

经不同方法干燥的苦水玫瑰品质的综合评价[J]. 中成药, 2021, 43(5): 1241-1248.

[11] 张志鹏, 邓李红, 李美洲, 等. 基于化学模式识别和熵权 TOPSIS 法分析槐角不同部位的差异[J]. 中药材, 2021, 44(6): 1415-1421.

[12] 苏建芬. 基于指纹图谱及多元统计分析评价藿香清胃片质量[J]. 中国药师, 2022, 25(9): 1661-1666.

[13] 李 媚, 陈盛君, 王协和, 等. 广藿香 UPLC 指纹图谱研究及基于网络药理学的广藿香潜在质量标志物预测[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2665-2677.

[14] 毕 丹, 张水英, 任 晋, 等. 超高效液相色谱法同时测定广藿香中 6 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(8): 1331-1336.

[15] 潘艳琳, 程心玲, 肖 淋, 等. HPLC 法同时测定藿砂颗粒中 7 种成分[J]. 中成药, 2019, 41(9): 2049-2052.

[16] 李洪彬, 赵兴奎, 王 静. HPLC 一测多评法同时测定金蓝清瘟合剂中 8 种成分含量[J]. 药学与临床研究, 2020, 28(2): 105-109.

[17] 林钦贤, 梁伟龙, 王 斌, 等. 基于灰色关联分析法评价广藿香药材质量[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(2): 213-218; 263.

[18] 张颖梅, 陈海明, 吴晓丽, 等. HPLC 同时测定广藿香中雷杜辛黄酮醇及广藿香酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 160-163.

[19] 甄亚钦, 田 伟, 王迎春, 等. HPLC 波长切换法同时测定广藿香配方颗粒中咖啡酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷和广藿香酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 79-83.

基于流式细胞术与基因组 Survey 分析白及基因组大小及特征

杨 渊¹, 黄明进^{1*}, 王大昌¹, 阮宝丽¹, 杨秋悦¹, 杨 洋¹, 罗影子¹, 覃玉强²
(1. 贵州大学农学院, 贵州大学石斛研究院, 贵州省药用植物繁育与种植重点实验室, 贵州 贵阳 550025;
2. 贵州创禾源农业科技有限公司, 贵州 贵阳 550025)

摘要: **目的** 研究白及的核型、基因组大小等特征信息。**方法** 双色荧光原位杂交分析白及的染色体核型; 以番茄为内参, 流式细胞术检测白及基因组大小; 基因组 Survey 分析获得白及基因组大小、杂合率、GC 含量等生物学信息。**结果** DAPI 荧光染色及端粒荧光原位杂交发现白及染色体为二倍体, 染色体类型为 sm 和 st 型, 核型类型为 2C。rDNA 荧光原位杂交发现白及染色体有 1 对显示较强的 5S rDNA 位点和 1 对 18S rDNA 位点, 5S rDNA 位点位于 2 个同源染色体间隙, 18S rDNA 位点位于染色体短臂的次缢痕部位。白及基因组大小为 2.37 Gb, 同时全基因 Survey 分析得到有效数据 60.11 Gb, 经过 K-mer 分析修正及 Genomescope 评估, 白及基因组大小约为 2.53 Gb, 杂合率约为 1.099%, 重复序列约占 67.45%, GC 含量为 36.11%, 总测序深度为 23.73。**结论** 本研究首次获得白及基于 5S rDNA 和 18S rDNA 荧光原位杂交核型及增补了白及属植物的基因组大小数据, 为白及后续的物种分类、种群进化研究及全基因组测序、组装及去冗余处理等工作提供基础参考数据。

关键词: 白及; 基因组调查; 流式细胞术; K-mer 分析; 双色荧光原位杂交

中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2023)11-3677-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.11.028

Analysis of genome size and characteristics of *Bletilla striata* based on flow cytometry and genomic survey

YANG Yuan¹, HUANG Ming-jin^{1*}, WANG Da-chang¹, RUAN Bao-li¹, YANG Qiu-yue¹,
YANG Yang¹, LUO Ying-zi¹, QIN Yu-qiang²
(1. College of Agriculture, Guizhou University, The Dendrobium Research Institute of Guizhou University, Guizhou Key Laboratory of Medicinal Plant

收稿日期: 2022-08-31
基金项目: 贵州省科学技术厅项目 (黔科合支撑 [2021] 246 号); 贵州创禾源中药产业创新发展项目 (创禾源科技合同 [2021] 001 号)
作者简介: 杨 渊 (1998—), 女, 硕士生, 从事药用植物栽培学研究。Tel: 18385839833, E-mail: 2468432646@qq.com
* 通信作者: 黄明进 (1981—), 男, 博士, 副教授, 从事药用植物栽培与开发利用研究。Tel: 18798888615, E-mail: hmjctm@163.com

Breeding and Planting, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Chuangheyan Agricultural Technology Co., Ltd., Guiyang 550025, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the karyotype, genome size and other characteristics information of *Bletilla striata* (Thumb.) Reich b. f.. **METHODS** *B. striata* had its karyotype analyzed by two-color fluorescent *in situ* hybridization (FISH); its genome size estimated by flow cytometry, with tomato as an internal reference; its biological information about genomic size, heterozygosity rate, GC content, *etc.* by genomic survey analysis. **RESULTS** DAPI fluorescence staining and FISH of telomere revealed that *B. striata* sm and st diploid chromosomes possessing karyotype 2C, with one pair strongly displaying 5S rDNA sites in the gap between two homologous chromosomes, and one pair of 18S rDNA sites in the secondary constriction site of the short arm of the chromosome analyzed by RDNA FISH. After K-mer analysis correction and Genoscope evaluation, *B. striata*'s 2.37 Gb genome size and 60.11 Gb effective data revealed by whole gene survey analysis turned out to be 2.53 Gb genome size, coexisting with 1.099% heterozygous rate, 67.45% repetitive sequences, 36.11% GC content, and 23.73 total sequencing depth. **CONCLUSION** Through this study, *B. striata* had its karyotype determined based on 5S rDNA and 18S rDNA FISH, and its genome size data supplemented for the first time, providing basic reference data for species classification, population evolution research, whole genome sequencing, assembly and redundancy processing of *B. striata*. **KEY WORDS:** *Bletilla striata* (Thumb.) Reich b. f.; genomic investigation; flow cytometry; K-mer analysis; two-color fluorescence *in situ* hybridization

白及为兰科白及属植物，具收敛止血、消肿生肌的功效^[1]。我国产有黄花白及、小白及、华白及、白及^[2]。近年来白及的研究逐渐增多^[3-7]，但由于缺乏基因组序列研究数据，白及的分子生物学研究水平进展缓慢。白及的细胞遗传学研究主要集中在染色体水平上，研究发现白及的染色体为二倍体，其中核型类型有中部（m）、近中部（sm）和近端（st）着丝点，染色体核型有 2B 和 2C 两种^[8-9]。

随着二代 Illumina 高通量测序技术不断发展，大量药用植物的全基因组测序也随之开展，基因组组装也由 scaffold、contig 及染色体水平发展到目前的端粒到端粒（T2T）的 0 gap 水平^[10-11]。在对某个物种进行 denovo 基因组测序之前，对于没有参考基因组的物种，通常会对该物种基因组大小、杂合度等信息进行预估，根据基因组大小及复杂度来判断测序数据的深度，组装基因组的难易程度等，从而制定相应的测序和分析策略，一般可通过细胞遗传学^[12-13]和基因组 survey 测序与 K-mer 分析 2 种方式^[14-15]获取该物种的染色体核型、基因组大小、复杂度及重复序列比例等信息。本研究以白及为材料，尝试采用上述测序技术对白及进行细胞学分析与基因组测序，以期对白及后续精细图阶段的文库构建及全基因组 de novo 测序策略奠定基础，同时也为白及分子生物研究的研究提供依据。

1 材料

1.1 药材 白及采自贵州大学农学院石斛研究院白及资源苗圃，经贵州大学赵财副教授鉴定为药用植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. 的干燥块茎。

1.2 试剂 柠檬酸钠（批号 D223BA0020）、MgCl₂·6H₂O（批号 20191114）、碘化丙啶（批号 550825）、无水乙醇（批号 20220406）、MOPS（批号 0670200911）、RNAase（批号 20200318）、Triton X-100（批号 0694070511）、EDTA-2Na（批号 20200303），由贵州创禾源农业科技有限公司提供。

1.3 仪器 BD FACSCalibur 流式细胞仪（美国 BD 公司）；5810R 离心机（德国 Eppendorf 公司）；PT-3502C 酶标仪（北京普天新桥技术有限公司）；DYY-6C 电泳仪、DYCZ-22A 水平电泳槽、DYCZ-24A 垂直电泳槽（北京六一生物科技有限公司）；制冰机（日本 SANYO 公司）；C1000™ PCR 仪、Chemi Doc™ 凝胶成像系统（美国 Bio-Rad 公司）。

2 方法

2.1 染色体核型检测 以白及成熟种子作为外植体经组织培养 5 个月后，取组培苗根尖作为供试样品。将装有根尖的离心管放置于充气罐内，充入 0.9~1.0 MPa N₂O，静置处理 2 h，将 90% 预冷冰乙酸加入离心管内，静置处理 10 min。完成固定后，将冰乙酸吸出，ddH₂O 进行 2 次清洗。用刀片

将根的根尖白色部分切下，放入装有 25 μL 酶液的 0.5 mL 离心管中，在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下酶解 1 h。酶解结束后，用 70% 乙醇将根尖清洗 3 次，并用解剖针将根尖在剩余酒精中充分破碎和振荡，4 000 r/min 离心，将细胞离心至管底后，晾干。根据根尖数量，在离心管内加入 25~45 μL 冰乙酸，离心，充分振荡混匀。将载玻片放置在预先湿润的盒子中，室温保持在 23 $^{\circ}\text{C}$ 左右，吸取 8 μL 细胞悬浮液滴于载玻片正中间，立即盖上盖子，直到细胞散开，载玻片晾干后取出。将染色体标本在显微镜下进行观察，采用双色荧光原位杂交（FISH）探针制备，使端粒与 rDNA 原位杂交，并在高分辨率的荧光显微镜 CCD 下拍照，进行染色体核型的精准分析。

2.2 流式细胞检测基因组大小 白及块茎上萌发 1 个月的嫩芽，经液氮-80 $^{\circ}\text{C}$ 速冻后保存备用。取嫩芽置预冷的 mGb 解离液经刀片切碎，静置 10 min，过滤得细胞核悬浮液，加预冷 PI 和 RNAase 置冰上避光染色 0.5~1 h， C_{PI} 、 C_{RNAase} 分别为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [16-17]。以番茄种子萌发后 1 个月长出的嫩叶为内参，在 488 nm 波长处蓝光激发检测荧光强度，每次检测收集 10 000 个颗粒。变异系数小于 5%。

2.3 Survey 分析白及基因组大小 植物白及嫩芽采集后用液氮速冻后使用提取试剂盒 Qubit[®] dsDNA BRassay Kit 进行提取，检测基因组 DNA 浓度、纯度、完整性。检测参数为胶浓度 1%；电压 150 V；电泳时间 40 min；以 M1 λ -Hind III digest，M2 D2000 作为 Marker。基因测序与 K-mer 分析委托深圳华大基因科技有限公司进行 Illumina 双端测序。公式为基因组大小=总碱基数/平均测序深度=总 K-mer 数/平均 K-mer 深度。

3 结果

3.1 白及染色体核型分析 白及染色体用 DAPI 荧光染色通常呈蓝色荧光，选取染色体形态清晰、染色程度适中、并分散良好分裂相，通过对不同分裂相观察（图 1）初步确定均白及染色体数目为 32 条。利用端粒重复序列探针对染色体双色进行荧光原位杂交，被染色的端粒在荧光显微镜下呈绿色。由图 2 可知，以两端都有端粒为一条染色体，白及染色体长度在 1.0~4.5 μm 之间，根据 Levan 等 [18] 的染色体分类方法及 Stebbins [19] 核型分类的标准分类方法，白及主要为近中部（sm）或近端部（st）着丝粒染色体，基因组较小，核型类型为 2C。

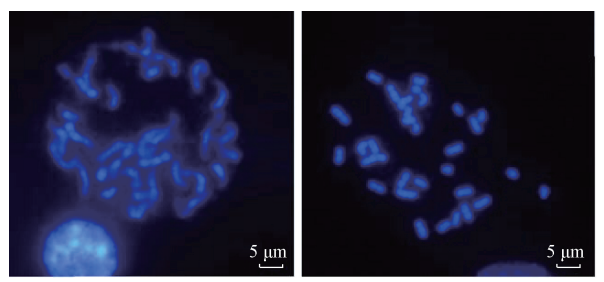


图 1 白及染色体荧光染色结果（DAPI 染色）
Fig. 1 Results chromosome fluorescent staining for *Bletillae Rhizoma* (DAPI staining)

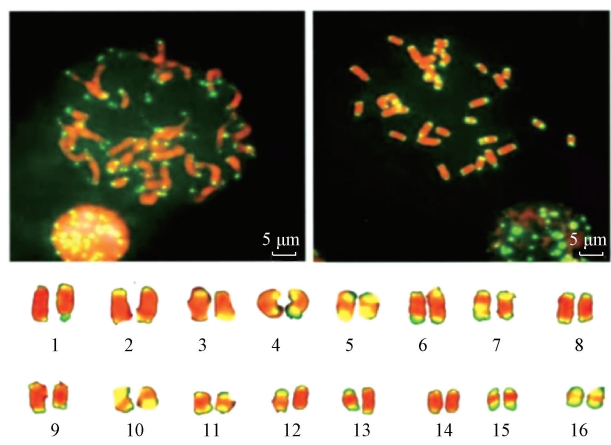
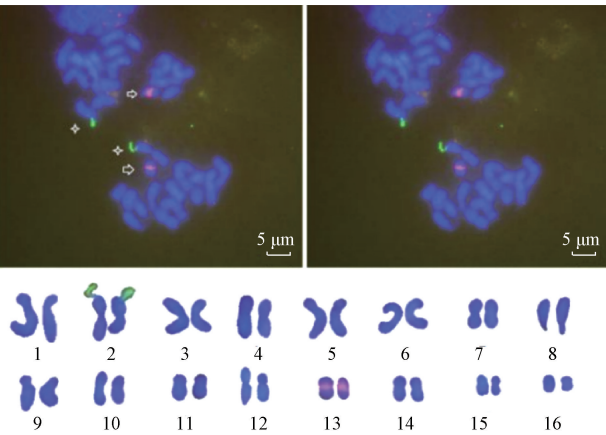


图 2 白及染色体端粒 FISH 结果
Fig. 2 FISH results of telomere of *Bletillae Rhizoma* chromosome

白及 18S rDNA 和 5S rDNA 在染色体上的定位分析，由于染色体被染成蓝色，经 Fluorescein-12-dUTP 标记的 18S rDNA 探针与染色体结合后，在显微镜下呈现绿色荧光，而经 Texas-Red-5-dUTP 标记 5 SrDNA 在显微镜下呈现红色荧光。由图 3 可知，5S rDNA 在 2 条染色体上有显示较强的红色荧光杂交信号，18S rDNA 在 2 条染色体显示较强的绿色荧光杂交信号；根据染色体长度、形状等特征将其进行同源染色体配对，其中 5S rDNA 分布在 13 号 2 个同源染色体的间隙，18S rDNA 分布在 2 号染色体短臂的核仁组织区。同时也证实了白及染色体为二倍体。

3.2 白及基因组大小检测

3.2.1 流式细胞检测白及基因组大小 番茄是茄科的模式植物，其全基因组大小为 900 Mbp。本研究以番茄为对照，估算白及基因组的大小。由图 4 可知，粒子团明确、清晰且集中，表明该实验条件下样品可良好区分。结果发现，内参番茄峰的荧光值为 18.89，白及峰的荧光值为 50.78，根据待测物种 C 值计算公式为白及 C 值=番茄 DNA 含量×白



注：红色箭头为 5S rDNA，绿色星号为 18S rDNA 的原位杂交。

图 3 白及染色体的 rDNA FISH 结果

Fig. 3 The rDNA FISH results of *Bletillae Rhizoma* chromosomes

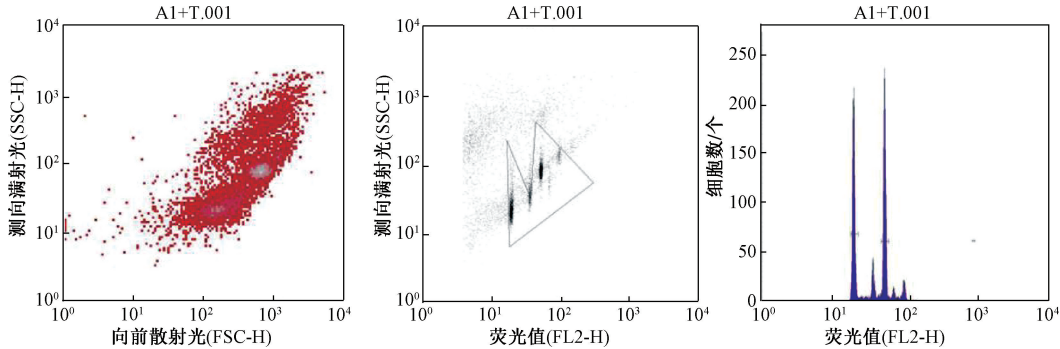
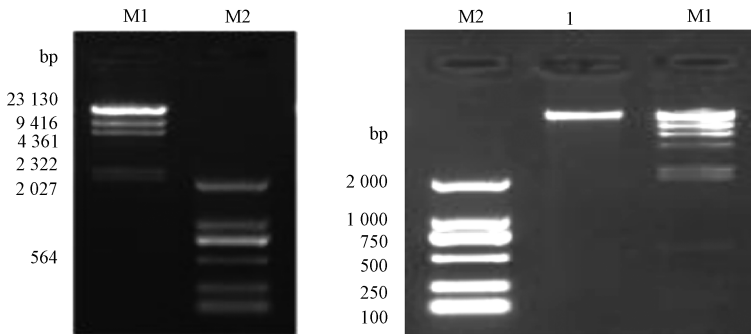


图 4 白及 C 值流式细胞分析图

Fig. 4 C value of *Bletillae Rhizoma* by flow cytometry analysis



注：M1 为 λ -Hind III digest，M2 为 D2000，1 为白及基因组 DNA。

图 5 白及 DNA 电泳图谱

Fig. 5 DNA electrophoregram of *Bletillae Rhizoma*

得到有效数据共 60.11 Gb，公式为有效数据比例 = (有效数据/原始数据) \times 100%，有效数据比例越大，表明文库质量越好。白及的有效数据比例约为 98.42%，表明白及的基因组 DNA 测序质量较优，测序结果整体的可信度高。

基于 K-mer 分析原理，选取 17~31 K-mer 进行分析。通过 GenomeScope 软件对 17~31 K-mer 的

及的荧光强度/番茄样品的荧光强度，测得白及的基因组大小为 2.37 Gb，是番茄的 2.69 倍。

3.2.2 白及基因组 Survey 测序与 K-mer 分析 采集样品为白及嫩芽，通过试剂盒提取 DNA 经琼脂糖凝胶电泳检测得电泳图谱（图 5）。电泳图谱主带清晰，无降解、轻度蛋白质污染，且测得 DNA 总量为 1.518 μ g，总体积为 60 μ L，浓度 C_{DNA} 为 25.3 ng/ μ L，根据《DNA 测序样品质量标准》，白及 DNA 样品质量满足建库测序要求，且建库成功率约为 97.40%。

基因组利用由华大基因在 Illumina 两端进行双端测序（PE = 150）得出 61.06 Gb 原始数据，使用 SOAPnuke（V 1.6.5）软件对原始数据进行过滤，过滤掉低质量、存在接头污染和重复的数据，

频谱进行拟合，构建 $k = 19$ 的 K-mer 分布图（图 6），进行基因组大小、重复序列比率和杂合率的评估。

图 6 中，蓝色柱子是 K-mer 的观测值；橙红色拟合线部分对应着深度过低的 K-mer，这些 K-mer 被认为是测序错误引入的；黑色拟合线是除去被认为是错误的部分（橙红色拟合线部分）之后剩下

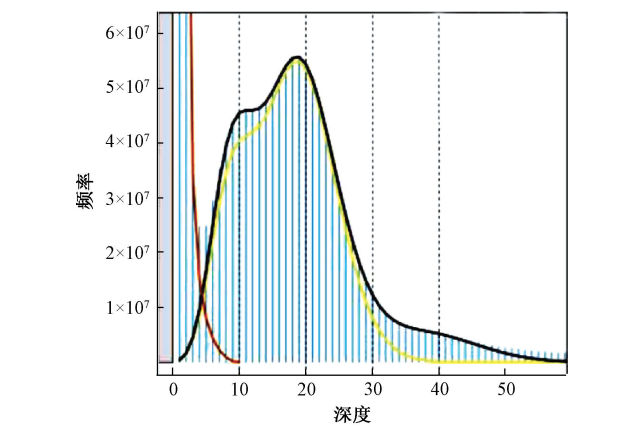


图 6 19-K-mer 分布曲线
Fig. 6 19-K-mer distribution curve

的所有 K-mer，这些被认为是可靠的 K-mer 数据；黄色拟合线被认为来自基因组非重复区域的 K-mer 分布；垂直的黑色虚线为预测最低深度峰的整数倍覆盖度。经拟合后发现，19-K-mer 分布曲线为非正常泊松分布，呈现双峰分布，在 10 和 19 处各有一个峰，估测白及的为二倍体。平均 K-mer 深度即主峰对应的 K-mer 深度为 19，在主峰的前面期望深度的 1/2 位置处有明显的杂合峰，说明该基因组有一定杂合度的杂合度，即深度出现在 10 附近的 K-mer 序列为杂合序列，经过 Genomescope 软件进行杂合度分析，得到白及基因组的杂合率约为 1.099%。K-mer 深度出现在主峰对应深度 2 倍以上的序列为重复序列，即深度大于 40 的 K-mer 序列为重复序列，重复序列约占 67.45% 从测序数据中得得到 K-mer 数为 59 981 133 228 个，去除深度异常的 K-mer 后得到 25 277 266 个。根据 K-mer 深度信息，基因组大小=总 K-mer 数目/平均 K-mer 深度。估计基因组大小约为 2.53 Gb，有效测序深度为 23.73。

通过对调研图文库测序数据分析，该物种基因组的 GC 含量（DNA 中鸟嘌呤和胞嘧啶所占比例）约为 36.1%，较为适中，即白及的 GC 分布无明显偏向性，不会影响调研图分析的准确性，调研图结果可靠。

4 讨论

本研究发现白及为二倍体，染色体数目 32 条，染色体类型主要为 sm 和 st 型，这前人的研究结果大致相同^[8-9]。从核型上看，白及的核型为 2C 型，根据 Stebbins^[19] 对染色体核型分类 1A~4D 中，2C 型相对其他已发现的 2B 型白及种质资源进化程度较高。而相同倍性的不同白及种质资源在核型分类

上存在差异，其原因可能是由于不同种质资源为适应不同生长环境而引起的进化或实验等因素而引起的。

高等植物有 45S rDNA 和 5S rDNA 两类^[20]。18S rDNA 是 45S rDNA 的一种，其定位位点主要在染色体的次缢痕部位，与随体相连，一般认为物种 45S rDNA 的染色体杂交位点数与随体数相同^[21]，而 5S rDNA 通常有位于染色体末端和同源染色体间隙两种位点^[22]。研究发现，白及在 5S rDNA 和 18S rDNA 各有 1 对位点，分别位于同源染色体间隙和染色体断臂末端，因此认为白及染色体存在 2 个随体，且 45S rDNA 和 5S rDNA 在白及染色体上不存在共定位现象。本研究获得了白及基于 5S rDNA 和 18S rDNA 荧光原位杂交核型与同源染色体上的 2 个随体，可作为白及染色体识别的有效标志。

流式细胞测定结果依赖于内参物种准确性，且难以预判物种复杂程度；Survey 分析则会受到数据质量、软件及参数设置等测序过程影响。因此在预估基因组大小时往往会结合进行判断，可将物种大小定位在一定的范围内，现已用于地黄^[23]、黄芪^[24]等药用植物的基因组估测。本研究以流式细胞术与 Survey 分析相结合，估测白及的基因组大小范围在 2.37~2.53 Gb 之间。流式细胞术测得白及基因组大小略低于 Survey 分析，其主要原因可能是流式细胞技术在测定基因组大小时会受到植物的不同部位、内参物质、处理环境与内标植物等因素影响。本研究以番茄为内参，其基因组大小是白及的 2.7 倍，差异较大，导致估测结果偏低，这与好好芭^[25]、马鞍藤^[26]等预测的基因组大小结果相同。另外通过 K-mer 分析得出白及基因组杂合度为 1.099%，重复序列约 67.45%，根据基因组杂合度分类，杂合度大于 0.8% 为高杂合基因组，重复序列比例大于 50% 为高重复基因组^[27]。因此白及基因组被认为是超高杂合、超高重复基因组。所获得的白及基因组特征信息，既可对白及的物种起源研究和下一步的基因组学研究具有参考价值，同时将为后续白及全基因组测序、组装、去冗余处理及精细图谱绘制等工作提供参考。

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，1992：18；50.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020：106.

[3] 左世梅. 药用植物白及化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国现代医生, 2021, 59(4): 189-192.

[4] 梁莹, 胡营, 蔡锦源, 等. 白及种质资源的生长、生理及药材品质比较研究[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(9): 2236-2239.

[5] 孔伟华, 徐建波, 崔琦, 等. 白及化学成分、药理作用和白及多糖提取工艺的研究进展[J]. 中医药信息, 2021, 38(9): 69-78.

[6] 任风鸣, 白娟, 刘艳, 等. 基于 nrDNA ITS 序列的不同产地白及遗传多样性研究[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2019, 21(6): 1189-1195.

[7] 洪建聪, 郭艳, 翟利娜, 等. 野生白及资源遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 中草药, 2019, 50(8): 1966-1971.

[8] 程雯, 黄伟鹏, 李伟, 等. 白及多倍体的生物学研究 [C] //浙江省中医药学会 2018 年中药分会学术年会论文集. 杭州: 浙江省中医药学会, 2018: 13-18.

[9] 王永, 熊鹏飞, 郑昕, 等. 药用植物白及种质资源核型分析[J]. 种子, 2021, 40(2): 20-25; 34.

[10] Jiang J M. Fluorescence *in situ* hybridization in plants: recent developments and future applications [J]. *Chromosome Res*, 2019, 27(3): 153-165.

[11] Lang T, Li G R, Wang H J, *et al.* Physical location of tandem repeats in the wheat genome and application for chromosome identification [J]. *Planta*, 2019, 249 (3): 663-675.

[12] 王子君, 李景环. 蒙古冰草分子核型分析[J]. 中国草地学报, 2021, 43(4): 115-120.

[13] 贾芳信, 周明兵, 陈荣, 等. 4 种竹子的核型及其基因组大小[J]. 林业科学, 2016, 52(9): 57-66.

[14] Yagi M. Recent progress in whole genome sequencing, high-density linkage maps, and genomic databases of ornamental plants[J]. *Breed Sci*, 2018, 68(1): 62-70.

[15] Chikhi R, Medvedev P. Informed and automated K-mer size selection for genome assembly[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(1): 31-37.

[16] 汪艳, 肖媛, 刘伟, 等. 流式细胞仪检测高等植物细胞核 DNA 含量的方法[J]. 植物科学学报, 2015, 33(1): 126-131.

[17] Dolezel J, Bartos J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size[J]. *Ann Bot*, 2005, 95(1): 99-110.

[18] Levan A, Fredya K, Sandberg A A. Nomenclature for centrometic position on chromosomes[J]. *Hereditas*, 2009, 52(2): 201-202.

[19] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants [M]. London: Edward Arnold Ltd., 1971: 72-123.

[20] 方桥, 田敏, 张婷, 等. 中甸刺玫及其近缘种基于 FISH 的核型分析[J]. 园艺学报, 2020, 47(3): 503-516.

[21] 王燕, 南红, 王小蓉, 等. 45S 和 5S rDNA 在果树染色体上的比较定位及在系统进化研究中的应用[J]. 果树学报, 2012, 29(2): 253-261.

[22] Poczai P, Hyvönen J. Nuclear ribosomal spacer regions in plant phylogenetics: problems and prospects [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(4): 1897-1912.

[23] 赵乐, 朱响昊, 王敏, 等. 基于流式细胞术和基因组 survey 分析的地黄基因组研究[J]. 中草药, 2021, 52(3): 821-826.

[24] 孙会改, 韦春香, 杨旻啸, 等. 基于流式细胞术和 K-mer 分析的黄芪基因组大小估测[J]. 中草药, 2019, 50(6): 1448-1452.

[25] 马鹏举, 周佳熠, 孙会改, 等. 基于流式细胞术和 K-mer 分析的好好芭基因组大小估测[J]. 北京师范大学学报 (自然科学版), 2018, 54(6): 733-737.

[26] 霍恺森, 赵冬兰, 陈艳丽, 等. 甘薯属耐盐植物马鞍藤基因组大小及特征分析[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(3): 728-735.

[27] 张云燕, 安宇, 林峰, 等. 基于流式细胞术和 K-mer 分析的银缕梅属 (*Parrotia C. A. Mey.*) 植物基因组大小测定[J]. 植物遗传资源学报, 2021, 22(2): 561-570.