

基于基因组重测序的沉香遗传多样性研究

苟志辉^{1,2}, 陈国德^{1,2}, 甄云楠³, 王鑫^{1,2}, 陈或^{1,2}, 田蜜^{1,2*}

1. 海南省林业科学研究院 (海南省红树林研究院), 海南海口 571100; 2. 海南省热带林业资源监测与应用重点实验室, 海南海口 571100; 3. 海口市湿地保护管理中心, 海南海口 571100

摘要: 对种质资源信息的掌握是土沉香遗传改良的基础, 而基因组重测序是种质资源遗传多样性分析的利器, 然而目前学术界缺乏利用基因组重测序对土沉香遗传多样性的研究。本研究在前期收集得到的沉香种质资源基础上, 采用基因组重测序, 获得 60 份沉香共 1284 Gb 重测序数据。利用沉香基因组, 共检测得到 6 713 166 个高质量变异位点, 其中 SNP 位点 6 284 344 个, Indel 位点 428 658 个。主成分分析、系统发育分析和遗传结构分析均表明, 沉香可分为 3 个显著群体 (Pop1、Pop2 和 Pop3), 其中 2 个群体可分别进一步划分为多个亚群。在 3 个群体中均检测到群体选择信号, 其中 Pop3 选择信号最多, 而核苷酸多态性计算结果表明, Pop3 的核苷酸多态性最低。本研究为探究沉香遗传资源多样性提供了有价值的信息, 并为基于基因组的沉香遗传育种奠定理论基础。

关键词: 沉香; 基因组重测序; 变异位点; 遗传多样性

中图分类号: S792.99 文献标志码: A

Genetic Diversity Studies on *Aquilaria sinensis* Based on Genome Resequencing

GOU Zhihui^{1,2}, CHEN Guode^{1,2}, ZHEN Yunnan³, WANG Xin^{1,2}, CHEN Yu^{1,2}, TIAN Mi^{1,2*}

1. Hainan Academy of Forestry (Hainan Academy of Mangrove), Haikou, Hainan 571100, China; 2. Key Laboratory of Tropical Forestry Resources Monitoring and Application of Hainan Province, Haikou, Hainan 571100, China; 3. Haikou City Wetland Protection and Management Center, Haikou, Hainan 571100, China

Abstract: Knowledge on germplasm resource information is the foundation for the genetic improvement of *Aquilaria sinensis*, and genome resequencing is a powerful tool for analyzing the genetic diversity of germplasm resources. However, there is no research on the genetic diversity of *A. sinensis* using genome resequencing. Based on the collection of *A. sinensis* germplasm resources in the early stages, this study utilized genome resequencing to obtain 1284 Gb of resequencing data from 60 samples of *A. sinensis*. Using the agarwood genome, 6 716 166 high-quality variation sites were detected, including 6 284 344 SNP sites and 428 658 Indel sites. Principal component analysis, phylogenetic analysis, and genetic structure analysis all indicated that *A. sinensis* could be divided into three distinct groups (Pop1, Pop2 and Pop3), with two of the groups further subdivided into multiple subgroups. Population selection signals were detected in all the groups, with Pop3 showing the highest frequency of selection signals. However, nucleotide polymorphism calculations indicated that Pop3 had the lowest nucleotide polymorphism. This study would provide valuable information for exploring the genetic resource diversity of *A. sinensis* and lay a theoretical foundation for genome-based genetic breeding of *A. sinensis*.

Keywords: *Aquilaria sinensis*; genome resequencing; variant site; genetic diversity

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.01.006

收稿日期 2024-08-09; 修回日期 2024-09-03

基金项目 海南省省属科研院所技术创新专项 (No. KYYSLK2023-006, No. SQ-KY2022-0032)。

作者简介 苟志辉 (1983—), 男, 硕士, 林业工程师, 研究方向: 遗传育种。*通信作者 (Corresponding author): 田蜜 (TIAN Mi), E-mail: mitian@hnaf.ac.cn。

沉香 (*Aquilaria sinensis*) 是瑞香科沉香属植物, 分布于我国海南、广东、广西、福建等南方地区, 是一种著名的产香植物。沉香主要由受伤或感染的木质部分分泌出的树脂形成, 这种独特的树脂在亚洲及中东文化中具有广泛的应用, 尤其是在中医和民族医学中具有独特的价值。在化学成分上, 沉香包含多种复杂的成分, 其中最关键的成分包括各类挥发性油和非挥发性树脂^[1]。沉香的主要化学成分是沉香醇、沉香烯和芳樟醇等芳香族化合物, 这些成分赋予了沉香独特的香气和药理特性。近年来的研究表明, 沉香具有显著的抗炎、镇痛、抗菌和镇静效果, 它还有抗抑郁和抗焦虑的作用, 有助于缓解精神压力和提升心情; 此外, 有研究表明, 沉香在提高免疫系统功能、治疗呼吸系统疾病等方面具有潜在效用^[2]。

近年来, 沉香结香方法的研究持续受到学术界和产业界的关注。传统上, 沉香是通过树干自然形成的树脂积累过程产生的, 但这一过程需要很长的时间, 且产量较低^[3]。因此, 科学家们一直在寻找加快沉香形成过程的有效方法, 如钻孔、切割、火烧等, 以满足市场对高品质沉香的需求^[4-5]。另一方面, 业内也关注沉香不同种质资源的结香效率和产率的区别, 以筛选出高效产香的沉香种质资源^[6]。因此, 系统评价沉香种质资源的遗传多样性具有极高的实际意义。然而, 由于沉香为乔木植物, 通过表型评价较难, 且由于结香困难, 通过结香效果评价沉香也存在一定的随机性。因此, 对沉香种质资源多样性的研究较为缓慢。

近些年, 香农在广东省和海南省发现了易结香的沉香品种 150 余个, 这些品种在种植 3 年后, 打孔造香, 2~3 年后即可采收, 产香数量较多。近年来, 多个团队采用分子标记的方式对沉香种质资源进行划分, 包括 ISSR、SRAP、AFLP 等^[5, 7-11]。随着基因组测序技术的发展, 较高质量的白木香基因组也得以测序并公布^[12-13]。这些基因组信息为采用基因组重测序的方式研究沉香种质资源的遗传多样性提供了机遇, 并为挖掘沉香品质相关基因以及研究沉香结香的分子机制提供了基因组学基础^[13-15]。事实上, 基于基因组、转录组等组学手段, 近年来沉香中一些重要基因也得以克隆, 沉香结香等相关的分子机制得到初步的阐释^[13, 16-19]。然而, 虽然基于基因组重测序的植物遗传多样性研究手段已经成熟, 然而鲜有将该方法应用于沉香种质资源多样性研究。

本团队前期开展了系统的沉香种质资源收集工作, 本研究在此基础上, 采用基因组重测序进行沉香的遗传多样性分析, 为沉香种质资源的整理及利用提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

在广东省和海南省收集沉香优异种质资源, 选取生长健壮且具有代表性的沉香单株 (表 1), 开展沉香遗传多样性研究。

表 1 沉香全基因组重测序样品
Tab. 1 Whole genome resequencing sample list
of *A. sinensis*

编号 No.	商品名 Trade name	编号 No.	商品名 Trade name	编号 No.	商品名 Trade name
CX1	西瓜叶	CX21	红骨尖叶	CX41	爆炸油
CX2	紫棋	CX22	糖结	CX42	流油王
CX3	土沉香	CX23	葡萄藤	CX43	皱耳子
CX4	翠绿	CX24	金勺	CX44	蜜香
CX5	鸭子绿	CX25	通心菜	CX45	金绿 (圆叶汝湖)
CX6	菩提绿	CX26	白露	CX46	金鸡尾
CX7	透项绿	CX27	黄金叶	CX47	陆河
CX8	子弹头	CX28	金砂叶	CX48	虎头口
CX9	黑珍珠	CX29	油勺	CX49	红叶子
CX10	张勺子	CX30	汝湖	CX50	软地龙
CX11	指天椒	CX31	铁勺	CX51	大叶波浪
CX12	开门笑	CX32	香使 1 号	CX52	白棋
CX13	香誉	CX33	爆皮王	CX53	根脉大叶
CX14	根脉	CX34	波浪子	CX54	尖尾子
CX15	金丝油	CX35	油叶子	CX55	棋楠壹号
CX16	凹身 (红骨)	CX36	香油王 (香霸)	CX56	虎斑奇
CX17	张勺波浪	CX37	秒沉	CX57	凤凰尾
CX18	蓝宝石	CX38	东江绿 (大叶婆)	CX58	冠绿
CX19	香使 2 号	CX39	绿油王	CX59	黑奇
CX20	红宝石	CX40	樱桃叶	CX60	树心油

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取、测序和质控 采集沉香叶片, 采用改良的 CTAB 法提取基因组 DNA。采用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 质量, 采用 NanoDrop 测定基因组 DNA 的浓度和纯度。使用 DNBSEQ-T7 测序仪将检测合格的 DNA 上样进行建库、测序。测序数据下机, 共得到 1284 Gb 的

clean data 数据 (paired-end reads), 平均测序深度为 44.32 X。对 clean data 的 fastq 文件进行质控, clean data 的重测序 reads 多数位置 quality score 均高于 35, 表明 clean data 的 reads 有较高的质量, 满足后续分析重测序分析的要求。采用 fastp 对通过数据质控的重测序数据进行进一步过滤和校正, 主要目的如下: 去重复、去接头、过滤掉碱基质量值低于 Q_{20} 的比例达到 20% 以上的 read, 切掉序列上游的 10 个碱基, 去除 N 碱基大于 5 的一对 reads。同时进行 overlap 对碱基进行校正。重复 reads 检测结果表明, 有 0.19% 的 reads 重复^[19]。在此步骤, 删除所有重复的 reads, 以保证每个样本中所有 reads 仅为 1 个拷贝。此外, 有 1.28% 的数据得到校正, 2.01% 的低质量数据得到删除。

1.2.2 变异位点检测和筛选 将质控、过滤、校正后的 reads 比对到沉香基因组上。采用 deepvariant 进行变异检测, 过滤低质量的变异位点, 保留的变异位点标准如下: 缺失率小于 20%、DP 在 5~100 范围内、QD 大于 40、位点质量值 Qual 值大于 40^[20]。在此基础上, 过滤掉 MAF 小于 0.05、位点缺失率大于 20%、哈-温平衡检验 P 值小于 0.001 的位点, 并且只保留二等位点, 最终筛选得到高质量变异位点。

1.2.3 遗传多样性分析 对二次过滤之后的标记进行连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD) 分析, 输出 R^2 表示 LD 的程度。依据 LD 分析结果, 对 vcf 文件中所有标记进行筛选, 以 50 个标记的窗口大小, 10 为步长, R^2 为 0.2 作为阈值进行筛选 (根据 LD 衰减图认为此时两两位点间的连锁程度比较低)。利用这些筛选后的标记进行后续的群体结构的分析。利用筛选后的位点, 基于样本的 SNP 信息进行 PCA 分析^[21]。采用 Admixture 软件进行群体结构的分析, 分别运行 K 从 2 到 6 的运算, 最终对每个 K 值分析中的交叉验证误差 (cross-validation error) 进行分析^[22]。

1.2.4 群体选择信号检测 复合似然比检验 (composite likelihood ratio, CLR) 主要用来检测群体内的选择信号。本研究基于多位点频率的检测方法即 SFS (site frequency spectrum), 使用 SweeD 软件 (4.0.0) 计算 CLR (composite likelihood ratio)^[23]。以 20 Kb 为窗口划分窗格, 计算 CLR, 筛选前 5% 的选择信号。

核苷酸多态性 (π) 是衡量特定群体多态性高低的参数, 是指在同一群体中随机挑选的 2 条

DNA 序列在各个核苷酸位点上核苷酸差异的均值。 π 值越大, 说明其对应的亚群多态性越高。用 VCFtools 软件, 以 200 Kb 为窗口大小, 20 Kb 为步长进行滑窗计算 3 个群体 π 值, 并统计每个群体的 π 值, 采用 R 绘制箱线图^[24]。

2 结果与分析

2.1 多态性位点检测

采集本团队前期收集得到的 60 份沉香样品叶片, 进行基因组重测序。测序完成数据下机后, 共得到 1284 Gb 的 clean data 数据 (paired-end reads), 平均测序深度为 44.32 X。去接头后, 对测序数据进行质控、过滤、校正, 将 reads 比对到沉香基因组上, 进行变异检测, 共检测到变异位点 16 573 226 个。对低质量的变异位点进行过滤, 获得 SNP 位点 6 284 344 个, Indel 位点 428 658 个, SV 位点 164 个。变异位点在各染色体的分布如表 2 所示。

表 2 不同类型变异在沉香各染色体中数目统计
Tab. 2 Statistics on number of different types of mutations in each chromosome of *A. sinensis*

染色体 Chromosome	SNP	INDEL	SV	合计 Total
Scaffold_5532	1 105 834	79 691	28	1 185 553
Scaffold_15334	872 169	54 306	19	926 283
Scaffold_3585	799 930	54 093	21	854 255
Scaffold_10796	792 325	52 121	14	838 629
Scaffold_10433	734 212	50 351	30	784 593
Scaffold_10546	663 740	47 264	15	715 875
Scaffold_9996	658 712	46 286	18	705 991
Scaffold_8152	487 416	38 222	16	525 654
others	170 006	6 324	3	176 333
总计	6 284 344	428 658	164	6 713 166

考察 SNP 位点在染色体不同区域的分布发现, SNP 在着丝粒区域密度较低, 而 SNP 的分布在各染色体呈现顺着着丝粒位置向两侧密度逐渐增强的趋势; 着丝粒外的区域中, 有小片段的 SNP 密度较低的区域存在。其中, Scaffold_9996 和 Scaffold_8152 两条染色体上存在极大片段的低密度 SNP 位点 (4000/1 Mb) 区域 (图 1)。

SNP 和 Indel 在沉香基因组区域中的分布如图 2 所示, SNP 和 Indel 在基因组中的分布趋势基本一致, 即 SNP 密度高的区域 Indel 密度也较高, 表明容易发生单核苷酸突变的基因组区域也较容易发生插入/缺失突变。

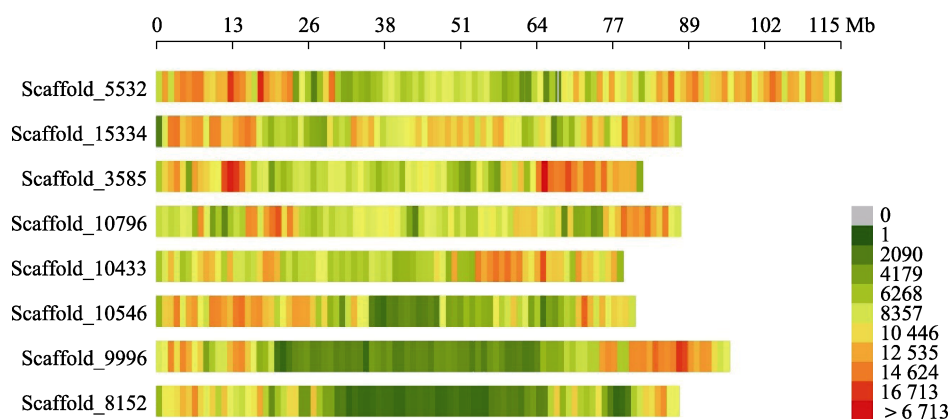


图 1 SNP 位点在沉香染色体不同区域的分布密度

Fig. 1 Distribution density of SNP loci in different regions of *A. sinensis* chromosome

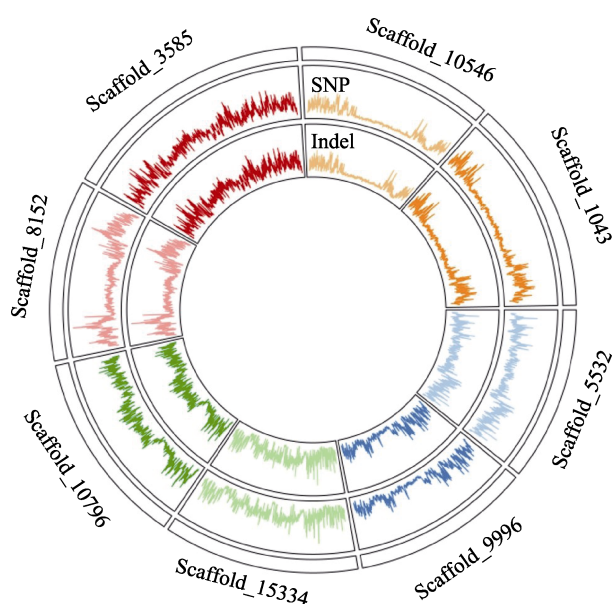


图 2 SNP 位点和 Indel 位点在沉香染色体分布

Fig. 2 Distribution of SNP loci and Indel loci on *A. sinensis* chromosome

2.2 主成分分析

利用筛选后的位点,基于本项目 60 个群体样本的变异信息进行主成分分析(PCA),并对 PCA 结果进行分群,结果如图 3 所示。第一主成分和第二主成分分别解释了总遗传变异的 10.78%和 8.72%,表明 PCA 分析结果可靠。基于 PCA 分析,60 个沉香样本可分为 3 个群体。

2.3 系统发育分析

利用 SNP 信息对沉香样本开展系统发育分析,结果如图 4 所示。基于系统发育分析结果,60 份沉香样本可分为 3 个群体,该结果与 PCA 分析结果一致。此外,POP1 至少可以进一步分为 4 个亚群体,而 POP2 可进一步分为 3 个亚群体。

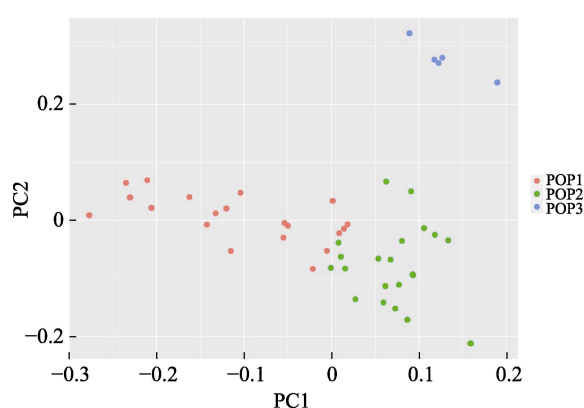


图 3 60 个沉香样本的主成分分析

Fig. 3 Principal component analysis of 60 *A. sinensis* samples

2.4 遗传成份分析

采用 Admixture 软件进行群体结构的分析,分别运行了 K 从 2 到 6 的运算,最终对每个 K 值分析中的交叉验证误差 (cross-validation error) 进行分析。基于分析结果,开展 STRUCTURE(遗传结构)分析,结果如图 5 所示。

当 K=3 时,样本的分组与 PCA 分析和系统发育分析结果一致。因此,PCA 分析、系统发育分析以及遗传结构分析结果均表明,易结香沉香资源可分为 3 个群体。此外,遗传结构分析结果表明,POP3 的遗传背景较为单纯,而 POP1 和 POP2 间存在较为频繁的遗传信息交流。当 K=4、5、6 时,POP1 和 POP2 可进一步分为多个亚群体,该结果与系统发育分析结果一致。

2.5 群体选择信号筛选

采用复合似然比检验检测沉香 3 个群体内的选择信号。以 20 Kb 为窗口划分窗格,获得前 5% 的选择信号,如图 6 所示。POP1 中共检测到 3

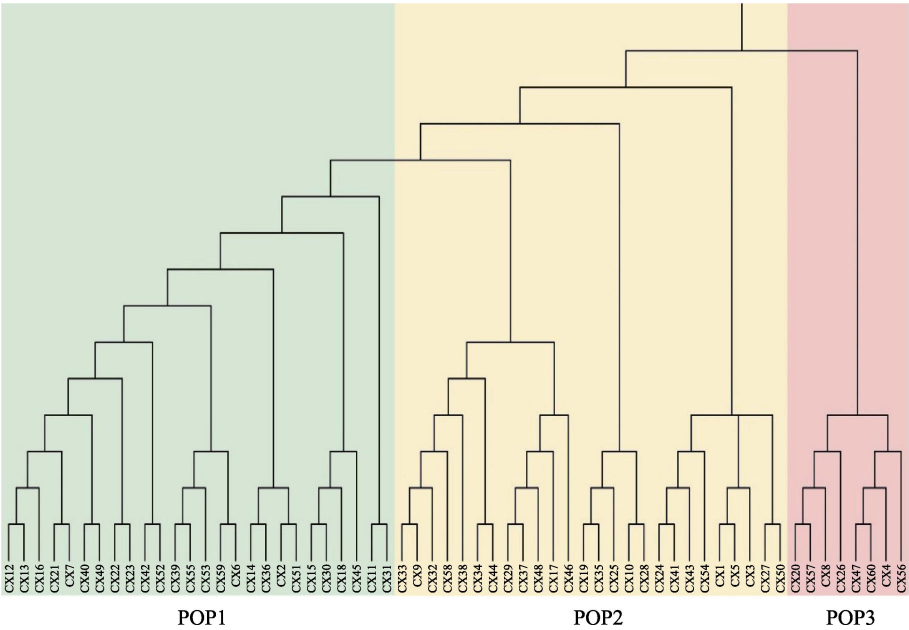


图 4 基于 SNP 的沉香资源聚类结果

Fig. 4 Clustering results of *A. sinensis* resources based on SNP

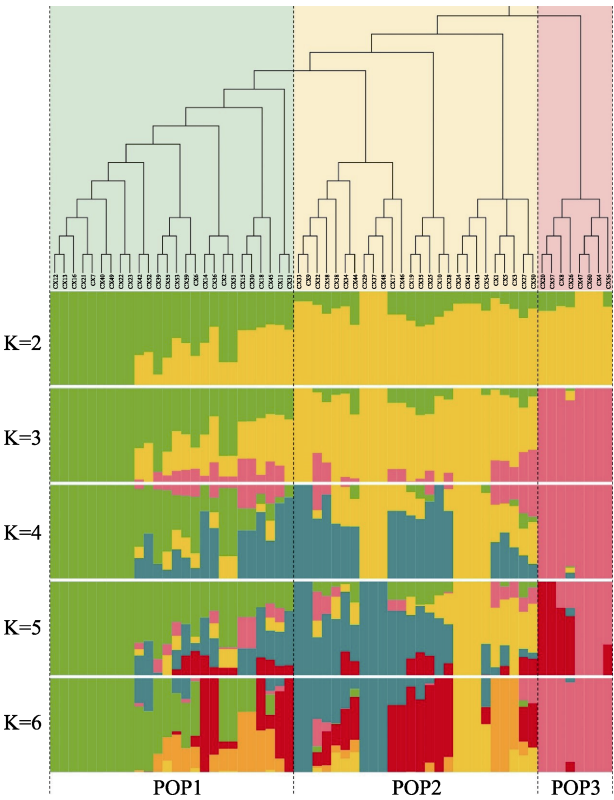


图 5 沉香资源遗传结构

Fig. 5 Genetic structure of *A. sinensis* resources

个信号，其中在 Scaffold_10796 中检测得到 2 个信号，在 Scaffold_10546 中检测到 1 个信号。在 POP2 中，也检测到 3 个信号，分别分布于 Scaffold_15334、Scaffold_10796 和 Scaffold_3585 中。在 Pop3 中共检测到 53 个选择信号，且在各

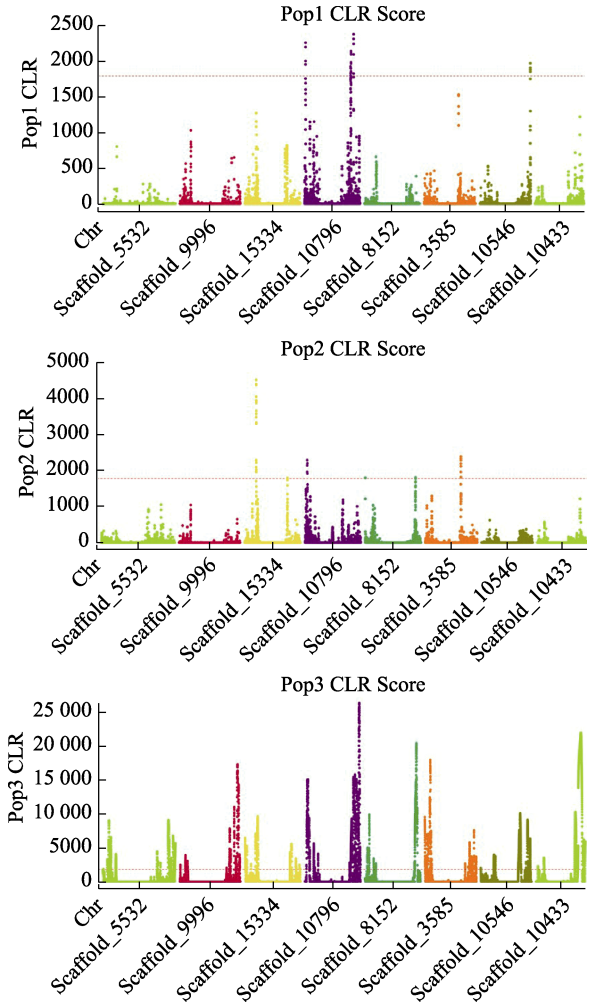


图 6 沉香 3 个群体选择信号

Fig. 6 Selection signals of three groups of *A. sinensis* resources

染色体上均有分布,表明 POP3 群体受到强烈的选择。分别计算 3 个沉香群体的 π 值,以 200 Kb 为窗口大小,20 Kb 为步长进行滑窗,获得统计结果如图 7 所示。结果表明 POP3 的核苷酸多态性最低。

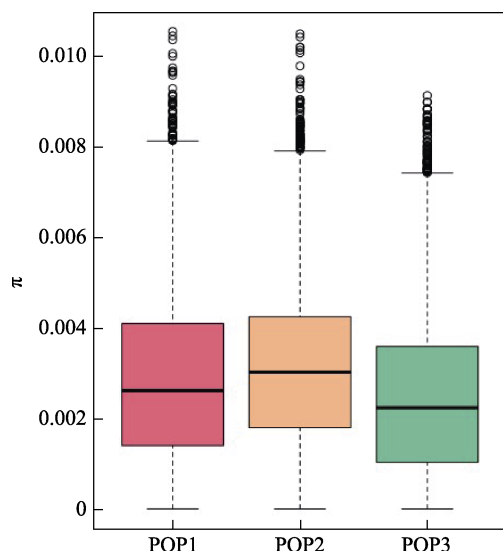


图 7 沉香 3 个群体多态性位点统计
Fig. 7 Statistics of polymorphic loci in three populations of *A. sinensis*

3 讨论

近年来,基因组重测序技术在种质资源多样性研究中具有广泛应用。该技术可以用于分析种群的遗传结构和基因流动情况,了解种群内部的遗传变异和遗传分化情况。这对于保护和利用种质资源、制定合理的保护策略具有重要意义^[25-26]。通过比较具有不同表型的个体基因组,可以找到与抗病性、产量、品质等性状相关的基因,为种质资源的改良提供分子标记^[24-25]。基于重测序数据的遗传多样性分析结果可以用于基因组选择和分子标记辅助育种,通过标记与目标性状相关的基因,提升育种效率,加速育种进程^[26]。因此,基因组重测序能够提供沉香高分辨率的遗传信息,为沉香种质资源的保护、利用和改良提供科学依据。

本研究从 PCA、系统发育分析、遗传结构分析等多个角度,分析沉香的遗传多样性。各种分析结果的一致性可说明种质资源间遗传关系的信任度^[27-28]。本研究分析表明,PCA、系统发育分析、遗传结构分析结果一致,这一方面表明本研究分析结果可靠,另一方面沉香种质资源可稳定、

明确地分为 3 个群体。因此,在杂种优势的利用上,可考虑在这 3 个群体间选择不同的亲本构建沉香的杂交群体,从而选择高产、优质、易结香的沉香品种^[29]。

本研究基于沉香基因组重测序以及沉香基因组序列,获得了超过 600 万个高质量的 SNP 位点,以及超过 40 万个 Indel 位点。已有多项研究表明,基于基因组重测序的遗传多样性分析更加精准、全面。本研究采用丰富的 SNP 位点对沉香的遗传多样性进行了分析,并对群体选择信号进行了系统检测。然而,这些多态性位点的价值不仅限于遗传多样性分析。利用这些位点以及相关的醇提遗传分析结果,可以开展沉香的基因组辅助育种,还可以鉴定影响沉香品质、产量的关键基因,提高沉香育种效率。本研究为开展沉香的遗传多样性及基于基因组的沉香育种提供理论基础。

参考文献

- [1] 郭晓玲,田佳佳,高晓霞,钟兆健,严寒静,章卫民.不同产区沉香药材挥发油成分 GC-MS 分析[J]. 中药材, 2009, 32(9): 1354-1358.
GUO X L, TIAN J J, GAO X X, ZHONG Z J, YAN H J, ZHANG W M. GC-MS analysis of volatile oil components in aquilaria from different producing areas[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2009, 32(9): 1354-1358. (in Chinese)
- [2] 李红念,梅全喜,林焕泽,吴惠妃.沉香的化学成分、药理作用和临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2011, 22(35): 3349-3351.
LI H N, MEI Q X, LIN H Z, WU H F. Research progress on the chemical components, pharmacological effects, and clinical applications of agarwood[J]. China Pharmacy, 2011, 22(35): 3349-3351. (in Chinese)
- [3] 黄俊卿,魏建和,张争,杨云,刘洋洋,孟慧,张金莲.沉香结香方法的历史记载、现代研究及通体结香技术[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(3): 302-306.
HUANG J Q, WEI J H, ZHANG Z, YANG Y, LIU Y Y, MENG H, ZHANG J L. Historical records, modern research, and whole-body agarwood incense technology[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(3): 302-306. (in Chinese)
- [4] 梅文莉,左文健,杨德兰,董文化,戴好富.沉香结香机理、人工结香及其化学成分研究进展[J]. 热带作物学报, 2013, 34(12): 2513-2520.
MEI W L, ZUO W J, YANG D L, DONG W H, DAI H F. Advances in the mechanism, artificial agarwood-induction

- techniques and chemical constituents of artificial agarwood production[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(12): 2513-2520. (in Chinese)
- [5] 杨春勇, 李海涛, 李学兰, 高微微. 栽培沉香遗传多样性的 ISSR 和 AFLP 分析比较[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(3): 553-559.
- YANG C Y, LI H T, LI X L, GAO W W. Comparative analysis of cultivated *Aquilaria* Lam. using ISSR and AFLP[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(3): 553-559. (in Chinese)
- [6] WANG Y C, HUSSAIN M, JIANG Z B, WANG Z H, GAO J, YE F X, MAO R Q, LI H. *Aquilaria* species (Thymelaeaceae) distribution, volatile and non-volatile phytochemicals, pharmacological uses, agarwood grading system, and induction methods[J]. Molecules, 2021, 26(24): 7708-7708.
- [7] 蒋开彬, 祝文娟, 潘文, 何紫迪, 朱报著. 基于 SRAP 标记的土沉香遗传多样性分析[J]. 中南林业科技大学学报, 2020, 40(1): 131-136.
- JIANG K B, ZHU W J, PAN W, HE Z D, ZHU B Z. Analysis of genetic diversity of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg based on SRAP markers[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2020, 40(1): 131-136. (in Chinese)
- [8] 蒋谦才, 谭宗健, 廖浩斌, 刘盼盼, 孙红梅, 王瑞江, 王峥峰. 广东省中山市五桂山土沉香遗传多样性[J]. 广西植物, 2018, 38(6): 804-811.
- JIANG Q C, TAN Z J, LIAO H B, LIU P P, SUN H M, WANG R J, WANG Z F. Genetic diversity of *Aquilaria sinensis* in Wuguishan, Zhongshan, Guangdong province[J]. Guihaia, 2018, 38(6): 804-811. (in Chinese)
- [9] 杨云, 张争, 陈波, 孟慧. 基于白木香 ESTs 的沉香属 SSR 分子标记引物筛选[J]. 江西农业学报, 2014, 26(5): 76-79.
- YANG Y, ZHANG Z, CHEN B, MENG H. Screening of SSR molecular marker primer in *Aquilaria* according to ESTs of *Aquilaria sinensis*[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2014, 26(5): 76-79. (in Chinese)
- [10] 于彤. 基于 ISSR 分子标记土沉香遗传多样性评价及重要性状关联分析[D]. 南宁: 广西大学, 2022.
- YU T. Genetic diversity evaluation and association analysis of important traits based on ISSR molecular markers in soil agarwood[D]. Nanning: Guangxi University, 2022. (in Chinese)
- [11] 于彤, 申文辉, 覃日亮, 韦文龙, 李俊晓, 谭长强, 郝海坤. 基于 ISSR 分子标记技术的土沉香遗传多样性分析[J]. 广西林业科学, 2023, 52(6): 726-732.
- YU T, SHEN W H, QIN R L, WEI W L, LI J X, TAN C Q, HAO H K. Analysis of genetic diversity in soil agarwood based on ISSR molecular marker technology[J]. Guangxi Forestry Science, 2023, 52(6): 726-732. (in Chinese)
- [12] DING X P, MEI W L, LIN Q, WANG H, WANG J, PENG S Q, LI H L, ZHU J H, LI W, WANG P, CHEN H Q, DONG W H, GUO D, CAI C H, HUANG S Z, GUI P, DAI H F. Genome sequence of the agarwood tree *Aquilaria sinensis* (Lour.) Spreng: the first chromosome-level draft genome in the Thymelaeaceae family[J]. GigaScience, 2020, 9(3): g10013.
- [13] NONG W Y, LAW S T S, WONG A Y P, BARIL T, SWALE T, CHU L M, HAYWARD A, LAU D T W, HUI J H L. Chromosomal-level reference genome of the incense tree *Aquilaria sinensis*[J]. Molecular Ecology Resources, 2020, 20(4): 971-979.
- [14] ADMS A, JOHANNA A, OSVAL A M L, JULIO I Y S, JAVIER F G, WULETAW T, RAMESH R V, ANDERS S C, ALF C, JOSE C, RODOMIRO O, AAKASH C. Genomic selection in plant breeding: key factors shaping two decades of progress[J]. Molecular Plant, 2024, 17(4): 552-578.
- [15] SONG B, NING W D, WEI D, JIANG M Y, ZHU K, WANG X W, EDWARDS D, ODENY D A, CHENG S F. Plant genome resequencing and population genomics: current status and future prospects[J]. Molecular Plant, 2023, 16(8): 1252-1268.
- [16] DAS A, BEGUM K, AKHTAR S, AHMED R, TAMULI P, KULKARNI R, BANU S. Genome-wide investigation of Cytochrome P450 superfamily of *Aquilaria agallocha*: association with terpenoids and phenylpropanoids biosynthesis[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 234: 123758.
- [17] DAS A, BEGUM K, AKHTAR S, AHMED R, KULKARNI R, BANU S. Genome-wide detection and classification of terpene synthase genes in *Aquilaria agallochum*[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2021, 27(8): 1-19.
- [18] WANG A J, LIU J, HUANG L Q. Comparative analysis of metabolome and transcriptome in different tissue sites of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg[J]. Molecules, 2024, 29(5): 1075.
- [19] XU J R, DU R Y, WANG Y, CHEN J H. Wound-induced temporal reprogramming of gene expression during agarwood formation in *Aquilaria sinensis*[J]. Plants, 2023, 12(16): 2901.
- [20] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, GU J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics (Oxford, England), 2018, 34(17): 1884-1890.
- [21] YUN T D, LI H L, CHANG P C, LIN M F, CARROLL A, MCLERN C Y. Accurate, scalable cohort variant calls using DeepVariant and GLnexus[J]. Bioinformatics, 2021, 36(24): 5582-5589.

- [22] SHARMA T R, DEVANNA B N, KIRAN K, SINGH P K, ARORA K, JAIN P, TIWARI I M, DUBEY H, SAKLANI B, KUMARI M, SINGH J, JASWAL R, KAPOOR R, PAWAR D V, SINHA S, BISHT D S, SOLANKE A U, MONDAL T K. Status and prospects of next generation sequencing technologies in crop plants[J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2018, 27(1): 1-36.
- [23] PAVLIDIS P, ZIVKOVIC D, STAMATAKIS A, ALACHIOTIS N. SweeD: likelihood-based detection of selective sweeps in thousands of genomes[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(9): 2224-2234.
- [24] DANECEK P, AUTON ADAM, ABECASIS G, ALBERS C A, BANKS E, DEPRISTO M A, HANDSAKER R E, LUNTER G, MARTH G T, SHERRY S T, MCVEAN G, DURBIN R. The variant call format and VCFtools[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(15): 2156-2158.
- [25] JEON J Y, SHIN Y, MULARO A J, FENG X, DEWOODY J A. The integration of whole-genome resequencing and ecological niche modelling to conserve profiles of local adaptation[J]. *Diversity and Distributions*, 2024, 30(6):1-15.
- [26] ZENDA T, LIU S T, DONG A Y, LI J, WANG Y F, LIU X Y, WANG N, DUAN H J. Omics-facilitated crop improvement for climate resilience and superior nutritive value[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 2770.
- [27] KHANH L N, ALEXANDRE G, BRIGITTE C, PASCAL G. Next-generation sequencing accelerates crop gene discovery[J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 24(3): 263-274.
- [28] GAUT B S, SEYMOUR D K, LIU Q G, ZHOU Y F. Demography and its effects on genomic variation in crop domestication[J]. *Nature Plants*, 2018, 4(8): 512-520.
- [29] 刘娟. 全球沉香资源的分布与结香方法的研究现状[J]. *中国食品药品监管*, 2020(12): 100-104.
- LIU J. Current research status on the distribution of global agarwood resources and methods of agarwood formation[J]. *China Food and Drug Administration*, 2020(12): 100-104. (in Chinese)