

薄荷属植物选种育种研究进展

周 露, 谢文申

(云南农业大学香料研究所, 昆明 650051)

摘 要: 综述了薄荷属植物挥发性成分的主要化学类型及近年来国内外薄荷属植物在选种育种方面的研究进展及发展趋势。希望对促进我国现阶段薄荷属植物的选育种工作有所帮助。

关键词: 薄荷属植物; 选种育种; 薄荷醇; 香芹酮

中图分类号: S567.235

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2012)01-0124-05

Research progress on seed selection and breeding of *Mentha's* plants

ZHOU Lu, XIE Wen-Shen

(Institute of Flavor, Yunnan Agricultural University, Kunming 650051)

Abstract: In this paper, the main chemical types of the volatility components in *Mentha* are summarized, and the research progress and developing tendency on seed selection and breeding of the plants are reviewed.

Key words: *Mentha*; seed selection and breeding; menthol; carvone

唇形科薄荷属 (*Mentha*) 植物为多年生芳香草本植物, 广泛分布于北半球的温带地区。该属植物普遍具有利用价值, 是重要的经济作物, 可以作为香料、药材、蔬菜使用^[1]。

薄荷属中使用的最多的是亚洲薄荷 (*Mentha avensis* L.)、留兰香 (*Mentha spicata* L.)、椒样薄荷 (*Mentha piperita* L.), 用这几种植物原料蒸馏所得到的精油分别称为薄荷油 (mint oil)、留兰香油 (spearmint oil)、椒样薄荷油 (peppermint oil), 是化妆品、香料、药品、烟草、化工等行业的重要原料。薄荷精油是全球香料贸易量最大的品种之一, 薄荷精油中的薄荷醇是一种重要香料, 左旋薄荷醇由于其清凉效果, 大量用于香烟、化妆品、牙膏、口香糖、食品和药物中 (薄荷醇可促进药物的透皮吸收)^[2-3]。薄荷油中薄荷醇含量越高越容易分离, 所以筛选薄荷醇含量高、精油产量高的薄荷品种意义重大, 这方面研究成果较多, 如薄荷种植大国印度、中国在这方面也做了大量工作^[4]。近年来由于生物技术的发展迅猛, 将生物技术手段用于选育种是薄荷属植物品种选育的新发展方向, 本文介绍了国际上薄荷属植物在品种选育方面的研究进展。

1 薄荷属植物的种类

1.1 薄荷属植物的植物形态分类

薄荷种间杂交严重, 确切数目难以认定, 全球的栽培品种约有 25 个种, 在中国薄荷属植物普遍认为有 12 个种^[1,5], 见图表 1。《中国植物志》将我国薄荷属植物按照形态学系统分类划分为薄荷组和唇萼薄荷组。薄荷组下划分为薄荷亚组、头序薄荷亚组和穗序薄荷亚组。

1.2 薄荷属植物的化学分类

依据单萜类成分可将本属植物分为香芹酮组、薄荷酮组和混杂组 3 组化学类型^[6-7]; 香芹酮组以 C-2 位氧化的对薄荷烷系类型为主, 化学成分主要有香芹酮、二氢香芹酮等, 这组植物主要有留兰香、皱叶留兰香、圆叶留兰香等。薄荷酮组以 C-3 位氧化的对薄荷烷系类型为主, 化学成分主要有薄荷醇、薄荷酮、胡薄荷酮等, 这组植物主要有亚洲薄荷、椒样薄荷、东北薄荷、胡薄荷等。混杂组主要成分含芳樟醇、乙酸芳樟醇、胡椒酮、氧化胡椒酮、环氧胡椒烯酮、环氧辣薄荷烯酮等, 除了以上两种化学类型, 薄荷属其余化学类型都可归于这一组。混

收稿日期: 2011-05-27

基金项目: 云南省面上基金 (2009ZC077M) 资助。

作者简介: 周 露, 女, 副研究员。E-mail: lukunkm@163.com

杂组的薄荷属植物主要以野生薄荷为主,在我国分布在新疆、黑龙江、吉林、云南、贵州、四川等地^[6-11]。近年来上海交通大学从国外引种了几个薄荷品种,如薰衣草薄荷(*Mentha piperita* cv.*lavandula*)、菠萝薄荷(*Mentha Suaveolens* cv.*variegata*)、黑胡椒薄荷(*Mentha piperita* f.*rubescens*)、苹果薄荷(*Mentha*

suaveolens)、葡萄柚薄荷(*Mentha suaveolens* ×*Piperita*)、巧克力薄荷(*Mentha piperita* L.cv.*chocolate*)、柠檬辣薄荷(*Mentha piperita* var.*citrata*)。其中一些较特别的化学成分,如薰衣草薄荷主要含芳樟醇、乙酸芳樟醇,菠萝薄荷主要含氧化胡椒烯酮等^[12-13]。

表 1 我国部分薄荷属植物品种名称
Table 1 Some species of *Mentha* plant in China

拉丁名 Latin name	中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	中文名 Chinese name
<i>Mentha piperita</i> L.	椒样薄荷	<i>Mentha citrata</i> Ehrh.	柠檬薄荷
<i>Mentha avensis</i> L.	亚洲薄荷	<i>Mentha crispata</i> Schrad.ex Willd.	皱叶留兰香
<i>Mentha spicata</i> L.	留兰香	<i>Mentha dahurica</i> Fisch.ex Benth.	兴安薄荷
<i>Mentha cardiaca</i> L.	苏格兰留兰香	<i>Mentha longifolia</i> L Huds.	欧薄荷
<i>Mentha asiatica</i> B.	假薄荷	<i>Mentha pulegium</i> L.	唇萼薄荷
<i>Mentha rotundifolia</i> L.Huds.	圆叶薄荷	<i>Mentha sachalinensis</i> (Briq.) Kudo	东北薄荷
<i>Mentha vagans</i> Boriss.	灰薄荷	<i>Mentha fistulosa</i> L.	拟美国薄荷
<i>Mentha didyma</i> L.	美国薄荷		

2 组织培养手段在薄荷属植物选育种中的应用

2.1 利用组织培养方法提纯复壮薄荷苗

薄荷属植物属于异花授粉,自花不育作物,极易因昆虫授粉导致不同品种间的薄荷混杂。用薄荷茎尖分生组织培养的方法能够脱毒、减少植物病害。精选薄荷优质植株作材料进行无性繁殖可保证后代单纯,防止品种退化^[13-16]。

2.2 在培养基中加入植物生长激素类化学物质,促进薄荷生长、诱导薄荷组织产生变异

在亚洲薄荷(*Mentha avensis* L.)、椒样薄荷(*Mentha piperita* cv *Black Mitcham*)组织培养基质中加入 2IP、2,4-D、NAA、IBA、IAA 和 TDZ 等植物生长激素成分能促进植物根系生长,诱导植物产生一定变异^[16-20]。

2.3 在培养基中加入化学物质促进薄荷属植物中的主要成分含量增加

在椒样薄荷(*Mentha piperita* L.)细胞培养基中加生物和非生物诱导子:农杆菌(Ach5)、 γ -环糊精、RP-8 等能促进细胞中薄荷醇的含量,试验将纤维、蛋白、酵母菌提取物、真菌提取物加入培养基中诱导薄荷细胞产生次生代谢产物,其中真菌提取物能较明显提高薄荷细胞中薄荷醇的含量^[21-23]。真菌提取物农杆菌(Ach5)的作用主要是通过促进薄荷酮转化为薄荷醇^[21]。

脱乙酰壳聚糖能够促进植物细胞的次生代谢生

长,在椒样薄荷的细胞培养基中加入脱乙酰壳聚糖可以明显提高薄荷醇的含量。试验数据表明脱乙酰壳聚糖主要是通过抑制细胞中薄荷酮的产生,从而达到提高薄荷中薄荷酮及薄荷醇的含量的目的。可以推测薄荷酮是薄荷醇生物合成途径的障碍,减少薄荷酮有利于薄荷醇的生物合成^[24]。

单萜类化合物具有一定细胞毒性,单萜类化合物作用于植物细胞线粒体、高尔基体而抑制植物的呼吸及生物合成^[25-28]。经研究发现在薄荷组织培养基中加入单萜类化合物,可增加薄荷醇的含量,细胞毒性化合物是通过反馈抑制增加薄荷醇在细胞中的累积^[28,30-31]。

在培养基中加入单萜类化合物,薄荷组培苗会萎焉现象,能存活的薄荷植株一般薄荷醇含量较高,薄荷醇含量与其对细胞毒性化合物的耐受性具有正相关性^[31-32]。通过该方法能筛选到薄荷醇含量高的植株扩繁以后可用来生产薄荷精油。

3 杂交技术在薄荷选种育种中的应用

3.1 用传统杂交方法获得新品种

薄荷属植物属异花授粉,可利用不同薄荷属植物的花粉进行人工授粉,产生新的薄荷品种,但该方法获得的品种性状不稳定,会恢复亲本的性状。传统杂交方法主要用于检验控制薄荷某一性状的基因是显性或是隐性^[33-34]。

3.2 体细胞杂交在薄荷属植物选育种中的应用

体细胞杂交是目前用的较多的育种手段,体细

胞杂交可以克服远源杂交不亲和的障碍,大大扩展用于杂交亲本的组合范围。体细胞杂交目前已做到可以在植物的不同科属间杂交出新品种,如番茄土豆等,同时也可用体细胞杂交培养新的抗病植物品种^[15,35-36]。Krasnyankid 等用椒样薄荷(主要含薄荷酮、薄荷醇)和留兰香(主要含香芹酮)体细胞杂交技术成功培育出新的薄荷品种,这种薄荷的精油中主要含香芹酮(50%~64%),与留兰香成分基本相同。杂交品种薄荷植物的形态有改变,介于两个母本之间^[37-39]。国内从日本、加拿大引种的薰衣草薄荷、黑胡椒薄荷、苹果薄荷、菠萝薄荷估计也是通过体细胞杂交的薄荷新品种^[12-13]。

4 转基因技术应用在薄荷属植物中的应用

威胁薄荷属植物生长有三大因素;杂草、病害、虫害,其中杂草是排第一位的。杂草会影响薄荷的正常生长,会影响薄荷油的质量、降低薄荷的得油率^[40-41],杂草也是病虫害滋生繁殖的场所。美国的薄荷种植地大量使用新型除草剂草胺膦(glufosinate),除草剂的大量使用对薄荷也有危害,抗除草剂的基因草胺膦乙酰转移酶(phosphinothricin acetyl transferase)在几种微生物中被发现,这种基因可将降低草胺膦对植物的毒性,抗除草剂基因转到椒样薄荷(*Mentha × piperita* L. var. Black Mitcham)、椒样薄荷被发现具有抗除草剂的毒性^[41-42]。

谷胱甘肽可以螯合重金属,谷胱甘肽合成酶

(Glutamine synthetase)基因通过大肠杆菌转到亚洲薄荷(*Mentha avensis* L.),该亚洲薄荷被发现对重金属具有一定耐受性^[43]。

薄荷属植物在生长过程中较容易感染黄萎病(由轮枝菌引起),病害从距离根部较近的叶片开始逐渐向上方叶片传染,感染黄萎病的薄荷叶片由绿转黄,叶片上出现菌斑,进一步感染后叶片蜷曲、变棕黑色,直至枯萎。黄萎病对薄荷种植业影响相当大,这种病害传播非常迅速,只能将感染病害片区的薄荷从根部以上全部割掉并喷药,待植株重新生长。黄萎病病害在番茄、烟草、水稻、棉花等植物中也经常发生,抗黄萎病基因转到这些经济作物中的技术也较成熟^[44-48]。从薄荷或其它植物中分离的抗黄萎病 R 基因转到亚洲薄荷(*Mentha avensis* L.)中已获成功^[49]。

薄荷醇在薄荷植物中生物合成路径的已全部掌握(见图1),影响薄荷醇合成的几个关键酶的基因图谱已经掌握,在 GENE BANK 上有登记^[50-54]。柠檬烯是薄荷油中几个主要成分薄荷酮、薄荷醇、胡薄荷酮、薄荷呋喃等生物合成的前体化合物,将柠檬烯合成酶基因转到美国椒样薄荷(*Mentha piperita* cv Black Mitcham)、亚洲薄荷(*Mentha avensis* L.)中,检测薄荷油中主要成分含量,柠檬烯、桉树脑的含量明显降低,薄荷酮含量明显增加,薄荷醇反而减少^[55-57]。

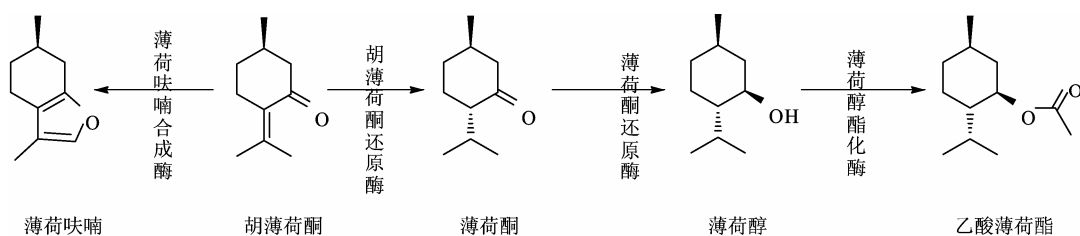


图 1 薄荷醇生物合成路径

Figure 1 The pathway of menthol biosynthesis

5 野生薄荷属植物中筛选优势品种

就我国而言野生薄荷属植物资源丰富,大量分布于中国的西南、西北地区如云南的楚雄药薄荷(*Mentha canadensis*)含环氧辣薄荷烯酮、柠檬烯、别罗勒烯等成分,香气特殊,具有一定药用价值^[10]。

皱叶留兰香(*Mentha crispata*)在云南分布广泛,精油中富含香芹酮(一般含量都在50%~60%间),香气极佳,当地用作蔬菜、调料食用,非常适合在

云南栽种。皱叶留兰香完全可以作为香料新品种加以开发利用^[10]。

云南很多地方分布有野生亚洲薄荷,从野生亚洲薄荷中筛选薄荷醇含量高、精油得率高、香气质量好的品种正是我们研究组正在进行的工作。作者在云南陇川县发现的野生薄荷中薄荷醇含量在60%左右,香气较从江苏引种的亚洲薄荷柔和,主要原因是云南陇川的亚洲薄荷含较高薄荷乙酯成分^[58]。对引种江苏的亚洲薄荷和云南本地野生亚洲薄荷进

行小规模试种,发现云南本地野生薄荷的生长较江苏引种的快,对环境适应性较强,最关键的一点是不容易感染黄萎病等病害。

在新疆乌苏地区发现的薄荷(*Mentha avensis* L.)含芳樟醇,芳樟醇大多出现在樟科、芸香科、木兰科等木本植物中,草本植物中并不多见,该品种可以作为香料开发利用^[7]。野生品种薄荷与人工培养薄荷杂交是否有优势没有看到这方面的报道。

6 结语

薄荷属植物作为全球重要的经济植物其选种育种工作一直以来受到各国科研工作者的重视。印度是薄荷精油的出口大国,用传统方法培育、筛选富含薄荷醇的薄荷工作中做了大量工作,研究工作比较成熟。美国华盛顿州立大学生物中心的研究人员已摸清了薄荷醇生物合成的路径,完成了生成薄荷醇的几个主要关键酶的基因检测工作,美国最早将生物工程手段应用于薄荷属品种培养,并取得了较多成果。中国曾经是薄荷油、留兰香油主要的出口大国,产品的主产地原先是在江苏和安徽一带,现在这些地区产业转型,农业种植用地逐年减少,加之当地劳动力成本较高,种植薄荷已经不是农民很好的选择,目前江苏、安徽只是少量种植薄荷。薄荷种植业有从内地向边远地区扩散的趋势,近年来新疆种植了一定规模的留兰香,但也不能满足国内对留兰香油的需求,中国已由薄荷油、留兰香油出口国转为进口国。由于薄荷种植面积大幅减少,我国的薄荷属植物新品种培育研究工作有所停顿,近年来较少有培育薄荷属新品种的论文发表。

人类已有几百年种植薄荷属植物的历史。由于人类生活活动范围不断扩张,生态环境的日趋恶化,目前野生薄荷属植物在逐渐减少;当然随着人类科技水平的不断提高,薄荷属栽培品种、人工选育品种在不断的增加,依靠先进的生物技术手段可以做到在不同的科属植物之间品种杂交或基因片段替换来获得新品种,这些品种的性状、化学成分与母本相比有较大的改变。生物技术手段获得的薄荷新品种,其后代容易退化、变异,对人类的生态环境是否有侵害现在还没有定论。而野生薄荷属植物中有不少含特殊化学成分的品种有开发、保护的价值,如云南楚雄的药薄荷、云南的皱叶留兰香、新疆乌苏地区的薄荷(富含芳樟醇)等品种。云南、新疆有种植天然香料的条件,这几个品种本身就生长在本地,比较适应当地的环境气候条件,从野生薄荷属植物筛选挖掘有价值的品种加以培养是薄荷选育

种中较为简便可行的方法。

参考文献:

- [1] 中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1972, 66: 260.
- [2] 《天然香料手册》编委会. 天然香料手册[M]. 北京: 轻工业出版社, 1989.
- [3] 10-11 月份薄荷产品行情[J]. 国内外香化信息, 2008(11): 10.
- [4] 黄土诚. 印度薄荷属(*Mentha*)植物的选育种成果[J]. 香料香精化妆品, 1995(2): 35-37.
- [5] 戴克敏. 国产薄荷属的栽培种类初步研究[J]. 药学学报, 1981, 16(11): 849-858.
- [6] 剑桂新. 薄荷属植物化学分类学研究及其意义[J]. 中草药, 1991, 22(11): 519-525.
- [7] 剑桂新, 周荣汉. 国产野生薄荷挥发油化学组分变异及其化学型[J]. 植物资源与环境, 1998, 7(3): 13-18.
- [8] 剑桂新, 周荣汉. 亚洲薄荷的两个化学型[J]. 植物资源与环境, 1994, 3(3): 58-59.
- [9] 刘金荣, 李萍, 李毓倩. 三种野生薄荷挥发油化学成分的测定[J]. 石河子医学院学报, 1995, 17(1): 16-17.
- [10] 李祖强, 李庆春, 罗蕾, 等. 滇产薄荷的化学研究[J]. 云南植物研究, 1996, 18(1): 115-12.
- [11] 丁德生, 孙汉董. 野薄荷精油中驱避有效成分结构鉴定[J]. 植物学报, 1983, 25(1): 62.
- [12] 叶荣兰, 姚雷, 徐勇, 等. 四种薄荷植物学性状和精油成分的比较[J]. 上海交通大学学报, 2006, 24(5): 435-440.
- [13] 姚雷, 吴亚妮, 乐云辰. 薄荷种间遗传关系分析与植物性状和精油成分差异[C]//中国香料香精化妆品工业协会. 第七届中国香料香精学术研讨会论文集. 北京, 2008.
- [14] 薛启汉, 陈游, 姜晓红, 等. 薄荷离体培养、无性系变异与经济性状改良的初步研究[J]. 江苏农业学报, 1998, 14(3): 179-182.
- [15] 陈英. 植物体细胞无性系变异与育种[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1991: 1-10.
- [16] 汪茂斌, 马宗新, 赵红, 等. 薄荷品种的提纯途径及程序[J]. 安徽农业科学, 2000, 28(2): 235-236.
- [17] Rech E L, Pires M J P. Tissue culture propagation of *Mentha* sps. by the use of axillary buds[J]. Plant Cell Reports, 1986, 5: 17-18.
- [18] Shasany A K, Khanuja S P S, Dhawan S, et al. High regenerative nature of *Mentha arvensis* internodes [J]. Bio-sci, 1998, 23: 641-646.
- [19] 乔传卓. 药用植物人工诱变育种的研究概况[J]. 国外医学: 药学分册, 1981, 8(3): 139.
- [20] Faure O, Diemer F, Moja S, et al. Mannitol and thidiazuron improve *in vitro* shoot regeneration from spearmint and peppermint leaf disks[J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 1998, 52: 209-212.
- [21] Amrita C, Sharmila C. Stimulation of menthol production in *Menha piperita* cell culture[J]. Biol Plant, 2007: 11-15.
- [22] Kim T, Kim T Y, Bae G W, et al. Improved production of essential oils by two phase culture of *Mentha piperita* cells[J]. Plant Tissue Cult Lett, 1996, 13: 189-1923.
- [23] Asada M, Shuler M L. Stimulation of a jmalicine production and excretion from *Catharanthus roseus*: effects of adsorption *in situ*, elicitors and alginate immobilization[J]. Appl Microbiol, 1998, 30: 475-481.
- [24] Jun H C, Joong H S, Chung I S, et al. Improved menthol production from chitosan-elicited suspension culture of

- Mentha piperita*[J]. Biotechnology Lett, 1998, 20(12): 1097-1099.
- [25] Payne G, Bringi, V. Questions and strategies for productivity improvements[M]//Payne G, Bringi V, Prince C, et al. Plant cell and tissue culture in liquid systems. Hanser Publishers, New York, 1991: 329-335.
- [26] Brown J T, Charlwood B V. Differentiation and monoterpene biosynthesis in plant cell cultures[M]//Morris P, Scragg A, Stafford A, et al. Secondary metabolism in plant cell cultures. Cambridge University Press, Cambridge, 1986.
- [27] Gordon W P, Huitric A C, Seth C L, et al. The metabolism of the abortifacient terpene, (R)-(+)-pulegone, to a proximate toxin, menthofuran [J]. Drug Metab Dispos, 1987, 15: 589-594.
- [28] Brown J T, Hegarty P K, Charlwood B V. The toxicity of monoterpenes to plant cell cultures[J]. Plant Sci, 1987, 48: 195-201.
- [29] Shasany A K, Khanuja S P S, Dhawan S, et al. Positive Patent: 5, 489, 745. Correlation between menthol content and *in vitro* menthol tolerance in *Mentha arvensis* L. cultivars[J]. J Biosci., 2000, 25: 263-266.
- [30] Linus G, Berenbaum M R, Evan H, et al. Autotoxic effects of essential oils on photosynthesis in parsley, parsnip, and rough lemon[J]. Chemoecology, 2005, 15: 115-119.
- [31] Khanuja S P S, Kumar S, Shasany A K, et al. A menthol tolerant variety 'Saksham' of *Mentha arvensis* yielding high menthol [J]. J Med Aromat Plant Sci, 2001 23: 314-320.
- [32] Shasany A K, Khanuja S P S, Dhawan S, et al. Positive correlation between menthol content and *in vitro* menthol tolerance in *Mentha arvensis* L. cultivars[J]. J Biosci, 2000, 25: 263-266.
- [33] Tucker A O, Hendriks H, Bos R, et al. The origin of *Mentha × gracilis* (Lamiaceae). Essential oils[J]. Eco Bot, 1991, 45(2): 200-215.
- [34] Murray M J, Lincoln D E, Marble P M. Oil composition of *Mentha aquatica* X *Mentha spicata* F1 hybrids in relation to the origin of *M. Piperita* [J]. Can J Genet Cytol, 1972, 14: 13-29.
- [35] Secor G A, Taylor R J, Bidney D L, et al. Method for *in vitro* selection of potato clones resistant to blackspot bruising and the potatoes produced therefrom [P]. United States Patent, 2000, 6: 133-136.
- [36] Larkin P J, Scowcroft W R. Somaclonal variation a novel source of variability from cell culture for plant improvement [J]. Theor Appl Genet, 1981, 60: 197-214.
- [37] Khanuja S P S, Shasany A K, Dhawan S, et al. Rapid procedure for isolating somaclones of altered genotypes in *Mentha arvensis*[J]. J Med Aromat Plant Sci, 1998, 20: 359-361.
- [38] Krasnyanski S, Ball T M, Sink K C. Somatic hybridization in mint: identification and characterization of *Mentha piperita*(+)*M. spicata* hybrid plant[J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 683-687.
- [39] Kukreja A K, Dhawan O P, Mathur A K, et al. Screening and evaluation of agronomically useful somaclonal variations in Japanese mint (*Mentha arvensis* L.)[J]. Euphytica, 1991, 53: 183-191.
- [40] Paola V, Xia L, Xiaomu N, et al. Bioengineering mint crop improvement[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Cult, 2001, 64: 133-144.
- [41] Xia L, Zhizhong G, Hisashi K, et al. *Bar*-expressing peppermint (*Mentha × Piperita* L. var. Black Mitcham) plants are highly resistant to the glufosinate herbicide Liberty[J]. Mol Breeding, 2001, 8: 109-118.
- [42] Niu X, Lin P, Hasegawa M, et al. Transgenic peppermint (*Mentha × piperita* L.) plants obtained by cocultivation with *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Plant Cell Rep, 1998, 17: 165-171.
- [43] Kumar A, Chakraborty A, Ghanta S, et al. *Agrobacterium* mediated genetic transformation of mint with *E. coli* glutathione synthetase gene[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2009, 96: 117-126.
- [44] Subbarao K V, Chassot A, Gordon T R. Genetic relationships and cross pathogenicities of *Verticillium dahliae* isolates from cauliflower and other crops [J]. Phytopathol, 1995, 85(10): 1105-1112.
- [45] Broglie K, Chet I, Holliday M, et al. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*[J]. Science, 1991, 254: 1194-1197.
- [46] Narasimhulu S B, Deng X B, Sarria R, et al. Early transcription of *Agrobacterium* T-DNA genes in tobacco and maize[J]. The Plant Cell, 1996, 8: 873-886.
- [47] Nachmias A, Orenstein J, Tal M, et al. Reaction to *Verticillium dahliae* phytotoxin in tissue cultures derived from susceptible and tolerant potato[J]. Plant Sci, 1990, 68: 123-130.
- [48] Shah D M. Genetic engineering for fungal and bacterial diseases [J]. Current Opinion Biotechnol, 1997, 8: 208-214.
- [49] Crute I R, Pink A C D. Genetics and utilization of pathogen resistance in plants [J]. The Plant Cell, 1996, 8: 1747-1755.
- [50] Croteau R B, Davis E M, Ringer K L, et al. (-)-Menthol biosynthesis and molecular genetics [J]. Naturwissenschaften, 2005, 92: 562-577.
- [51] Ringer K L, McConkey M E, Davis E M, et al. Monoterpene double-bond reductases of the (-)-menthol biosynthetic pathway: isolation and characterization of cDNAs encoding (-)-isopiperitenone reductase and (+)-pulegone reductase of peppermint[J]. Arch Biochem Biophys, 2003, 418: 80-92.
- [52] Ringer K L, Davis E M, Croteau R. Monoterpene metabolism: cloning, expression and characterization of (-)-isopiperitenol/(-)-carveol dehydrogenase from peppermint and spearmint[J]. Plant Physiol, 2005, 137: 863-872.
- [53] Mahmoud S S, Croteau R. Menthofuran regulates essential oil biosynthesis in peppermint by controlling a downstream monoterpene reductase[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 14481-14486.
- [54] McConkey M, Gershenzon J, Croteau R. Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint (*Mentha × piperita* L.)[J]. Plant Physiol, 2000, 122: 215-223.
- [55] Krasnyanski S, May R A, Loskutov A, et al. Transformation of the limonene synthase gene into peppermint (*Mentha piperita* L.) and preliminary studies on the essential oil profiles of single transgenic plants [J]. Theor Appl Genet, 1999, 99: 676-682.
- [56] Diemer F, Caissard J C, Moja S, et al. Altered monoterpene composition in transgenic mint following the introduction of 4S-limonene synthase[J]. Plant Physiol Biochem, 2001, 39: 603-614.
- [57] Diemer F, Caissard J C, Moja S, et al. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Mentha spicata* and *Mentha arvensis*[J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 1999, 57: 75-78.
- [58] 周露, 谢文申. 云南薄荷精油的化学成分及其抗菌活性研究[J]. 香料香精化妆品, 2011(5): 1-3.