

丁香罗勒特征香味物质及代谢组、转录组联合分析其合成途径

李实东^{1,2}, 高树仁¹, 于福来², 房一明², 江 芊², 官玲亮^{2*}, 陈松笔^{2*}

1. 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江大庆 163000; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业农村部中药材生物学与栽培重点实验室(试运行)/海南省热带药用植物工程研究中心, 海南海口 571101

摘 要: 丁香罗勒 (*Ocimum gratissimum*) 因其显著的药用和食用价值而被广泛应用。然而, 不同地理来源的种质资源、栽培条件及环境因素导致其挥发性成分和药用代谢物含量存在显著差异, 直接影响药效的稳定性和产业化发展。为此, 本研究采用代谢组学和转录组学联合分析技术, 系统研究 2 个不同来源丁香罗勒品种 (G096 和 G134) 的香味类型、代谢物组成及其调控机制。感官分析结果显示, 2 份材料均具有明显的丁香味; 代谢组分析结果显示, 2 个丁香罗勒品种中共鉴定出 1094 种挥发性代谢物, 其中差异代谢物 784 种; 结合差异代谢物与感官分析表明, 丁香酚是丁香罗勒独特香味的关键代谢物。转录组分析结果显示, 2 个丁香罗勒品种中共鉴定出 54 936 个差异表达基因, 其中上调基因 27 220 个, 下调基因 27 716 个; 通过代谢通路预测, 构建丁香罗勒中丁香酚生物合成途径, 挖掘到 *PAL*、*C4H*、*4CL*、*HCT*、*C3'H* 是丁香酚生物合成的关键调控基因。本研究不仅阐明了丁香罗勒主要香味物质的生物合成机制, 更为其品质改良和标准化生产提供重要的分子理论基础, 对推动丁香罗勒产业化发展具有重要的科学意义和应用价值。

关键词: 丁香罗勒; 挥发性有机化合物; 代谢组; 转录组

中图分类号: S573.9 文献标志码: A

Key Aroma Components and Biosynthesis Mechanisms Revealed by Integrated Metabolomics and Transcriptomics in *Ocimum gratissimum*

LI Shidong^{1,2}, GAO Shuren¹, YU Fulai², FANG Yiming², JIANG Qian², GUAN Lingliang^{2*}, CHEN Songbi^{2*}

1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163000, China; 2. Tropical Crop Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Biology and Cultivation of Herbaceous Medicinal Plants (Pilot), Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Provincial Engineering Research Center for Tropical Medicinal Plants, Haikou, Hainan 571101, China

Abstract: *Ocimum gratissimum* is widely utilized due to its significant medicinal and culinary value. However, substantial variations in volatile components and medicinal metabolite content exist among different germplasms, influenced by geographical origin, cultivation conditions, and environmental factors. The variations directly impact the stability of pharmacological efficacy and industrial-scale production. To address this, the present study employed an integrated metabolomics and transcriptomics approach to systematically investigate the aroma profiles, metabolite composition, and regulatory mechanisms of two distinct *O. gratissimum* germplasms (G096 and G134). Sensory evaluation confirmed that both accessions exhibited a characteristic clove-like aroma. Metabolomic analysis identified 1094 volatile metabolites, with 784 showing significant differential accumulation between the two germplasms. Correlation analysis between differential metabolites and sensory attributes revealed that eugenol was the key metabolite responsible for the distinctive flavor of *O. gratissimum*. Transcriptomic profiling identified 54 936 differentially expressed genes (DEGs), including 27 220 upregulated and 27 716 downregulated genes. Through metabolic pathway prediction, a biosynthetic pathway for eugenol in *O. gratissimum* was constructed, identifying *PAL*, *C4H*, *4CL*, *HCT* and *C3'H* as critical regulatory genes governing eugenol biosynthesis. This study would not only elucidate the biosynthetic mechanism of the pri-

收稿日期 2025-09-21; 接受日期 2025-10-21

基金项目 四川省自然科学基金项目 (No. 2025ZNSFSC0184)。

作者简介 李实东 (2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 罗勒优异种质筛选。*通信作者 (Corresponding author): 陈松笔 (CHEN Songbi), E-mail: songbichen@catas.com; 官玲亮 (GUAN Lingliang), E-mail: gllgirl123@163.com。

mary flavor compounds in *O. gratissimum*, but also provide a crucial molecular theoretical foundation for quality improvement and standardized production. The findings would hold significant scientific and practical value for advancing the industrial development of *O. gratissimum*.

Keywords: *Ocimum gratissimum*; volatile organic compounds (VOCs); metabolome; transcriptome

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2026.02.007

丁香罗勒 (*Ocimum gratissimum*) 为唇形科 (Lamiaceae) 罗勒属 (*Ocimum*) 的重要经济植物^[1]。丁香罗勒属植物表现出丰富的种内多样性, 不同品种在形态特征、化学成分和生态适应性等方面存在显著差异^[2-3]。这种多样性使得该属植物能够适应从干旱到湿润等多种生境条件, 也为药用成分的开发提供丰富的种质资源^[4]。

丁香罗勒在全球热带和亚热带地区广泛分布, 具有广泛的用途和悠久的历史^[5]。在维吾尔族药中被称为“排然吉木西克”, 具有生干生热、补脑通阻、安心除烦、通鼻解表、止咳化痰、补胃开胃、散气补肝等功效, 主治血寒性或黏液质性脑部疾病、鼻塞感冒、咳嗽多痰、胃虚纳差、肝虚气滞等^[6]。现代药理学研究证实, 丁香罗勒提取物具有抗菌、抗炎、抗氧化等多种生物活性^[7], 其应用领域已从传统医药扩展到现代食品、化妆品等行业。在医药领域, 丁香罗勒被广泛用于治疗湿疹、皮癣等皮肤病 (如丁香罗勒膏)^[8], 以及女性排卵功能障碍等疾病 (如罗勒胶囊)^[9]; 在食品行业, 丁香罗勒叶片因其独特的丁香风味与香气, 被称为“香叶”, 广受尼日利亚人的喜爱, 可用于制作沙拉、汤、意大利面和醋等, 还可用于腌制鱼和肉类^[10], 或用于食品加工与保存方面^[11]; 在日化领域, 其精油则被广泛应用于香精、香料的生产^[12]。因此, 丁香罗勒是一种药、食两用的高经济价值植物。

丁香罗勒的药用价值主要源于其丰富的次生代谢产物, 包括挥发油 (volatile oil)、黄酮类 (flavonoids)、酚酸类 (phenolic acids) 等化合物, 其中关于挥发油组分和药理活性的研究较多^[13], 且挥发油组成因产地和基因型差异而显著不同。气相色谱-质谱 (Gas chromatography-Mass spectrometry, GC-MS) 分析显示: 西非地区 (贝宁南部的阿波美-卡拉维) 的丁香罗勒精油中主要成分为百里香酚 (thymol, 28.3%~37.7%) 和 γ -松油烯 (γ -terpinene, 12.5%~19.3%)^[14]。南美地区 (巴西北部帕梅拉州) 的种质, 则富含丁香酚 (eugenol, 32.2%~60.6%)、甲基丁香酚 (methyl

eugenol, 60.6%~69.5%)、1,8-桉油素 (1,8-cineole, 0.9%~19.7%) 和榄香素 (elemicin, 0.2%~65.9%)^[15]。SILVA 等^[16]对栽培于巴西克拉托市奇科门德斯生物多样性保护研究所 (ICMBio) 的丁香罗勒叶进行检测, 发现其主要含丁香酚 (63.25%)、1,8-桉油素 (10.83%)、 β -瑟林烯 (β -Selinene, 8.43%) 和反式石竹烯 (trans-Caryophyllene, 6.85%); 而中国云南省昆明市种植的丁香罗勒 (江西南昌引种) 的主要成分有草蒿脑 (estragole)、1,8-桉油素及异龙脑 (isoborneol) 这 3 种化合物, 这些化合物的相对含量总和为 83.93%, 其中草蒿脑含量较高, 相对含量达 76.96%^[17]。这种化学组成的差异直接影响其药理活性和香味类型, 如丁香酚含量高的品种表现出更强的抗菌活性^[15], 巴西的丁香罗勒具有明显的丁香味, 而来自中国云南的丁香罗勒则以茴香味为主^[17]。

目前针对丁香罗勒中主要药用成分丁香酚的生物合成机制已开展了部分研究。ANAND 等^[18]研究揭示了丁香酚的合成遵循苯丙烷途径, 由 L-苯丙氨酸 (L-phenylalanine) 经一系列转化而成, 其效率受苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia-lyase, PAL) 与丁香酚合酶 (eugenol synthase, EGS) 等关键酶调控。该途径中, PAL 和 EGS 的表达水平与丁香酚积累呈正相关, 且表现出显著的组织特异性 (幼叶和花序中表达量最高)^[18]。随着组学技术的发展, 整合代谢组学和转录组学分析已成为解析植物次生代谢调控网络的有力工具。YANG 等^[19]通过代谢组和转录组联合分析罗勒差异脂质代谢物, 发现亚油酸是罗勒中主要脂质差异代谢物, 主要受 *Lox* (lipoxygenase) 基因调控; ZHOU 等^[20]通过代谢组和转录组联合分析发现, 干旱胁迫下苯丙烷、黄酮类化合物和脂质代谢物的表达量升高, PAL、4-香豆酸-CoA 连接酶 (4-Coumarate: CoA ligase, 4CL)、反式肉桂酸 4-单加氧酶 (trans-cinnamic acid 4-monooxygenase, C4H) 和羟基肉桂酰转移酶 (hydroxycinnamoyl transferase, HCT) 是关键调控酶。不同来源的丁香罗勒种质中丁香酚含量存在显著差异, 其生物

合成通路和代谢调控机制是否存在差异尚不清楚。为此,本研究拟在前期罗勒属物种资源收集、保存的基础上,对来自巴西和海南的 2 份丁香罗勒植物材料开展植物学考察和香味感官评价,通过代谢组和转录组联合分析,系统解析丁香罗勒特殊香味的关键组分与代谢调控机制,为丁香罗勒优异种质筛选奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为来自于海南省儋州市的野生型丁香罗勒 G134,以及由美国种质资源库 (GRIN, USDA-ARS Germplasm Resources Information Network) 提供的巴西-巴西利亚联邦区 (Brazil, Distrito Federal) 品种 G096。所有植株均种植于海南省海口市中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所的南药种质资源圃。每个品种选取 3 株生长健壮、均匀一致且无病害的植株作为试验样本。叶片采集时间为初花期 (2024 年 9 月 24 日),在晴朗天气的上午 10:00 采集成熟叶片样本,液氮速冻后保存于 -80°C 冰箱,用于超高效液相色谱和串联质谱分析。

1.2 方法

1.2.1 丁香罗勒植物学性状调查与感官评价 植物学性状调查采用直接观察法,于 2024 年 10 月的晴天 10:00 选取生长条件一致、处于始花期的健康丁香罗勒植株,记录叶片形态与颜色、茎秆颜色及腺毛。香味感官评价由 30 名经筛选的健康受试者组成评价小组,试验前禁止接触刺激性气味。以新鲜、洁净的罗勒叶片为样品,参照罗勒属常见香味特征,评估青草味、甜味、樟脑味、花香味、果香味、柠檬味、茴香味、丁香味及薄荷味等 9 类香味。采用 4 级强度评分:无/极淡 (0 分)、淡 ($>0\sim 5$ 分)、明显 ($>5\sim 10$ 分) 和浓郁 ($>10\sim 15$ 分)。每个样品评价后休息 2~3 min,最终得分取全体参评者的评价均值。试验于中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所南药与健康中心实验室完成。

1.2.2 固相顶空微萃取/气相色谱-质谱 (HS-SPME-GC-MS) 联用技术分析 使用气相色谱-质谱联用仪 (7890B-5977A 型, Agilent, 美国)、克莱克特全自动多功能进样系统 (AS-3902 型)、固相微萃取纤维头 (57328-U 型, Supelco, 美国)、HP-5MS 色谱柱进行初步筛查与差异分析。从种

质资源圃中筛选生长状况良好的试验植株,采集 5~10 片健康成熟叶片 (无病虫害),将叶片转移至冰盒中保存,确保样品具有生物学活性。将新鲜叶片剪碎后,直接装入顶空进样瓶 (20 mL),使用自动进样器进行挥发性化合物提取 (进行固相顶空微萃取前将 PDMS/DVB 固相微萃取头置于 200°C 加热器老化 5 min)。自动进样器条件:萃取温度为 60°C ,平衡时间为 1 min,吸附时间为 40 min,固相顶空微萃取纤维头吸附结束后插入进样口,进样口解析时间为 5 min,之后开始 GC-MS 分析。GC-MS 的操作参数如下: (1) 色谱条件:色谱柱 HP-5MS 弹性石英毛细管柱 ($30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$),载气为高纯氮气,载气流速为 1.0 mL/min ,进样口温度为 220°C ,进样方式为不分流进样。升温程序:以 80°C 为起始温度, 4°C/min 升至 100°C ,保持 3 min; 2°C/min 升至 110°C ,保持 2 min; 2°C/min 升至 130°C ,保持 1 min; 4°C/min 升至 180°C 。(2) 质谱条件:电子轰击离子源 (EI),离子源温度为 230°C ,扫描范围 $50\sim 550\text{ amu}$ 。将获得的质谱图与 NIST 数据库进行比对 (匹配度 $\geq 80\%$),各挥发性化合物的相对含量采用气相色谱峰面积归一化法计算。

1.2.3 丁香罗勒关键香气化合物分析 参照刘登勇等^[21]的方法,各个化合物香气阈值,使用相对气味活度值 (relative odor activity value, ROAV) 确定丁香罗勒关键香气化合物。ROAV 是一种用于评估香气成分对整体香气贡献强度的指标,广泛应用于食品、香料、日化等领域的香气分析。 $1\leq\text{ROAV}\leq 100$ 的化合物为关键香气化合物, $0.1\leq\text{ROAV}<1$ 的化合物为重要修饰关键香气化合物。ROAV 值计算公式为:

$$\text{ROAV}_i=(C_i/C_{\max})\times T_{\max}/T_i\times 100\%$$

式中: C_i 为丁香罗勒各挥发性化合物相对百分含量, $C_{\max}$ 为对丁香罗勒整体香气贡献最大挥发性化合物的相对百分含量, T_i 为各挥发性化合物相对应的感觉阈值, $T_{\max}$ 为丁香罗勒总体香气最大贡献挥发性化合物相对应的感觉阈值。

1.2.4 丁香罗勒挥发性化合物的代谢组学分析 为对初步检测筛选的丁香罗勒品种进行更精确的代谢组学分析,本研究委托武汉迈维代谢公司进行代谢物检测。将保存于 -80°C 的丁香罗勒样品取出后,迅速在液氮中进行粉碎处理,并通过涡旋仪充分混匀。每个样品称取约 500 mg (固体) 置

于专用顶空进样瓶中,向每个样品中加入饱和氯化钠(NaCl)溶液,以增强挥发性组分的释放效率,再加入20 μ L 10 μ g/mL 内标溶液,用于后续的定量校正。采用全自动顶空固相微萃取(HS-SPME)系统进行样品的挥发性化合物提取,用于后续气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析。

固相顶空微萃取条件:萃取温度设定为60 $^{\circ}$ C,预平衡时间为5 min,萃取装置是120 μ m DVB/CWR/PDMS 三相复合材料制成的 SPME Arrow 萃取头,顶空萃取时间为15 min。解析条件:萃取后于250 $^{\circ}$ C下热解析5 min;老化条件:萃取头首次使用前在Fiber Conditioning Station中于250 $^{\circ}$ C老化2 h,日常检测前老化时间为5 min,以保证吸附活性和检测稳定性。

使用 Agilent DB-5MS 毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m)进行色谱分离。色谱参数:载气为高纯氦气(纯度 $\geq$ 99.999%),流速为1.2 mL/min(恒流模式),进样口温度为250 $^{\circ}$ C,进样模式为不分流进样(splitless);溶剂延迟时间为3.5 min。程序升温条件:初始温度为40 $^{\circ}$ C,保持3.5 min;以10 $^{\circ}$ C/min升至100 $^{\circ}$ C;以7 $^{\circ}$ C/min升至180 $^{\circ}$ C;最后以25 $^{\circ}$ C/min升至280 $^{\circ}$ C,保持5 min。质谱条件:离子化方式为EI,电子能量设置为70 eV;离子源温度为230 $^{\circ}$ C,四极杆温度为150 $^{\circ}$ C,接口温度为280 $^{\circ}$ C;扫描模式:选择离子监测模式(Selected Ion Monitoring, SIM)进行数据采集,依据国家标准GB 23200.8—2016要求选择特征离子进行定性与定量分析,以提高分析的专一性与灵敏度。

1.2.5 丁香罗勒挥发性有机化合物分析 基于多源植物数据库、文献及标准品数据,构建包含目标化合物保留时间(RT)、定性离子与定量离子等信息的代谢物数据库。GC-MS分析采用选择离子监测模式(SIM),按出峰顺序设定检测窗口,每个化合物以1个定量离子及2~3个定性离子作为鉴定依据。化合物的判定需满足保留时间与数据库一致,且扣除背景后所有特征离子信号完整检出。

定量分析采用内标法,以定量离子峰面积积分进行校正,提升准确度与稳定性。原始质谱数据经Agilent MassHunter Quantitative Analysis软件处理,运用五点平滑算法进行基线校正,以抑制信号漂移与背景噪声,确保积分结果可靠,用于后续相对定量分析。

为筛选组间差异代谢物,本研究采用正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)构建分类模型,并提取变量重要性投影(VIP)值。设定筛选标准为VIP>1,且差异倍数 $|\log_2FC| \geq 1.0$,同时基于 t 检验结果经FDR校正后判定统计学显著性。为解析差异代谢物的生物学功能,将已鉴定代谢物注释至KEGG数据库,通过KEGG Compound获取对应化合物编号,并映射至KEGG Pathway中的代谢通路,以明确其代谢定位与潜在功能。

1.2.6 丁香罗勒挥发性化合物转录组学分析 本转录组测序由武汉迈维代谢公司完成。利用Qubit 4.0 荧光计/MD 酶标仪和Qsep400 生物分析仪评估RNA样品的浓度和完整性,合格样品用于cDNA文库构建^[19]。采用Oligo(dT)磁珠富集带有polyA尾的mRNA,加入RNA碎裂缓冲液(fragmentation buffer)使mRNA断裂为适宜长度的短片段,以六碱基随机引物(random hexamers)为引导,以打断后的mRNA为模板合成第一链cDNA。随后在DNA聚合酶作用下合成第二链,纯化后进行末端修复、加polyA尾并连接测序接头,再经片段筛选和PCR扩增完成文库构建。文库经Qubit定量与片段长度检测合格后进入测序流程。在Illumina平台采用PE150策略进行测序,基于边合成边测序原理,通过荧光信号采集与转换获取序列信息。原始数据经质控后,使用Trinity软件进行从头组装,并借助Corset对转录本进行聚类与去冗余,最终获得高质量转录本用于后续分析^[19]。

1.2.7 基因功能注释与共表达分析 为获取转录本的生物学功能信息,使用DIAMOND软件将去冗余后的转录本序列比对至6个主流功能数据库,包括KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)、NR(NCBI non-redundant protein sequences)、Swiss-Prot、Gene Ontology(GO)、COG/KOG(Clusters of Orthologous Groups/Eukaryotic Orthologous Groups)及TrEMBL等,获得转录本的初步功能注释信息^[22]。进一步采用HMMER比对Pfam数据库,识别蛋白结构域。转录本表达量通过RSEM软件计算FPKM值进行标准化,以消除转录本长度与测序深度差异的影响。

采用DESeq2软件筛选差异表达基因^[23],以原始读段计数为输入,构建负二项分布模型进行假设检验,并采用Benjamini-Hochberg方法校正 p 值(FDR控制)。差异基因判定标准为 $|\log_2FC| \geq 1$

且 $FDR < 0.05$ 。

1.3 数据处理

使用迈维云平台 (<https://cloud.metware.cn>) 进行热图绘制和数据分析。使用 KEGG Compound (<http://www.kegg.jp/kegg/compound>) 数据库注释代谢物, 注释后将这些代谢物映射到 KEGG Pathway (<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html>) 数据库。

2 结果与分析

2.1 丁香罗勒植物学性状

形态学是利用植物表型性状研究生物遗传多样性的方法之一。丁香罗勒的植物学性状调查结果显示, G096 为多年生小灌木, 植株高 1.5~2.1 m, 在地上 0.4~1.0 m 处开始分支, 花梗生于分支顶端, 花序有 5~7 个分支, 长 10~15 cm; 花冠浅黄色, 上唇四裂较短, 下唇稍长且略现紫色纹路, 花药黄色, 雄蕊浅绿色, 雌蕊黄色或白色; 叶片

形状为卵形, 叶缘锯齿状, 叶平整, 少腺毛, 叶片略显革质化、外表更脆、叶面积更大, 叶片为翠绿色; 茎四棱形, 嫩茎绿色、少毛, 老茎基部的绒毛常脱落, 有深褐色竖条纹, 代表南美洲丁香罗勒的种质特征; 种子红褐色, 表面有浅坑, 浸水后表面没有明显的胶体, 显著区别于其他罗勒属植物 (图 1)。

G134 为多年生小灌木, 植株高约 1.5~2.5 m, 在地上 0.2~0.5 m 处开始分支, 花序生于植株分支顶端, 有 3~5 个分支, 长 8~15 cm; 花冠上唇四裂较长为白色, 下唇浅紫色, 花药黄色, 雄蕊浅紫色, 雌蕊白色; 叶披针形, 叶缘有锯齿, 叶片密被腺毛, 厚且柔软, 叶正面为浅绿色、背面绒毛多, 略显白色; 茎四棱形, 嫩茎绿色、多毛, 干枯时茎皮黄色, 为毛叶丁香罗勒, 代表中国以及东南亚地区丁香罗勒的表型; 种子红褐色, 表面有黑色条状斑纹, 浸水后表面有胶体 (图 1)。

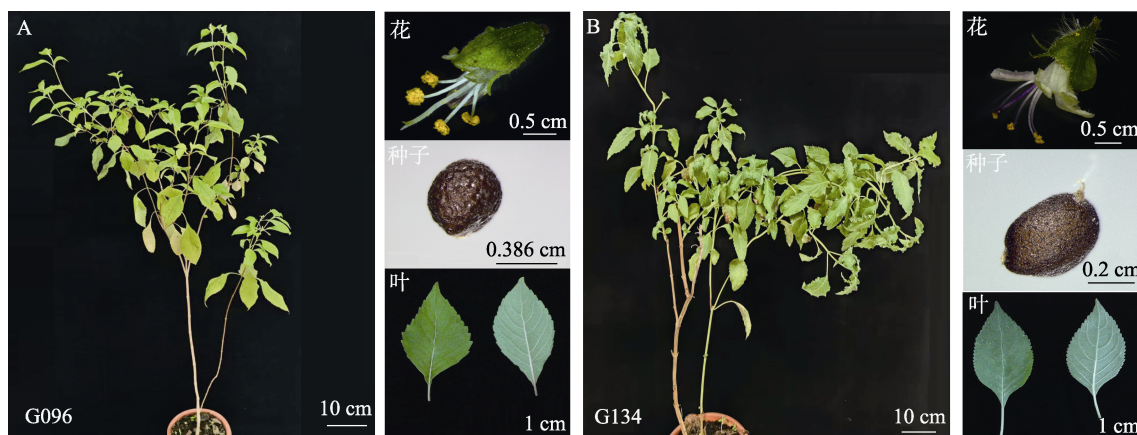


图 1 丁香罗勒的植物学性状

Fig. 1 Botanical characteristics of *O. gratissimum*

2.2 丁香罗勒香味感官评价

丁香罗勒材料的香味感官评价结果显示, 2 种丁香罗勒共涵盖 9 种香味特征 (青草味、甜味、樟脑味、花香味、果香味、柠檬味、茴香味、丁香味及薄荷味), 且均具有明显的丁香味 (图 2), 表明丁香味是丁香罗勒的主要香味。此外, G134 还具有明显的薄荷味 (3.8 分)、茴香味 (2.2 分) 和樟脑味 (3 分); G096 还混合了薄荷味 (4.5 分) 和青草味 (3.8 分)。

2.3 丁香罗勒挥发性化合物分析

采用顶空固相微萃取/气相色谱-质谱联用技术 (HS-SPME-GC-MS) 对 G134 和 G096 的挥发性化合物进行检测, 共鉴定到 57 种挥发性化合物

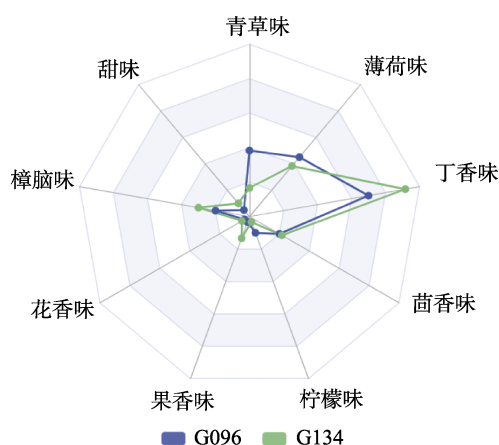


图 2 丁香罗勒香味鼻前感官评价

Fig. 2 Pre-olfactory sensory evaluation of the aroma *O. gratissimum*

(表 1)，其中萜类(terpenoids) 37 种、醇类(alcohols) 5 种、酯类(esters) 4 种、酚类(phenolic compounds) 3 种、酸类(organic acid) 1 种、醛类(aldehydes) 1 种，其他类 6 种。在 G134 中共检测到 37 种挥发性物质，其中包含萜类 22 种，相对含量占 59.79%，醇类 5 种(9.55%)、酯类 4 种(2.84%)、酚类 3 种(20.46%)、醛类 1 种(0.80%)、酮类(ketones) 1 种(0.20%)、醚类(ethers) 1 种(0.67%)；G096 共检测到 25 种挥发性物质，其中萜类化合物最丰富，有 19 种，相对含量为 75.99%，其次是芳烃类(aromatic hydrocarbons) 3 种(21.43%)，醚类 1 种(0.36%)、醌类(quinones) 1 种(0.47%)、酸类 1 种(0.10%)。相比之下，

G134 的萜类化合物的种类较 G096 更丰富。

G134 和 G096 丁香罗勒叶片中挥发性化合物种类和相对含量存在显著差异。G134 的挥发性化合物主要含有大根香叶烯 D(germacrene D, 26.26%)、丁香酚(13.12%)、石竹烯(β -caryophyllene, 6.92%)、反式- β -罗勒烯(trans- β -ocimene, 6.45%)等；而 G096 的挥发性化合物主要含有邻伞花烃(o-cymene, 26.22%)、百里香酚(22.38%)、 γ -松油烯(9.43%)。G134 和 G096 的差异挥发性化合物主要包括丁香酚、邻伞花烃和百里香酚，共有挥发性化合物为 5 种萜类化合物，分别是石竹烯、古巴烯(α -Copaene)、大根香叶烯 D 和 2 种萜类衍生物。

表 1 丁香罗勒叶片挥发性化合物及相对含量
Tab. 1 Volatile compounds and their relative contents in the leaves of *O. gratissimum*

序号 No.	化合物名称 Compound name	物质分类 Classification	相对含量 Relative content/%	
			G134	G096
1	(-)- β -bourbonene	萜类	0.433±0.123	—
2	(1R,2S,6S,7S,8S)-8-isopropyl-1-methyl-3-methylenetricyclo[4.4.0.0.2,7]decane-rel-	萜类	2.078±0.165	—
3	(1S,4S,4aS)-1-isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphthalene	萜类	0.177±0.007	—
4	(2S,4aR,8aR)-4a,8-dimethyl-2-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	萜烯类	—	0.266±0.079
5	(E)- β -farnesene	萜烯类	—	0.246±0.090
6	(E)-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene	萜烯类	0.212±0.102	—
7	α -copaene	萜烯类	5.366±0.435	—
8	α -cubebene	萜类	1.449±0.212	—
9	α -muurolene	萜类	0.774±0.469	—
10	β -bisabolene	萜类	—	3.806±0.913
11	β -myrcene	萜类	—	2.938±0.336
12	γ -terpinene	萜类	—	9.433±0.459
13	1,4,7,-cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-	萜类	0.817±0.141	—
14	1-isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene	萜类	2.202±1.747	—
15	1-octen-3-ol	醇类	4.076±2.327	—
16	2,4,6-octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-	萜类	0.544±0.108	—
17	2,5-dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative	酸类	—	0.096±0.032
18	2,6-dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, E,E-	萜类	0.448±0.014	—
19	2-cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2-pentenyl)-, (Z)-	酮类	0.202±0.037	—
20	3,4-dihydroxyphenylglycol, 4TMS derivative	醇类	0.389±0.183	—
21	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	萜类	0.621±0.005	—
22	3-hexen-1-ol, (E)-	醇类	2.801±0.285	—
23	4-hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-	醇类	1.840±0.156	—
24	Benzaldehyde	醛类	0.803±0.106	—
25	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	芳烃	—	11.542 ± 19.992
26	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	芳烃	—	5.398±0.016
27	Benzene, 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl)-	芳烃	—	4.490±0.601
28	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	萜类	—	0.480±0.001
29	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	萜类	—	2.119±0.066

续表 1 丁香罗勒叶片挥发性化合物及相对含量
Tab. 1 Volatile compounds and their relative contents in the leaves of *O. gratissimum* (continued)

序号 No.	化合物名称 Compound name	物质分类 Classification	相对含量 Relative content/%	
			G134	G096
30	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1 α ,2 α ,5 α)-	醇类	0.441 $\pm$ 0.205	—
31	Butanoic acid, 3-hexenyl ester, (E)-	酯类	0.224 $\pm$ 0.033	—
32	Butanoic acid, 3-methyl-, 2-hexenyl ester, (E)-	酯类	0.658 $\pm$ 0.233	—
33	Caryophyllene	萜类	6.921 $\pm$ 2.276	3.461 $\pm$ 1.290
34	cis-3-hexenyl-.alpha.-methylbutyrate	酯类	1.742 $\pm$ 1.699	—
35	cis-muurola-4(15),5-diene	萜类	0.632 $\pm$ 0.198	—
36	Copaene	萜类	—	0.034 $\pm$ 0.060
37	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,2 β ,4 β)]-	萜类	1.126 $\pm$ 0.289	0.130 $\pm$ 0.055
38	Cyclohexene, 3-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-6-methylene-, [S-(R*,S*)]-	萜类	—	0.128 $\pm$ 0.022
39	Cyclohexene, 4-[(1E)-1,5-dimethyl-1,4-hexadien-1-yl]-1-methyl-	萜类	—	0.085 $\pm$ 0.043
40	Estragole	醚类	0.668 $\pm$ 0.272	0.364 $\pm$ 0.038
41	Eugenol	酚类	13.117 $\pm$ 1.231	—
42	Germacrene D	萜类	26.261 $\pm$ 1.993	0.246 $\pm$ 0.104
43	Humulene	萜类	—	0.361 $\pm$ 0.144
44	Linalool	萜类	0.629 $\pm$ 0.552	—
45	Methyl salicylate	酯类	0.219 $\pm$ 0.015	—
46	Methyleugenol	酚类	0.347 $\pm$ 0.082	—
47	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-, [2R-(2 α ,4 α ,8 α)]-	萜类	—	0.501 $\pm$ 0.066
48	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	萜类	0.323 $\pm$ 0.052	—
49	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	萜类	1.802 $\pm$ 2.283	—
50	Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-,[1S-(1 α ,4 α β ,8 α)]-	萜类	0.294 $\pm$ 0.011	—
51	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-,[4aR-(4 α α ,7 α ,8 α β)]-	萜类	0.233 $\pm$ 0.008	1.554 $\pm$ 0.676
52	O-cymene	萜类	—	26.215 $\pm$ 22.712
53	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-	酚类	6.998 $\pm$ 0.001	—
54	Terpinen-4-ol	萜类	—	1.614 $\pm$ 0.292
55	Thymol	萜类	—	22.375 $\pm$ 2.070
56	Thymoquinone	醌类	—	0.468 $\pm$ 0.076
57	trans- β -ocimene	萜类	6.447 $\pm$ 0.543	—
总计			94.314	98.350

注：—表示未检测到相关化合物。
Note: — indicates the compound was not detected.

2.4 丁香罗勒关键香气化合物鉴定与贡献度分析

ROAV 是评估各香气成分对样品整体香气贡献强度的关键指标。通过查询香气嗅觉阈值进行计算可知：G134 中丁香酚是主导香气的关键化合物，芳樟醇（linalool）、草蒿脑和反式- β -罗勒烯对整体香气有显著贡献，赋予了 G134 丁香香味；G096 中草蒿脑是主导香气的关键化合物，石竹烯、邻伞花烃和百里香酚对整体香气有显著贡献，邻伞花烃的松节油味、草蒿脑的茴香-丁香味和百里香酚的草药辛香混合之后产生类似丁香味，最终赋予了 G096 茴香和丁香香味（表 2）。

2.5 丁香罗勒代谢物组学分析

丁香罗勒中香味物质代谢组分析结果显示，2 种丁香罗勒中共鉴定出 1 094 种挥发性化合物，可分为 15 个种类，其中萜类数量最多，为 278 种，占全部挥发性化合物相对含量的 25.43%，其次为酯类和酮类，分别占 17.57%和 10.89%，其余为氮化合物（nitrogen compounds）、醛类、杂环化合物（heterocyclic compound）、醇类、烃类（hydrocarbons）、芳烃、酸类、苯酚（phenol）、卤代烃（halogenated hydrocarbons）、胺类（amine）、硫化合物（sulfur compounds）等化合物（图 3A）。

Fig. 3 Analysis of differential metabolites

风味轮可以阐明每种芳香化合物对丁香罗勒整体香味特征的贡献程度，与差异代谢物的含量联合分析，可以进一步解析出造成丁香罗勒香味差异的关键香味代谢物。本研究通过对丁香罗勒的差异代谢物进行感官香味特征注释，发现丁香味、青香味、薄荷味为 2 种丁香罗勒的共同代谢物特征香味（图 3D）。通过对丁香罗勒品种之间的显著差异代谢物分析发现，约有 200 种差异代谢物符合香味变化趋势，可能是造成丁香罗勒品种香味差异的候选代谢物质。

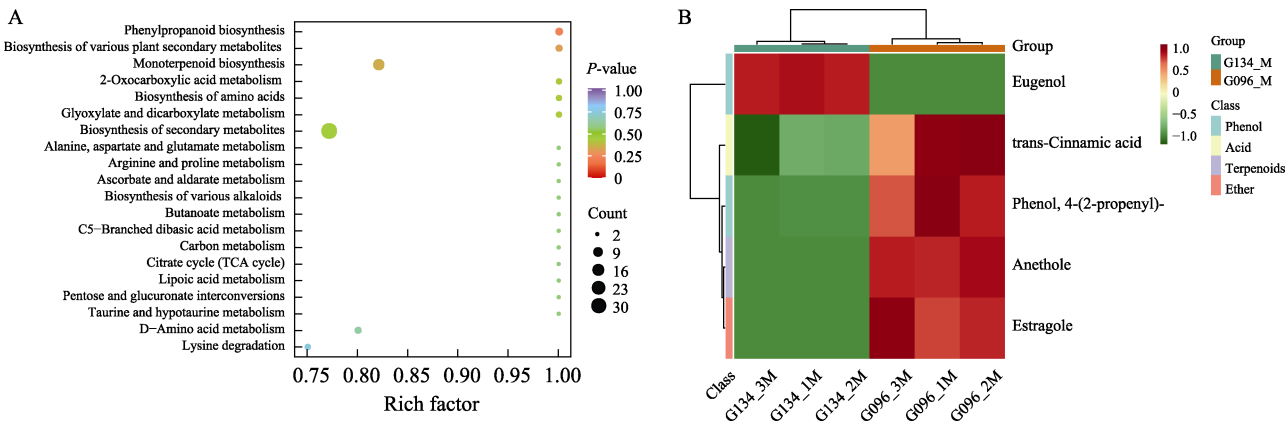
2.6 KEGG 通路分析

KEGG 通路富集分析结果显示，筛选的差异代谢物富集到苯丙烷代谢途径（phenylpropanoid biosynthesis）、多种植物次生代谢产物的生物合成途径（biosynthesis of various plant secondary metabolites）、单萜类生物合成途径（monoterpenoid biosynthesis）、2-氧代羧酸代谢途径（2-oxocarboxylic acid metabolism）、氨基酸的生物合成途径（biosynthesis of amino acids）等 20 条代谢通路（图 4A）。其中富集程度最为显著的

是 KO00940（苯丙烷代谢途径）。苯丙烷代谢途径共涉及 5 种差异代谢物，其中 1 种差异代谢物上调，4 种差异代谢物下调，这些代谢物含量的变化会导致丁香酚产物的差异。G134 vs G096 中最显著上调的代谢物是作为苯丙烷代谢途径产物的丁香酚，G134 中的丁香酚相对含量大于 G096；反式-肉桂酸（trans-cinnamic acid）、茴香脑（anethole）、4-烯丙基苯酚（phenol, 4-(2-propenyl)-）和草蒿脑含量则表现为下调（图 4B）。

2.7 转录组与差异基因分析

转录组分析结果显示，6 个丁香罗勒叶片样品分别获得 45 332 338~58 232 080 个 raw reads，过滤后分别得到 44 558 244~57 475 972 个 clean reads 和 6.68~8.62 Gb 的 clean base，所有样品错误率均为 0.01%。Q20 含量在 98.42%~98.85%之间，Q30 含量在 95.02%~96.31%之间，GC 含量在 47.27%~47.69%之间，表明转录组数据质量较高，可用于后续基因表达分析（表 3）。相关性分析显示样品重复性较好（图 5A）。G096 vs G134 中共鉴定出 54 936（上调基因 27 220 种，下调基因



A：差异 KEGG 通路富集分析；B：差异代谢物热图。
A: Differential KEGG pathway enrichment analysis.; B: Heatmap of differential metabolites.

图 4 KEGG 通路分析
Fig. 4 KEGG pathway analysis

表 3 丁香罗勒叶片转录组测序数据质量
Tab. 3 The quality of RNA-Seq data from *O. gratissimum* leaves

样品 Sample	原始数据 Raw reads	高质量数据 Clean reads	高质量碱基 Clean base/G	错误率 Error rate/%	Q20/%	Q30/%	GC/%
G096-1	58 232 080	57 475 972	8.62	0.01	98.81	96.21	47.69
G096-2	53 522 730	52 640 056	7.90	0.01	98.73	96.01	47.27
G096-3	46 193 624	45 592 580	6.84	0.01	98.85	96.31	47.29
G134-1	45 332 338	44 558 244	6.68	0.01	98.66	95.70	47.66
G134-2	54 556 914	53 732 500	8.06	0.01	98.42	95.02	47.50
G134-3	47 721 970	46 868 932	7.03	0.01	98.60	95.57	47.41

27 716 种) 种差异显著基因 (图 5C)。

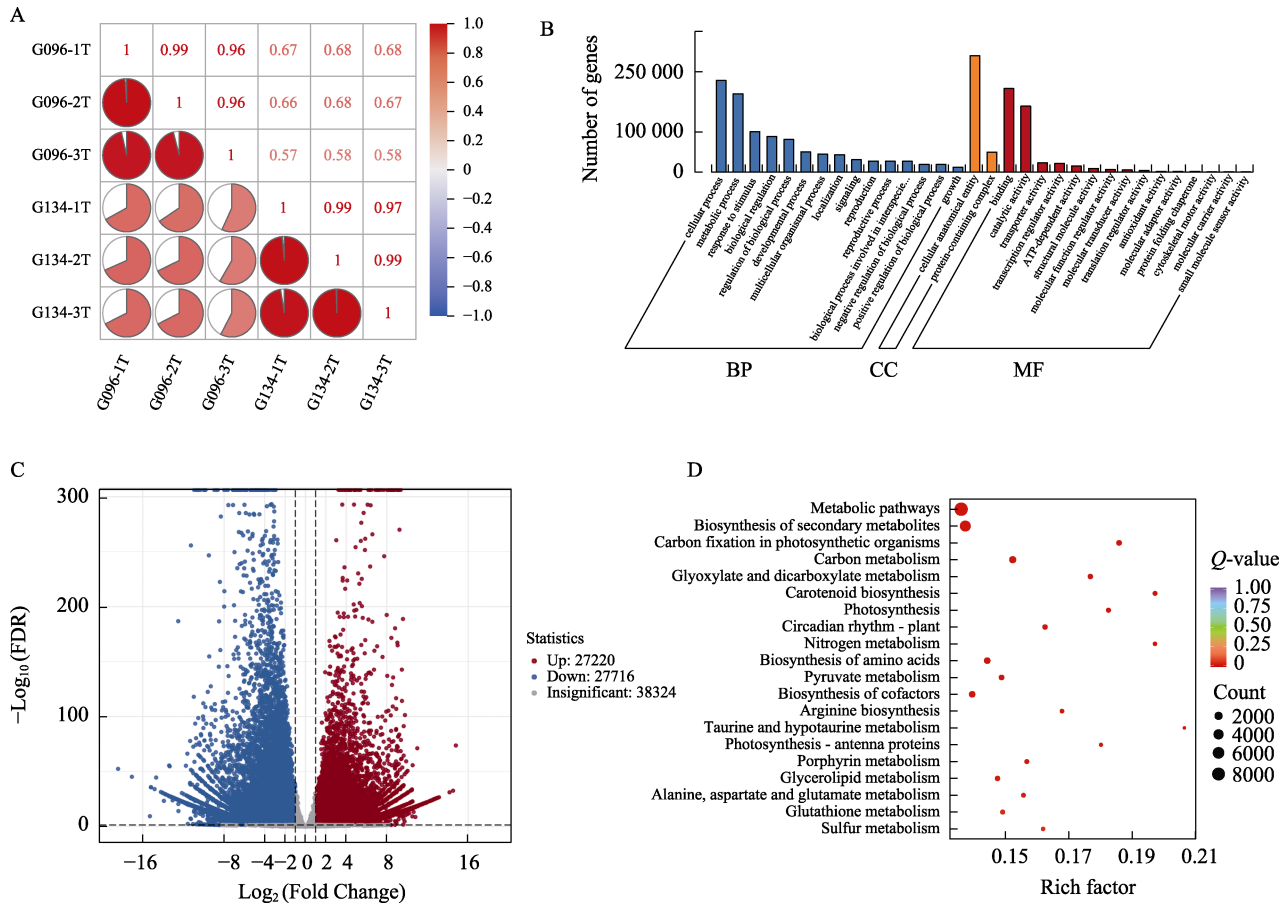
通过将 569 460 条 unigenes 比对至 KEGG、NR、SwissProt、KOG、GO 和 Pfam 等数据库, 匹配率结果分别为 50.46%、71.78%、50.92%、39.39%、61.99%和 36.57%。为进一步评估 2 种丁香罗勒中差异基因的生物學功能, 本研究对差异表达基因进行了差异基因的功能分布 (GO) 和代谢通路分析 (KEGG) 富集分析。GO 分析结果 (图 5B) 显示, 差异基因归类于生物过程 (biological process, BP)、细胞组成 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 3 个部分, 共有 353 027 个 unigenes 被归类于 GO 分类物, 生物过程中基因数量最多的为细胞过程 (cellular process, 27 258 个), 细胞组成中基因数量最多的为细胞解剖实体 (cellular anatomical entity) (34 695 个), 分子功能中基因数量最多的为结合功能相关基因 (binding, 24 303 个)。在差异表达过程中生物过程具有 32 675 个差异基因注释, 细胞组

成具有 34 873 个差异基因注释, 分子功能具有 34 180 个差异基因注释。

KEGG 富集结果显示, G096 vs G134 中富集 147 条代谢通路, 其中显著富集的 20 条代谢途径涉及新陈代谢 (metabolism) 的代谢途径、次级代谢产物的生物合成 (biosynthesis of secondary metabolites)、光合生物中的碳固定 (carbon fixation in photosynthetic organisms)、碳代谢 (carbon metabolism) 等代谢途径 (图 5D), 表明 2 个品种在基因表达层面的巨大差异。

2.8 代谢组和转录组联合分析

基于已鉴定的主要香味代谢挥发性有机化合物 (volatile organic compounds, VOCs), 确定差异代谢物为丁香酚, 因此本研究主要预测丁香酚的生物合成通路。由图 6A 可知, 丁香酚的生物合成在苯丙烷代谢途径中完成。由图 6B 可知, G134 vs G096 中最显著上调的是作为苯丙烷代谢途径产物的丁香酚, 而反式-肉桂酸、茴香脑、4-



A: 皮尔逊相关分析; B: GO 分析; C: 差异基因火山图; D: KEGG 富集分析。
A: Pearson correlation analysis; B: GO analysis; C: Volcano plot analysis of differential gene; D: KEGG enrichment analysis.

图 5 转录组分析

Fig. 5 Transcriptome analysis

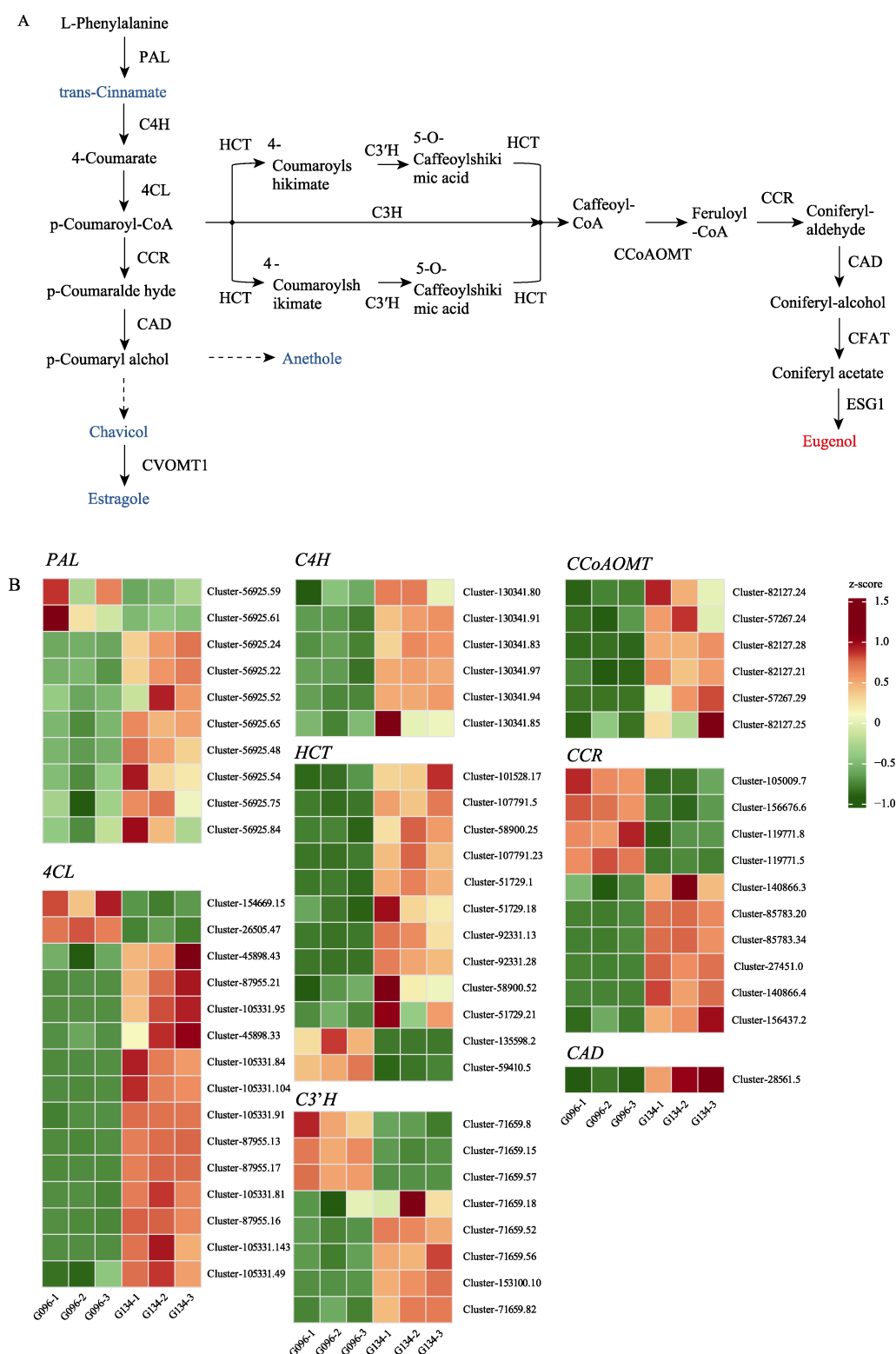


图 6 丁香酚合成途径通路结构 (A) 及基因表达模式 (B)
Fig. 6 Eugenol biosynthetic pathway architecture (A) and gene expression profiles (B)

烯丙基苯酚和草蒿脑则表现为下调。

2 种丁香罗勒差异表达基因中与酚类合成相关的结构基因有 10 个 *PAL*、6 个 *C4H*、15 个 *4CL*、12 个 *HCT*、8 个 *C3'H*、6 个 *CCoAOMT*、10 个

CCR 和 1 个 *CAD*。多数结构基因在 G134 中 high 表达, 少数基因在 G096 中 high 表达。因此差异基因 *PAL*、*C4H*、*4CL*、*HCT*、*C3'H*、*CCoAOMT*、*CCR* 和 *CAD* 是调控丁香酚代谢物积累的关键基因, 与

G096 相比, G134 中苯丙烷途径的关键基因 *4CL*、*HCT* 与 *CCR* 的表达量均呈现大于 10 倍的极显著上调, 因此 3 个基因的协同高强度表达是 G134 丁香酚高产性状的核心转录调控机制。

3 讨论

丁香罗勒作为药、食两用植物, 本身具有多种药用价值成分^[24], 国内的丁香罗勒主要为毛叶丁香罗勒, 研究主要集中在其化学成分的差异和药理活性方面^[25]。近年来本课题组从全球大量引进罗勒属种质资源, 从中筛选出的来自巴西的品种 G096, 其植株香味与 G134 相似, 均具有明显的丁香味。二者的外形存在显著差异, 且 G096 的种子浸水后不产生明显胶体, 干燥种子表面呈现深浅不一的小坑, 证实其为多糖胶合成缺陷型, 此为罗勒属内首次报道的突变体。基于 G096 品种的特殊性具有较大的研究价值, 本研究将该材料与国内的毛叶丁香罗勒 (G134) 进行比较研究, 为进一步丰富我国的丁香罗勒种质资源提供物质基础。

丁香酚具有抗菌、抗氧化、抗病毒等活性^[26], 本研究初期对挥发性化合物鉴定可知, 不同来源种质的丁香罗勒中的丁香酚含量差异巨大, G134 中的丁香酚相对含量为 13.12%; 而 G096 中主要代谢物为邻伞花烃 (26.22%), 未检测出丁香酚。已有研究报道, BENITEZ 等^[27]在哥伦比亚乔科省的样品中检出丁香酚 (43.2%)、1,8-桉油素 (12.8%) 与 β -蒎烯 (9.0%); SILVA 等^[16]报道巴西塞阿拉州丁香罗勒的丁香酚相对含量达 63.25%; 而王娟等^[17]对云南昆明引种丁香罗勒的研究表明, 其主要挥发性化合物为草蒿脑 (76.96%), 与本试验初期发现丁香罗勒的挥发性化合物存在明显差异结果一致。

HS-SPME-GC-MS 技术共鉴定出 1094 种挥发性代谢物, 其中 784 种为差异代谢物, 表明 2 种材料在次级代谢层面存在显著分化。值得注意的是, 在苯丙烷代谢途径中, 丁香酚、反式-肉桂酸、茴香脑、4-烯丙基苯酚和草蒿脑被确定为关键的差异代谢物。随后的 ROAV 分析进一步将复杂的代谢物数据与感官属性相关联, 确定出丁香味和茴香味是区分 2 种罗勒品种的关键香味特征。综合比较, 丁香酚不仅在差异代谢物列表中尤为突出, 其本身也是构成丁香味的核心物质, 因此最终确定丁香酚是丁香罗勒特征香味形成的最关键

差异代谢物。

本研究通过转录组分析成功鉴定出苯丙烷途径及其下游分支中与丁香酚合成相关的多个关键差异表达基因, 包括 *PAL*、*C4H*、*4CL*、*HCT*、*C3'H*、*CCoAOMT*、*CCR* 和 *CAD*, 这些基因协同表达共同调控从苯丙氨酸到苯丙烷类化合物的合成。其中, *4CL*、*HCT* 和 *CCR* 的酶活性与丁香酚的生物合成密切相关, 经 *4CL* 催化产生的对香豆酰-CoA 是合成丁香酚的直接前体物质, 是整个木质素和丁香酚分支的共同入口; *HCT* 通过“酯-酰基交换”循环, 成功将对香豆酰-CoA (单羟基) 转化为咖啡酰-CoA (2 个羟基, 其中 1 个被甲基化); 而 *CCR* 作为木质素特异合成途径的起始酶, 其表达模式的差异可能直接影响前体物质向丁香酚而非木质素方向的转化效率。本研究的丁香酚生物合成路径与 ANAND 等^[18]的报道基本一致, 均以 L-苯丙氨酸为起始前体。

综上所述, 本研究结合代谢组与转录组关联分析揭示了苯丙烷途径中多个关键差异表达基因的协同表达模式, 特别是明确了 *4CL*、*HCT* 和 *CCR* 在引导前体物质流向丁香酚合成中的核心作用, 为阐明丁香酚生物合成的分子调控机制提供了重要依据。本研究成果不仅深化对罗勒属植物香味形成机制的认识, 也为该物种的分子育种提供重要的候选基因库与理论支撑。后续研究可聚焦于关键基因, 如 *4CL*、*HCT* 与 *CCR* 的功能验证, 并借助分子标记辅助选择策略, 为高效选育高丁香酚含量丁香罗勒种质资源奠定基础。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1993.
Flora of China Editorial Committee of the Chinese Academy of Sciences. Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 1993. (in Chinese)
- [2] CAMLICA M, YALDIZ G. Basil (*Ocimum basilicum* L.): botany, genetic resource, cultivation, conservation, and stress factors[M]//Sustainable agriculture in the era of the OMICs revolution. Cham: Springer International Publishing, 2023: 135-163.
- [3] GURKAN H, HAYALOGLU A A. Changes in volatiles and essential oil composition of three organs (leaf, stem and flower) of purple basil (*Ocimum basilicum* L.) by GC-MS combined with multivariate statistical approach[J]. Food Chemistry Advances, 2023, 2: 100292.

- [4] KUMAR A, LAL R K. The consequence of genotype $\times$ environment interaction on high essential oil yield and its composition in clove basil (*Ocimum gratissimum* L.)[J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(6): 633-640.
- [5] NAHAK G, MISHRA R C, SAHU R K. Taxonomic distribution, medicinal properties and drug development potentiality of *Ocimum* (Tulsi)[J]. Drug Invention Today, 2011, 3(6): 95-113.
- [6] 国家中药学管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 精选本[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- State Administration of Traditional Chinese Medicine of China "Chinese Materia Medica" Editorial Committee. Chinese materia medica: selected edition[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1998. (in Chinese)
- [7] UGBOGU O C, EMMANUEL O, AGI G O, IBE C, EKWEOGU C N, UDE V C, UCHE M E, NAANNA R O, UGBOGU E A. A review on the traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.)[J]. Heliyon, 2021, 7(11): e08404.
- [8] 李庆研, 于建斌, 张江安, 陈琳, 王端. 肤舒止痒膏联合丁香罗勒油乳膏治疗疥疮瘙痒疗效观察[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2013, 27(4): 431-432.
- LI Q Y, YU J B, ZHANG J A, CHEN L, WANG T. Therapeutic effect of the combination of Fushu anti-itch ointment and *Ocimum* oil cream on the pruritus of patients with scabies[J]. The Chinese Journal of Dermatovenereology, 2013, 27(4): 431-432. (in Chinese)
- [9] 金维新, 孙少霞, 单燕梅, 李维芬, 王长埔, 王兆伦, 夏丽英, 陈雨振. 罗勒胶囊治疗女性排卵功能障碍性不孕症的临床观察[J]. 中医杂志, 1991, 32(2): 43-44.
- JIN W X, SUN S X, SHAN Y M, LI W F, WANG C Y, WANG Z L, XIA L Y, CHEN Y Z. Clinical observation on basil capsule in treating infertility caused by ovulatory dysfunction in women[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 1991, 32(2): 43-44. (in Chinese)
- [10] KALITA M, DEVI N, NARZARY D. *Ocimum gratissimum* L. ssp. *gratissimum* var. *macrophyllum* Briq. (Lamiaceae: Nepetoideae: Ocimeae) a new record from northeastern India[J]. Journal of Threatened Taxa, 2023, 15(10): 24086-24091.
- [11] OGENDO J O, KOSTYUKOVSKY M, RAVID U, MATASYOH J C, DENG A L, OMOLO E O, KARIUKI S T, SHAAAYA E. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products[J]. Journal of Stored Products Research, 2008, 44(4): 328-334.
- [12] DUNG P N T, DAO T P, LE T T, TRAN H T, DINH T T T, PHAM Q L, TRAN Q T, PHAM M Q. Extraction and analysis of chemical composition of *Ocimum gratissimum* L. essential oil in the north of Vietnam[J]. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2021, 1092: 12092.
- [13] 孙浩然, 曹磊, 陈伟楠, 闫子飞, 冷平生, 胡增辉. 4 种罗勒叶片挥发物比较分析[J]. 北京农学院学报, 2017, 32(1): 57-63.
- SUN H R, CAO L, CHEN W N, YAN Z F, LENG P S, HU Z H. Comparative analysis on the leaf volatiles of four *Ocimum* plants[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2017, 32(1): 57-63. (in Chinese)
- [14] MITH H, YAYI-LADÉKAN E, SIKAKPOVISSI S D, BOKOSSA I Y, MOUDACHIROU M, DAUBE G, CLINQUART A. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Ocimum basilicum*, *Ocimum canum* and *Ocimum gratissimum* in function of harvesting time[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2016, 19(6): 1413-1425.
- [15] ZOGHBI M G B, OLIVEIRA J, ANDRADE E H A, TRIGO J R, FONSECA R C M, ROCHA A E S. Variation in volatiles of *Ocimum campechianum* Mill. and *Ocimum gratissimum* L. cultivated in the North of Brazil[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2007, 10(3): 229-240.
- [16] SILVA J C, PEREIRA R L S, DE FREITAS T S, ROCHA J E, MACEDO N S, NONATO C F A, LINHARES M L, TAVARES D S A, CUNHA F A B, COUTINHO H D M, LIMA S G, JUNIOR F N P, RODRIGUES F F G, RODRIGUES F F G, SANTOS G J G. Evaluation of antibacterial and toxicological activities of essential oil of *Ocimum gratissimum* L. and its major constituent eugenol[J]. Food Bioscience, 2022, 50: 102128.
- [17] 王娟, 李晋华, 王婷婷, 黄建波, 熊桂华. 河南栽培罗勒和丁香罗勒的香气成分差异分析[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(19): 3650-3653.
- WANG J, LI J H, WANG T T, HUANG J B, XIONG G H. Differential analysis of the aroma components of *Ocimum basilicum* and *Ocimum gratissimum* in Henan[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(19): 3650-3653. (in Chinese)
- [18] ANAND A, JAYARAMAIAH R H, BEEDKAR S D, SINGH P A, JOSHI R S, MULANI F A, DHOLAKIA B B, PUNEKAR S A, GADE W N, THULASIRAM H V. Comparative functional characterization of eugenol synthase from four different *Ocimum* species: implications on eugenol accumulation[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Proteins and Proteomics, 2016, 1864(11): 1539-1547.
- [19] YANG J, ZHANG C, YU M, YUAN J, MAO Y, LIU M, LIU L, GUAN L. Comprehensive lipid profiling and metabolic pathway analysis of *Ocimum*: unveiling key variations and regulatory mechanisms for breeding and metabolic ex-

- ploration[J]. Food Bioscience, 2025, 66: 106275.
- [20] ZHOU Y, MA G, LI W, XIE L, ZHAN S, YAO X, ZUO Z, TIAN D. Analysis of volatile metabolome and transcriptome in sweet basil under drought stress[J]. Current Issues in Molecular Biology, 2025, 47(2): 117.
- [21] 刘登勇, 周光宏, 徐幸莲. 确定食品关键风味化合物的一种新方法: “ROAV”法[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 370-374. LIU D Y, ZHOU G H, XU X L. “ROAV” method: a new method for determining key odor compounds of Rugao ham[J]. Food Science, 2008, 29(7): 370-374. (in Chinese)
- [22] BUCHFINK B, XIE C, HUSON D H. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND[J]. Nature Methods, 2015, 12(1): 59-60.
- [23] VARET H, BRILLET-GUÉGUEN L, COPPÉE J Y, DILLIES M A. SARTools: a DESeq2-and EdgeR-based R pipeline for comprehensive differential analysis of RNA-Seq data[J]. PloS One, 2016, 11(6): e0157022.
- [24] MAHAJAN N, RAWAL S, VERMA M, PODDAR M, ALOK S. A phytopharmacological overview on *Ocimum* species with special emphasis on *Ocimum sanctum*[J]. Bio-medicine & Preventive Nutrition, 2013, 3(2): 185-192.
- [25] 喻学俭, 程必强. 毛叶丁香罗勒精油的化学成分分析[J]. 云南植物研究, 1986(2): 49-52. YU X J, CHENG B Q. Analysis of the chemical composition of the essential oil from *Ocimum gratissimum* var. *suave*[J]. Acta Botanica Yunnanica, 1986(2): 49-52. (in Chinese)
- [26] 杜丽霞, 占豪, 姜子涛. 调味香料丁香罗勒精油成分、抗氧化及抑菌活性[J]. 中国调味品, 2021, 46(4): 174-178, 182. DU L X, ZHAN H, JIANG Z T. The components, antioxidant and antibacterial activities of essential oil of flavoring spice *Ocimum gratissimum* L.[J]. China Condiment, 2021, 46(4): 174-178, 182. (in Chinese)
- [27] BENITEZ N P, MELÉNDEZ LEÓN E M, STASHENKO E E. Eugenol and methyl eugenol chemotypes of essential oil of species *Ocimum gratissimum* L. and *Ocimum campechianum* Mill. from Colombia[J]. Journal of Chromatographic Science, 2009, 47(9): 800-803.