416000, China)

Abstract: Objective In order to preserve the natural resources of *Swertia mileensis* which has been destroyed seriously, the method of artificial propagation by way of tissue culture has been systematically studied. **Methods** The immature stems and the mature leaves were the best material explants in rapid propagation in all of the experiments. These explants were cultured on MS culture media by adding different portions of hormones at various cultural conditions. **Results** For the leaves, the suitable phytohormone combination to induce callus are Zt 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L or BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L; for the stems, they are BA 0.02 mg/L+Kt 0.04 mg/L+IBA 0.05 mg/L; for the adventitious buds, they are BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L or BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L; and for the roots, they are MS+Kt 0.01 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L. **Conclusion** Tissue culture of *S. mileensis* can make its propagation rapid, its resources preserved, and its utilization last.

Key words: *Swertia mileensis* T. N. Ho et W. L. Shih; tissue culture; callus; adventitious bud

青叶胆 *Swertia mileensis* T. N. Ho et W. L. Shih 为龙胆科獐牙菜属 (*Swertia* L.) 多枝组一年生草本植物, 又名青鱼胆、苦胆草、肝炎草等, 其性寒、味苦, 有清热解毒、利胆健胃的功效, 是我国的一种珍稀药材^[1]。在云南省民间青叶胆被广泛用来治疗急性黄疸型肝炎、肺炎、扁桃体炎及妇科炎症等。然而, 青叶胆由于滥采过度, 加之其生态环境的破坏, 现野生居群已不多见。云南省不少地方曾尝试进行过人工引种栽培, 但由于缺乏有关该种生活史、有性生殖及无性繁殖等方面的资料, 往往以失败告终。为有效保护和利用这一我国特有的类群, 有必要对该类群进行繁殖生物学研究, 特别是通过以组织培养为手段进行人工繁殖的研究, 以期对其保护生物学、引种驯化及育种做出积极、有效的成绩。

1 材料与方法

1.1 材料: 云南省开远市小龙潭镇水淹凹村附近荒坡地 (东经 103°07.705', 北纬 23°45.48' 及附近, 海拔 1470~1530 m) 采集野生植株 (凭证标本: 黄衡宇 179, 存于吉首大学资源与环境科学学院生物系标本室。经云南大学生命科学学院胡志浩教授鉴定), 带土移栽于吉首大学生态研究所试验地, 2 个月, 选取生长健壮、无病虫害个体, 剪取其嫩茎、叶和带芽茎段作为外植体。

1.2 方法: 晴天取 3 种不同的外植体, 按下列程序进行消毒: 取材→自来水粗洗→5% 洗衣粉水溶液漂洗 5 min→自来水冲洗 30 min→75% 乙醇擦洗表面→0.1% 升汞溶液消毒 2 min→2% 次氯酸钠消毒 15 min→无菌水冲洗 4~6 次, 然后在无菌工作台中将外植体切成 0.5~1.0 cm 长的小段接种于诱导培养基上, 将培养出来的愈伤组织切成小块, 接

种于增殖培养基上; 最后将形成不定芽的块段移至生根培养基上, 以培养出完整的小植株。以 7 d 为一周期。记录不同处理的生长状况。

1.3 培养基: 基本培养基为 MS, 附加不同浓度的 2,4-D (2,4-二氯苯氧乙酸)、BA (6-苄基腺嘌呤)、IBA (吲哚丁酸)、IAA (吲哚乙酸)、NAA (萘乙酸)、KT (激动素) 和 Zt (玉米素)。蔗糖 3%, 琼脂 0.6%, 用 0.1 mol/L NaOH 和 0.1 mol/L HCl 调节 pH 值为 5.8~6.0, 在高压灭菌锅中 (121 °C) 灭菌 20 min。

2 结果

2.1 愈伤组织的诱导: 不同外植体对诱导愈伤组织的影响: 嫩茎、叶和带芽茎段 3 种外植体接种于不同激素配比的 MS 培养基上培养 10 d 后幼嫩茎尖切口处开始肿胀并出现愈伤组织; 14 d 后, 带芽茎段切口处肿胀, 但在以后很长时间内并不出现愈伤组织; 22 d 后, 叶片从叶脉周围处肿胀并出现大量愈伤组织。这说明在青叶胆组织培养中外植体的部位对愈伤组织的诱导有很大影响: 叶片诱导愈伤组织的能力最强, 其次是幼嫩茎尖, 最差的是带芽老茎段, 诱导率几乎为零。

不同激素组合对愈伤组织发生的影响: 将青叶胆的成熟叶片剪成小块, 接种在附加不同比例激素的培养基上: I. MS+BA 1.0 mg/L+Kt 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L; II. MS+BA 2.0 mg/L+Kt 0.1 mg/L+IAA 0.1 mg/L; III. MS+BA 0.01 mg/L+Kt 0.05 mg/L+IBA 1.0 mg/L; IV. MS+BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+IBA 0.05 mg/L; V. MS+BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L; VI. MS+Zt 1.0 mg/L+NAA 0.5

mg/L+IBA 0.5 mg/L; VII. MS+Zt 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L; VIII. MS+Zt 0.1 mg/L+NAA 0.05 mg/L+IBA 1.0 mg/L; IX. MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L; X. MS+BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L。接种后置于 22 ℃ 散射光下培养,30 d 后统计愈伤组织诱导率,结果见表 1(污染数除外)。试验结果表明,对于叶片来说,较适宜诱导愈伤组织的激素组合是 BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L 或 Zt 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L。

表 1 不同激素组合对叶片诱导愈伤组织的影响

Table 1 Effect of different phytohormone combination on callus induction for leaves

培养基	培养数	愈伤组织形成数	出愈率/%	生长量
I	86	19	22.09	+
II	77	28	36.36	+
III	85	41	48.24	++
IV	63	52	82.54	+++
V	81	77	95.06	+++
VI	79	60	75.95	++
VII	89	85	95.51	+++
VIII	90	57	63.33	++
IX	45	0	0	-
X	33	0	0	-

+:少量; ++:绿色,质地紧密; +++:大量,表面有白色霜状组织层; -:无

+: a few; ++: grassy and compact; +++: mass, with white frosted tissue layer in surface; -: naught

同时也对幼嫩茎尖诱导愈伤组织的能力进行了试验。与叶片试验类似,将幼嫩茎尖接种在不同比例激素的培养基上: I. MS+BA 1.0 mg/L+Kt 0.1 mg/L+IBA 0.01 mg/L; II. MS+BA 0.05 mg/L+Kt 0.05 mg/L+IBA 0.05 mg/L; III. MS+BA 0.02 mg/L+Kt 0.04 mg/L+IBA 0.05 mg/L; IV. MS+BA 0.1 mg/L+Zt 0.05 mg/L+IBA 0.01 mg/L; V. MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L; VI. MS+BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L。接种后置于 22 ℃ 散射光下培养,30 d 后统计愈伤组织诱导率,结果见表 2(污染数除外)。试验结果表明,幼嫩茎尖也能产生愈伤组织,但效果不如叶片好。多种激素组合试验显示,较适宜诱导愈伤组织的激素组合是 BA 0.02 mg/L+Kt 0.04 mg/L+IBA 0.05 mg/L,但由幼嫩茎诱导的愈伤组织随着培养时间的延长易褐变、衰老,不易作为继代培养的材料。青叶胆愈伤组织的生长情况见图 1-1、2。

此外,带芽老茎段同样也能少量地产生愈伤组织,但生长势小,几乎不分化出丛苗。但它的侧芽却

表 2 不同激素组合对幼嫩茎诱导愈伤组织的影响

Table 2 Effect of different phytohormone combination on callus induction for tender stems

培养基	培养数	愈伤组织形成数	出愈率/%	生长量
I	39	23	58.97	+
II	37	29	78.38	++
III	42	39	92.86	+++
IV	43	35	81.40	++
V	39	11	28.21	++
VI	36	0	0	-

+:少量; ++:长势较旺盛,浅黄色,质地疏松; +++:大量,长势旺盛,淡白色,较紧密; -:无

+: a few; ++: vigorous growth, loose, and pale yellow; +++: mass, with vigorous growth, more compact, and light; -: naught

能够生长,可以以类似“扦插”的方式进行繁殖。

2.2 继代培养:将不同外植体诱导出的愈伤组织转移到继代培养基中培养,发现不同的情况:由叶片诱导的愈伤组织很快就分化出不定芽,且长势旺盛;由带芽茎段生长出来的侧芽进行培养,虽无丛苗,但长势也较旺盛;而由幼嫩茎尖诱导出的愈伤组织在转接后不久便逐渐褐化死亡。将小块愈伤组织接种在以下附加不同激素的培养基上培养, I. MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L; II. MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L; III. MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L; IV. MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L; V. MS+BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L; VI. MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L。接种后置于 22 ℃ 散射光下培养,30 d 后统计不定芽及不定根的诱导率,结果见表 3。试验结果表明,不同激素组合对继代培养的影响也较大。在 BA 低浓度培养基中生长量较小,但不定根分化率较高;在 BA 高浓度培养基中生长量较大,且不定根的分化率较低。最佳的激素组合为 BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 或 BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L,在这两种组合的培养基中,生长量和增殖率均大,而几乎不产生不定根,这十分有利于继代培养(图 1-3、4)。

表 3 不同激素组合对愈伤组织幼苗分化的影响

Table 3 Effect of different phytohormone combination on callus seeding differentiation

培养基	芽丛诱导率/%	不定根诱导率/%
I	67.33	10.56
II	47.53	23.50
III	93.29	0.00
IV	58.94	44.28
V	94.35	6.70
VI	62.87	19.06

2.3 生根:将诱导发生的不定芽接种在以下附加不同激素的培养基上:Ⅰ. MS+BA 0.5 mg/L+IBA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L; Ⅱ. MS+BA 0.1 mg/L+IBA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L; Ⅲ. MS+Kt 0.01 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L; Ⅳ. MS+IBA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L; Ⅴ. MS+NAA 2.0 mg/L.接种后置于 22℃ 散射光下培养,30 d 后统计生长量及不定根的诱导率,结果见表 4(污染数除外)。

表 4 不同激素组合对根系分化的影响

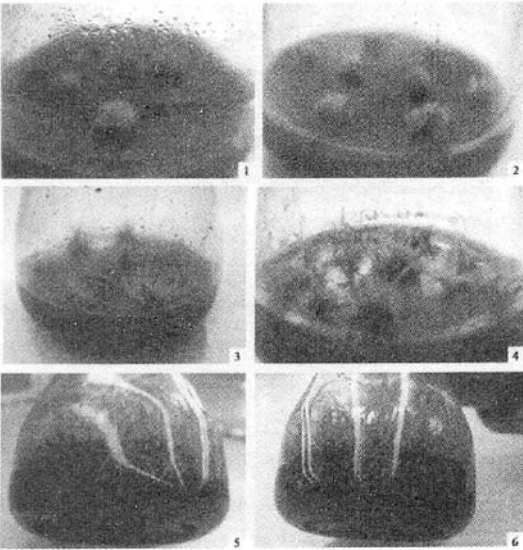
Table 4 Effect of different phytohormone combination on root differentiation

培养基	培养数	根系分化	出愈率/%	生长量
Ⅰ	87	53	60.92	+
Ⅱ	93	22	23.66	+
Ⅲ	81	79	97.53	+++
Ⅳ	74	13	17.57	+
Ⅴ	85	47	55.29	++

+:少量,生长缓慢; ++:较多,生长迅速; +++:大量,生长旺盛

+: a few with slower growth; ++: more with rapid growth; +++: mass, with vigorous growth

从试验结果得到了适宜的生根培养基配方为 MS+Kt 0.01 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L。生根情况见图 1-5、6。



1、2-诱导苗的生长情况 3、4-增殖苗的生长情况 5、6-生根苗的生长情况
1, 2-growth of inducement sprouts 3, 4-growth of proliferous sprouts 5, 6-growth of rooting sprouts

图 1 青叶胆的组织培养

Fig. 1 Tissue culture of *S. mileensis*

2.4 试管苗移栽:当不定芽长够一定量时,将长至 3~4 cm 的丛芽切成单芽转至生根培养基中。25~30 d 后,苗壮根粗时,将瓶盖打开,置于自然光下 24 h,然后取出生根苗,小心洗尽残余培养基后移栽到经 0.1% 甲醛消毒的细河沙中,保温保湿培养 25 d (温度 20~25℃,湿度 70% 左右),再移入沙土中培养,待小苗长出 4~5 片新叶便可移栽至大田。

3 讨论

3.1 组织培养基中通常以茎尖或茎段作为外植体进行愈伤组织的诱导^[2~5],但从青叶胆的培养看,与其同科属近缘种植物川东獐牙菜相似^[6],叶片是最好的诱导材料。不仅材料易得,而且培养效率也较高。

3.2 诱导愈伤组织是植物组织培养中的一个关键。一般来说,愈伤组织的诱导需要较高水平的生长素,其中,2,4-D 和 Zt 是最普遍使用而有效的生长素。本研究结果表明诱导青叶胆愈伤组织,培养基内添加生长素是必要的,而且以使用 2,4-D 和 Zt 的诱导效果较好。从青叶胆不同激素组合的诱导培养基配方中可以看出,Zt 和 2,4-D 在外植体愈伤组织的诱导中是必不可少的,但单独使用效果也不理想。对于叶片来说,较适宜诱导愈伤组织的激素组合是 Zt 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L 或 BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L,对幼茎来说,较适宜的诱导愈伤组织的激素组合则是 BA 0.02 mg/L+Kt 0.04 mg/L+IBA 0.05 mg/L。

3.3 在青叶胆的继代培养中,从结构和生长特点可以将愈伤组织分为两类:一类是由叶片诱导出的愈伤组织,其质地紧密,表面有白色霜状的组织层,易分化出不定芽,是理想的继代材料;另一类是由幼嫩茎尖诱导出的愈伤组织,其结构较致密,生长很慢,不易分化出不定芽,而且随着培养时间的延长易褐变、死亡,不能做为继代培养的材料。此外,与上述两种材料不同,带芽老茎段培养生长出的侧芽在继代中可以采用“扦插”的方式进行培养,繁殖系数也较高,这也与其近缘种川东獐牙菜类似^[6]。继代培养试验表明,适宜的激素组合是 BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 或 BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L。

3.4 对生根培养来说,添加 Kt 比仅用生长素的效果好得多。这表明 Kt 在川东獐牙菜的培养中不仅对愈伤组织的诱导有用,而且对根的分化也起作用,这与许多植物根分化的诱导不同^[7,8],其生理、生化机制还有待于进一步研究。生根培养试验表明:适宜的激素组合是 Kt 0.01 mg/L+IBA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L。

3.5 本研究为青叶胆的无性繁殖提供了一种方法,有助于短期内提供大量的试管苗,通过人工栽培扩大资源,确保青叶胆资源的保持和可持续利用。

References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 62. Beijing: Science Press, 1988.
- [2] Tan W C, Dai C G. *The Tissue Culture Technic of Ornamental* (观赏植物组织培养技术) [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1991.
- [3] White P R. *Handbook of Plant Tissue Culture* [M]. New York: The Ronald Press, 1943.
- [4] van Nieuwkerk J P. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro* [J]. *Hort Sci*, 1986, 21(3): 516-518.
- [5] Yang Z D, Huang S X, Zhou C M, et al. Tissue culture and rapid propagation of medicinal plant *Stemona japonica* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(9): 843-846.
- [6] Huang H Y, Chen Y G. Tissue culture of medicinal plant *Swertia davidi* Franch. [J]. *Guihaia* (广西植物), 2002, 22(5): 433-436.
- [7] Huang H Y, Li L, Yang S H. Tissue culture of *Aloe vera* L. [J]. *J Jishou Univ—Nat Sci* (吉首大学学报·自然科学版), 2002, 21(3): 11-13.
- [8] Huang H Y, Li L, Yang S H. Tissue culture of *Gerbera jamesonii* Bolus [J]. *J Jishou Univ—Nat Sci* (吉首大学学报·自然科学版), 2001, 22(1): 4-6.

长春花叶片中吲哚生物碱增产的研究

张秀省^{1,3}, 张荣涛², 聂莉莉², 郭玉海¹, 翟志席¹

(1. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094; 2. 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 3. 聊城大学农学院, 山东 聊城 252000)

摘要:目的 探讨乙烯利、乙酰水杨酸、色氨酸3种试剂对长春花植株中药用成分积累的影响。方法 用不同质量浓度的3种试剂溶液分别处理温室盆栽长春花植株, 2 d后, 测定叶片中的总吲哚生物碱含量, 并采用RP-HPLC法测定长春碱和长春质碱的含量。结果 3种试剂处理后吲哚总碱、长春碱、长春质碱的积累均有明显的提高, 并确定了最适的处理质量浓度。结论 3种试剂对长春花植物中吲哚生物碱的产生有明显的促进作用。

关键词: 长春花; 长春碱; 乙烯利; 乙酰水杨酸; 色氨酸

中图分类号: R282.13

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)02-0265-03

Enhancing accumulation of indole alkaloids in *Catharanthus roseus* leaves

ZHANG Xiu-sheng^{1,3}, ZHANG Rong-tao², NIE Li-li², GUO Yu-hai¹, ZHAI Zhi-xi

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China; 3. College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng 252000, China)

Abstract: Objective To study the effect of three kinds of reagent: ethrel, Aspirin, tryptophan on the accumulation of medicinal component in *Catharanthus roseus* leaves. **Methods** To treat these potplants of *C. roseus* in green house with the three reagents in different concentrations, respectively. Then, two days later, the contents of catharanthine and vinblastine in leaves were determined by RP-HPLC. **Results** The three reagents can obviously improve the accumulation of indole alkaloids, including catharanthine and vinblastine in *C. roseus* leaves. Their optimum treatment concentration was finally confirmed. **Conclusion** These three kinds of reagent apparently promote the accumulation of total indole alkaloids in the leaves of *C. roseus*.

Key words: *Catharanthus roseus* (L.) G. Don; vinblastine; ethrel; Aspirin; tryptophan

长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 是一种备受人们喜爱的观赏花卉, 也是一种人们熟悉的药材。中医临床可全株入药, 有利尿止血、镇定安神、

平肝降压等功效。20世纪50年代以来, 人们发现长春花的次生代谢产物对急性白血病、恶性淋巴瘤等具有很好的疗效^[1], 从而对其产生了浓厚的兴趣。