

杜尚广,余波. 互叶白千层优株筛选及丛生芽诱导培养[J]. 江苏农业科学,2019,47(1):44-47.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.01.010

互叶白千层优株筛选及丛生芽诱导培养

杜尚广,余波

(南昌师范学院,江西南昌 330032)

摘要:本研究以 3 种互叶白千层枝叶为试验材料,采用同时蒸馏法提取精油,通过气相色谱-质谱(GC-MS)联用分析鉴定其化学成分。在此基础上,采用正交试验对优株诱导培养基的激素种类和浓度进行优化。结果发现,互叶白千层品种 2 精油中松油醇-4 含量为 42.9%,1,8-桉树油素含量为 11.24%,较佳的丛生芽诱导培养基为 MS + 0.05 mg/L NAA + 0.15 mg/L 6-BA + 0.05% 活性炭 + 0.07 mmol/L 硝酸镧,pH 值 5.8,该条件下的诱导率是 96.4%。结果表明,互叶白千层品种 2 是高精油优良株系,精油成分符合国际标准(ISO4730—1996),上述丛生芽诱导培养基为最佳诱导培养基。

关键词:互叶白千层;优株筛选;茶树油;成分分析;丛生芽诱导

中图分类号:S722.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)01-0044-04

互叶白千层 (*Melaleuca alternifolia*) 属于桃金娘科 (Myrtaceae) 白千层属 (*Melaleuca*) 常绿小乔木,原产于澳洲北部沿海地带,现已被大量引种到部分热带和亚热带的国家和地区^[1]。互叶白千层耐干旱贫乏及渍水地,适合种植在气温不低、无霜期长的地区,20 世纪 80 年代引种到我国,现主要分布在广东、广西和云南等地^[2]。互叶白千层的新鲜枝叶和树干提取的精油俗称茶树油,茶树油散发出宜人的肉豆蔻香气,能够有效、无刺激地杀死人身体皮肤表层的真菌和细

菌^[3-6],并对一些病毒具有抑制作用^[7-9],因而广泛应用于医药用品、食品防腐、护肤品、香料产业和农业药品等领域^[10-13]。互叶白千层花色洁白聚生,树型整齐,气味芳香,是创建保健园林绿化树种的首选,且其能够耐湿生、抗水淹,可以固定河床^[14]。所以,种植互叶白千层具有很大的生态和经济效益。

互叶白千层可分为 3 种类型,松油醇-4 型,桉叶油素型和混合型,现在能被广为利用的是松油醇-4 型^[15]。而我国引进的树种良莠不齐,所提取的茶树油大部分不符合国际标准,给茶树油的生产和贸易带来了许多问题。目前,国内并没有学者对互叶白千层系统地进行优良精油株系筛选。所以,有必要进行优株的筛选。互叶白千层种子多败育,发芽率仅 10% 左右,且后代易产生变异^[16]。扦插生根率虽高,但成活率较低^[17-18]。而通过快速繁殖技术获得的组培苗由于具有产量高,易于生产管理,且能保持原有品种的优良性状等优点,有望成为互叶白千层产业化育苗的主要繁殖手段。目

收稿日期:2017-08-24

基金项目:江西省科技支撑计划(编号:2015ZBBE50020);江西省南昌市科技支撑计划(编号:2014HZCC021);江西省教育厅科技重点项目(编号:GJJ181070)。

作者简介:杜尚广(1987—),男,安徽宿州人,博士,助教,主要研究方向为植物资源开发与利用。E-mail:duguangss@foxmail.com。

通信作者:余波,教授,主要研究方向为植物资源开发与利用。E-mail:yubojsxie@163.com。

生理学报,2012,48(12):1167-1172.

[18]胡博,肖素妮,吕滢,等. 不同花生品种响应于早胁迫后叶片内 ABA 与 AhNCED1 的分布[J]. 中国细胞生物学学报,2012,34(10):992-997.

[19]牛志强,刘国顺,师婷婷,等. 烟草 *NCED3* 基因的克隆及其干旱胁迫表达分析[J]. 中国烟草学报,2015,21(3):100-106.

[20]徐学中,汪婷,万旺,等. 水稻 ABA 生物合成基因 *OsNCED3* 响应干旱胁迫[J]. 作物学报,2018,44(1):24-31.

[21]Davies W J,Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil[J]. *Physiol Plant Mol Biol*,1991,42(1):55-76.

[22]And P C,Robertson M. Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance[J]. *Physiol Plant Mol Biol*,1994,45(1):113-141.

[23]Neill S J,Desikan R,Clarke A, et al. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells[J]. *Plant Physiology*,2002,128(1):13-16.

[24]刘新,张蜀秋,姜成后. 茉莉酸信号转导及其与脱落酸信号转

导的关系[J]. *植物生理学通讯*,2002,38(3):285-288.

[25]Turner J G,Ellis C,Devoto A. The jasmonate signal pathway[J]. *Plant Cell*,2002,14(1):S153-S164.

[26]陶宗姬,邹琦,彭涛,等. 水杨酸在小麦幼苗渗透胁迫中的作用[J]. *西北植物学报*,1999,19(2):296-302.

[27]坎平,王莎莎,马文广,等. 赤霉素诱导同时提高烟草种子及幼苗抗旱性和抗冷性[J]. *种子*,2014,33(2):30-34,38.

[28]Cominelli E,Sala T,Calvi D, et al. Over-expression of the *Arabidopsis AtMYB41* gene alters cell expansion and leaf surface permeability[J]. *The Plant Journal*,2008,53(1):53-64.

[29]Qin X Q,Zeevaert J A. The 9-cis-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,1999,96(26):15354-15361.

[30]Burbidge A,Grieve T M,Jackson A, et al. Characterization of the ABA-deficient tomato mutant *notabilis* and its relationship with maize *Vp14*[J]. *The Plant Journal*,1999,17(4):427-431.

前,互叶白千层组培快速繁殖技术不成熟,丛生芽诱导率普遍较低。

为筛选获得互叶白千层高精油产量优株,并解决制约优株丛生芽诱导的瓶颈问题,本课题收集 3 种不同来源的互叶白千层株系,采用同时蒸馏法和气相色谱-质谱联用技术,提取并分析精油成分,对照国际标准,选取得油率高、品质好的优株,再以该株系为试验材料,采用正交试验筛选出丛生芽诱导培养基,为培育出大量高品质种苗奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

互叶白千层:温室栽培植株,株高 20 cm,由江西抚州市森源生物科技有限公司和福建省永安市黄泥家有限责任公司提供。前者提供的材料称为品种 1,后者提供的材料有 2 个品种,分别称为品种 2 和品种 3。试验所用试剂均为国产分析纯。

1.2 仪 器

ZY100 型同时蒸馏萃取仪,上海银泽仪器设备有限公司; ZT-50L 型旋转蒸发仪,郑州长盛实验仪器有限公司; QP5050A 型气相色谱-质谱联用仪,日本岛津公司; LMQC 型立式灭菌锅,山东新华医疗器械股份有限公司; SW-CJ-2FD 净化工作台,上海博迅实业有限公司; JY3002 电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司; 艾柯 DZG-303A 超纯水仪,成都唐氏康宁科技发展有限公司; RDX 型智能人工气候箱,宁波东南仪器有限公司。

1.3 试 验 方 法

1.3.1 精油提取和理化常数测定 随机采取互叶白千层带叶的嫩枝,用自来水冲洗干净,随即阴干,剪碎至 50~60 mm 并封袋冷藏备用。将 100 g 剪碎的互叶白千层枝叶放入同时蒸馏仪一端的圆底烧瓶(1 000 mL)中,加入约 800 mL 蒸馏水,使用电炉加热;装置的另一端加入 80 mL 乙醚作为萃取剂,在水浴锅上加热,水浴温度为 34.5 ℃。蒸馏萃取的时间为 4 h。蒸馏萃取完成后,用旋转蒸发仪除去混合液中的乙醚,温度设定为 30 ℃,最后加入 60 g 无水硫酸钠,干燥备用。试验重复 4 次,取平均值。相对密度依据 GB/T 11540—2008《香料 相对密度的测定》测定;折光指数依据 GB/T 14454.4—2008《香料 折光指数的测定》测定;旋光度依据 GB/T 14454.5—2008《香料 旋光度的测定》测定;乙醇中溶解(混)度依据 GB/T 14455.3—2008《香料 乙醇中溶解(混)度的评估》测定。

1.3.2 气相色谱-质谱工作参数 (1)色谱柱:柱箱采用程序升温,起始温度为 60 ℃,保持 2 min,之后以 8 ℃/min 升至 250 ℃,保持 5 min。进样口温度为 250 ℃,以 He 为载气,其

流速为 0.4 mL/min,压力为 56.7 kPa,流出物分流比为 20:1。(2)质谱条件:质谱电离方式为 EI,接口温度为 280 ℃,电子能量为 70 eV,四级杆温度为 150 ℃,离子源温度为 230 ℃,溶剂延迟 3 min。质谱质量扫描范围为 33~400 amu,电子倍增器电压为 1 941.2 V。利用检索谱库(NIST14.L)对样品进行定性分析,并采用峰面积归一化法对各样品成分进行定量分析。精油检测单位是南昌大学分析检测中心,每个样品检测量为 1 μL。

1.3.3 外植体的表面灭菌及预处理 在温室大棚中栽培互叶白千层小苗,水肥管理 40 d 后,在株高 20 cm 处去除顶部。然后继续培养 45 d,取靠近顶部未木质化的新鲜嫩枝,去除嫩枝上的叶片,将其置于适量浓度洗衣粉溶液中,振荡摇匀 25 min,用自来水持续清洗 1.5 h;使用两步脱毒法对外植体进行表面灭菌,在超净工作台上将嫩枝浸入 75%乙醇 30 s,振荡,并用无菌水冲洗 3~4 次,然后用 0.1%升汞浸泡 3 min,振荡,用无菌水冲洗 4~5 次,待用。剪去嫩枝两端,并将其剪成 1 cm 的茎段,每个茎段包含 2~3 个节点,每瓶丛生芽诱导培养基接种 5 个茎段,3 d 后继代培养,以缓解外植体的褐化。

1.3.4 诱导培养基的优化 采用 4 因素 4 水平 $L_{16}(4^3)$ 正交试验,共 16 组固体培养基,每组 10 瓶,每瓶 5 个茎段;25 d 后统计长芽的外植体数、芽数、坏死的茎段数,并计算诱导率。培养条件:温度(25±2) ℃,光照 12 h/d,光照度 2 500~3 000 lx。培养基为固体培养,调 pH 值为 5.8。

诱导率 = 诱导出芽的外植体数 ÷ 接种的外植体数 × 100%。

2 结果与讨论

2.1 精油提取和理化常数测定

用同时蒸馏法分别测定 3 个品种的互叶白千层精油的得油率,结果发现,互叶白千层品种 2 提取精油的得油率最高,达 1.54%,比品种 1、品种 3 分别高 23.38%、18.18%(表 1)。

表 1 不同品种互叶白千层茶树油的得油率

材料品种	样品质量(g)	精油量(g)	得油率(%)
品种 1	100	1.18	1.18
品种 2	100	1.54	1.54
品种 3	100	1.26	1.26

采用国标方法测得精油的相对密度、折光指数、旋光度及在乙醇中的溶解度。将测得的理化常数与 ISO 国际标准相比较,发现品种 1 和品种 2 精油均满足国际标准。品种 3 除了在乙醇中的溶解度符合该标准之外,其余几项常数均不满足国际标准(表 2)。

表 2 不同品种互叶白千层茶树油的理化常数

项目	相对密度(20 ℃)	折光指数(20 ℃)	旋光度(20 ℃)	乙醇中的溶解度 ¹⁾
ISO 标准	0.885~0.906	1.4750~1.4820	+5°~+15°	1 mL 茶树油全溶于不大于 2 mL 的乙醇中,溶液澄清
品种 1	0.904 1	1.475 3	+6.2°	1 mL 精油全溶于 1.5 mL 的乙醇中,溶液澄清
品种 2	0.891 3	1.480 6	+8.4°	1 mL 精油全溶于 1.5 mL 的乙醇中,溶液澄清
品种 3	0.915 9	1.461	+3.2°	1 mL 精油全溶于 1.5 mL 的乙醇中,溶液澄清

注:1) 20 ℃下,在 85% (体积分数)乙醇中的溶解度。

2.2 不同品种互叶白千层精油的化学成分

通过采用 GC/MS 对互叶白千层精油进行化学成分的分和鉴定,经相关资料查询,定性定量分析(表3至表5),结果发现,样品间精油化学成分存在差异。将测得的主要化学成分与 ISO 国际标准相比较,发现互叶白千层精油质量主要是由它所含的松油醇-4和1,8-桉叶油素的含量来决定,前者是松油醇-4型精油主要的活性成分,其含量不应低于30%,后者会使茶树油带有一定的刺激性气味,影响油香,对皮肤也有一定的刺激性,含量应低于15%(表6)。

表3 品种1茶树油化学成分分析结果

保留时间 (min)	化合物	分子式	相对百分含量 (%)	符合度 (%)
5.076	α -崖柏烯	C ₁₀ H ₁₆	1.25	95
5.215	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	2.76	96
6.770	异松油烯	C ₁₀ H ₁₆	7.69	98
6.916	邻伞花烃	C ₁₀ H ₁₄	4.57	94
7.006	β -松油烯	C ₁₀ H ₁₆	1.78	87
7.051	1,8-桉叶油素	C ₁₀ H ₁₈ O	3.41	97
7.603	γ -松油烯	C ₁₀ H ₁₆	12.32	96
8.149	异松油烯	C ₁₀ H ₁₆	3.53	98
9.945	松油醇-4	C ₁₀ H ₁₈ O	26.22	94
10.112	α -松油烯	C ₁₀ H ₁₈ O	4.38	86
14.436	香树烯	C ₁₅ H ₂₄	3.08	99
14.781	别香树	C ₁₅ H ₂₄	1.20	99
14.946	γ -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	1.08	91
15.312	绿花白千层	C ₁₅ H ₂₄	4.76	99
15.701	δ -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	2.58	94
16.664	蓝桉醇	C ₁₅ H ₂₆ O	1.42	99

表4 样品2茶树油化学成分分析结果

保留时间 (min)	化合物	分子式	相对百分含量 (%)	符合度 (%)
5.079	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	2.08	96
6.755	α -松油烯	C ₁₀ H ₁₆	5.03	97
6.906	对伞花烃	C ₁₀ H ₁₄	4.20	97
6.991	D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	1.26	98
7.043	1,8-桉叶油素	C ₁₀ H ₁₈ O	11.24	97
7.565	γ -松油烯	C ₁₀ H ₁₆	11.13	97
8.140	异松油烯	C ₁₀ H ₁₆	1.90	98
9.854	松油醇-4	C ₁₀ H ₁₈ O	42.90	95
10.070	α -松油烯	C ₁₀ H ₁₈ O	4.45	74
14.423	香树烯	C ₁₅ H ₂₄	1.43	99
15.295	绿花白千层	C ₁₅ H ₂₄	2.08	99
15.690	δ -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	1.65	94

品种1的松油醇-4含量为26.22%,小于30%,1,8-桉叶油素含量为3.41%,小于15%,不符合国际标准;品种2的松油醇-4含量为42.90%,大于30%,1,8-桉叶油素含量为11.24%,小于15%,符合该标准;品种3的松油醇-4为25.46%,低于30%,1,8-桉叶油素含量为1.91%,小于15%,不符合标准。

综上所述,按照精油国际质量标准(ISO 4730—1996)^[16],品种2的精油得油率最高,精油的相对密度、折光指数、旋光度及在乙醇中的溶解度满足国际标准,松油醇-4和1,8-桉叶油素达到国际标准,即由福建省永安市黄泥家有限责任公司提供的互叶白千层品种2植株是符合条件的优

表5 样品3茶树油化学成分分析结果

保留时间 (min)	化合物	分子式	相对含量 (%)	符合度 (%)
5.214	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	1.10	96
6.914	邻伞花烃	C ₁₀ H ₁₄	3.23	93
7.048	1,8-桉叶油素	C ₁₀ H ₁₈ O	1.91	97
7.573	γ -松油烯	C ₁₀ H ₁₆	3.12	97
9.985	松油醇-4	C ₁₀ H ₁₈ O	25.46	94
10.142	α -松油烯	C ₁₀ H ₁₈ O	5.66	90
12.380	己二烯酸	C ₆ H ₈ O ₂	1.47	58
14.435	香树烯	C ₁₅ H ₂₄	2.14	99
14.779	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	1.02	99
15.306	绿花白千层	C ₁₅ H ₂₄	2.58	99
15.703	δ -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	2.60	93
16.296	表蓝桉醇	C ₁₅ H ₂₆ O	1.02	99
16.572	斯巴醇	C ₁₅ H ₂₄ O	1.76	99
16.696	蓝桉醇	C ₁₅ H ₂₆ O	6.38	99
16.936	八氢四甲基萘甲醇	C ₁₅ H ₂₆ O	1.88	91
17.291	库贝醇	C ₁₅ H ₂₆ O	2.16	98
17.494	α -萜澄茄油烯	C ₁₅ H ₂₄	1.26	64

表6 不同品种互叶白千层茶树油的主要化学成分

项目	松油醇-4 (%)	1,8-桉叶油素 (%)
ISO 标准	(毛细管柱气相色谱法) ≥30	(毛细管柱气相色谱法) ≤15
品种1	26.22	3.41
品种2	42.90	11.24
品种3	25.46	1.91

良株系。

2.3 诱导培养基的优化

将1cm的互叶白千层茎段接种到诱导培养基中,培养25d后计算诱导率(表7)。极差分析表明,影响丛生芽诱导效果4个因素的强弱顺序为:活性炭>硝酸镧>6-BA>NAA。随着活性炭浓度的增大,诱导率呈先增大后减小趋势,当活性炭浓度为0.05%时诱导率最高。随着NAA浓度的上升,诱导率先上升后下降,当NAA浓度达0.05mg/L时丛生芽数最多,大于此浓度,丛生芽数减少,可能的原因是适量浓度的NAA对细胞分裂发挥正向调节作用,过高浓度的NAA起到反向调节作用。

由直观分析法可知,4个因素的最佳搭配为A₄B₃C₂D₃,即最佳诱导培养基为MS+NAA 0.05mg/L+6-BA 0.15mg/L+活性炭0.05%+硝酸镧0.07mmol/L。此条件的试验在正交表的16次试验中并没有出现,通过做补充试验,结果得到丛生芽诱导率为96.4%、芽数达到12.43,大于正交试验结果中的最高值93.5%和11.59,说明利用正交试验优化丛生芽诱导是成功的。方差分析表明(表8、表9),4个因素对诱导率及芽数无显著影响。

3 结论

通过同时蒸馏和GC-MS试验得出符合国际标准的互叶白千层优株是福建省永安市黄泥家有限责任公司提供的品种2,其精油中松油醇-4含量为42.90%,1,8-桉叶油素含量为11.24%;最佳诱导培养基为MS+0.05mg/L NAA+0.15mg/L 6-BA+0.05%活性炭+0.07mmol/L硝酸镧,该

表7 互叶白千层芽诱导的正交试验结果

处理	因素				诱导率 (%)	芽数 (个)
	A:硝酸铜	B:活性炭	C:NAA	D:6-BA		
1	1(0.01)	1(0.01)	1(0.03)	1(0.05)	55.0	4.15
2	3(0.05)	1(0.01)	3(0.07)	3(0.15)	51.2	4.21
3	4(0.07)	1(0.01)	4(0.09)	4(0.20)	58.5	3.44
4	2(0.03)	1(0.01)	2(0.05)	2(0.10)	51.3	3.67
5	1(0.01)	3(0.05)	4(0.09)	2(0.10)	57.5	4.40
6	1(0.01)	2(0.03)	3(0.07)	4(0.20)	61.4	3.68
7	1(0.01)	4(0.07)	2(0.05)	3(0.15)	62.8	5.28
8	3(0.05)	4(0.07)	4(0.09)	1(0.05)	53.5	3.93
9	2(0.03)	4(0.07)	1(0.03)	4(0.20)	52.8	4.08
10	2(0.03)	3(0.05)	3(0.07)	1(0.05)	76.1	7.00
11	4(0.07)	4(0.07)	3(0.07)	2(0.10)	71.1	4.16
12	3(0.05)	2(0.03)	1(0.03)	2(0.10)	52.4	3.62
13	4(0.07)	3(0.05)	1(0.03)	3(0.15)	83.0	6.23
14	2(0.03)	2(0.03)	4(0.09)	3(0.15)	93.5	11.59
15	3(0.05)	3(0.05)	2(0.05)	4(0.20)	87.2	6.57
16	4(0.07)	2(0.03)	2(0.05)	1(0.10)	89.4	9.53
k_1	59.2	54.0	60.8	68.5		
k_2	68.4	74.2	72.7	58.1		
k_3	61.1	76.0	65.0	72.6		
k_4	75.5	60.1	65.8	65.0		
极差	16.3	22	11.9	14.5		

注:以MS为诱导培养的基本培养基,括弧中数据为添加物浓度;NAA为mg/L,6-BA为mg/L,活性炭为%,硝酸铜为mmol/L。

表8 互叶白千层芽诱导正交试验的诱导率的方差分析

来源	Ⅲ型平方和	自由度	均方	F值	P值
校正模型	0.285	12	0.024	1.297	0.468
截距	6.845	1	6.845	373.647	0.000
硝酸铜	0.088	3	0.029	1.604	0.354
活性炭	0.158	3	0.053	2.869	0.205
6-BA	0.046	3	0.015	0.843	0.554
NAA	0.051	3	0.017	0.932	0.522
误差	0.055	3	0.018		
总计	7.319	16			
校正总计	0.340	15			

表9 互叶白千层芽诱导正交试验的芽数的方差分析

来源	Ⅲ型平方和	自由度	均方	F值	P值
校正模型	68.520	12	5.710	1.239	0.486
截距	460.781	1	460.781	100.024	0.002
硝酸铜	15.964	3	5.321	1.155	0.454
活性炭	33.025	3	11.008	2.390	0.247
6-BA	12.527	3	4.176	0.906	0.531
NAA	19.921	3	6.640	1.441	0.386
误差	13.820	3	4.607		
总计	539.658	16			
校正总计	82.340	15			

条件下诱导率达96.4%。研究结果可为互叶白千层的工厂化育苗提供了科学依据。

参考文献:

[1] Shabir G A. Method development and validation for the GC-FID assay of *p*-cymene in tea tree oil formulation [J]. Journal of

Pharmaceutical and Biomedical Analysis,2005,39(3/4):681-684.

- [2] 吴丽君,翁秋媛,陈碧华,等. 高精油互叶白千层组培快繁技术[J]. 福建林学院学报,2010,30(4):314-319.
- [3] Souza M E, Lopes L Q, Bonez P C, et al. *Melaleuca alternifolia* nanoparticles against *Candida* species biofilms [J]. Microbial Pathogenesis,2017,104(3):125-132.
- [4] Comin V M, Lopes L Q, Quatrin P M, et al. Influence of *Melaleuca alternifolia* oil nanoparticles on aspects of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm [J]. Microbial Pathogenesis,2016,93(4):120-125.
- [5] Baldissera M D, Souza C F, Júnior G B, et al. *Melaleuca alternifolia* essential oil enhances the non-specific immune system and prevents oxidative damage in *Rhamdia quelen* experimentally infected by *Aeromonas hydrophila*: Effects on cholinergic and purinergic systems in liver tissue [J]. Fish & Shellfish Immunology,2017,61(2):1-8.
- [6] Souza C D F, Baldissera M D, Vaucher R D A, et al. *In vivo* bactericidal effect of *Melaleuca alternifolia* essential oil against *Aeromonas hydrophila*: silver catfish (*Rhamdia quelen*) as an experimental model [J]. Microbial Pathogenesis, 2016, 98 (9): 82-87.
- [7] 吴 岷,谢吉蓉,宋 琴,等. 茶树油作为天然抗菌剂的研究进展 [J]. 中国药学杂志,2013,48(21):1803-1807.
- [8] Pereira T S, de Sant'anna J R, Silva E L, et al. *In vitro* genotoxicity of *Melaleuca alternifolia* essential oil in human lymphocytes [J]. Journal of Ethnopharmacology,2014,151(2):852-857.
- [9] Garozzo A, Timpanaro R, Stivala A, et al. Activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on influenza virus a/PR/8: study on the mechanism of action [J]. Antiviral Research,2011,89(1):83-88.
- [10] Wong Y F, Davies N W, Chin S T, et al. Enantiomeric distribution of selected terpenes for authenticity assessment of Australian *Melaleuca alternifolia* oil [J]. Industrial Crops and Products,2015,67(5):475-483.
- [11] Baldissera M D, da Silva A S, Oliveira C B, et al. Effect of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on the longevity and immune response of rats infected by *Trypanosoma evansi* [J]. Research in Veterinary Science,2014,96(3):501-506.
- [12] Santamaria J, Petermann K D, Vedovello S A, et al. Antimicrobial effect of *Melaleuca alternifolia* dental gel in orthodontic patients [J]. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 2014,145(2):198-202.
- [13] 吴丽君,陈 达,高 楠,等. 高含油互叶白千层高效栽培配套技术研究 [J]. 福建农业学报,2017,32(7):734-738.
- [14] Shepherd M, Wood R, Raymond C, et al. Ecotype variation in early growth, coppicing, and shoot architecture of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) [J]. Industrial Crops and Products,2015,76(12):844-856.
- [15] Russell M F, Southwell I A. Monoterpenoid accumulation in 1,8-cineole, terpinolene and terpinen-4-ol chemotypes of *Melaleuca alternifolia* seedlings [J]. Phytochemistry,2003,62(5):683-689.
- [16] Anon. Essential oils - oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (tea tree oil). ISO-4730 [R]. Geneva: International Organisation for Standardisation,1996.
- [17] 黄 戈,翁晓晨,张 帆,等. 互叶白千层的种植和加工研究进展 [J]. 广东化工,2017,44(4):71-73.
- [18] 覃子海,肖玉菲,唐复呈,等. 互叶白千层扦插繁殖技术 [J]. 广西林业科学,2017,46(1):111-114.