

八种不同产地苦参的染色体数目及核型分析

雷海英¹, 侯沁文¹, 白凤麟¹, 赵楠¹, 何宝宝¹, 王志军^{2,*}

¹长治学院生物科学与技术系, 山西长治046011

²长治学院化学系, 山西长治046011

摘要: 苦参是中国传统的药用植物, 源于不同产地的苦参外形迥异, 亲缘关系与进化关系也不清楚, 本文比较分析了8种产地苦参的染色体核型特征, 并对其核型似近系数进行聚类。结果表明8种产地苦参的染色体数目恒定, 均为 $2n=2x=18$, $x=9$ 。以染色体着丝点位置分为中部着丝点(m)型和亚中部着丝点(sm)型及近端着丝粒(st)型三种类型, 按长短分为长染色体(L型)、中长染色体(M_2 型)、中短染色体(M_1 型)及短染色体(S型)四种。8种苦参核型公式均不同, 平均臂比值(AR)位于1.10~1.98, 染色体长度比值范围(LC/SC)位于1.70~2.48, 核不对称系数(As.K)范围为29.64%~45.75%, 核型种类有2A、1B和2B型三种类型。核型聚类分析结果显示8种苦参总体聚为两大类, 其中以山西省长治市武乡县和长治市长治县的苦参亲缘关系最近。该结果将为苦参育种、种质鉴定和基因组学分析提供参考。

关键词: 苦参; 染色体; 核型分析

苦参(*Sophora flavescens*)为豆科槐属多年生落叶亚灌木, 又名苦骨、苦槐、水槐、地槐、野槐等, 植株高50~120 cm, 生于山坡、平原、路旁、沙质地和红壤地的向阳处, 全国各地均有分布, 是中国传统的药用植物(中国科学院《中国植物志》编辑委员会1988)。苦参作为药用植物在中国已有二千多年的历史, 其药效始载于《神农本草经》, 以根入药, 味苦、性寒, 有清热燥湿、杀虫利尿的功效, 主治热痢、便血、黄疸尿闭、赤白带下等症(国家药典委员会2015)。苦参含有多种化学成分, 其有效成分苦参碱和氧化苦参碱具有良好的抗癌活性(姚丽等2016)。近年来, 苦参又被广泛用于生物农药的主要原料。随着苦参开发利用及市场需求量的稳步扩大, 对原料的需求也随之增加, 导致野生资源采挖趋势有增无减, 面临严重濒危。近年来苦参的栽培工作逐渐展开, 但由于各栽培地的苦参种质资源外形相似来源复杂, 既有种内的不同变型, 也有形态易混的近缘种, 更有引种栽培后出现的各种变异类型, 由此造成了苦参药材种质资源十分混杂, 所产的药材质量参差不齐, 有效成分含量差异悬殊, 再加上生态环境、栽培管理以及采收加工技术等差异, 致使苦参总体质量下降, 优质苦参资源短缺, 影响到临床用药的准确性和中成药疗效的稳定性, 成为苦参产业发展的制约因素。同时由于苦参的系统发育地位

处于蝶形花亚科的基部, 人们对于苦参的系统进化分支了解甚少(Jiao等2015)。

目前对苦参的鉴定研究较少, 李兰等(1997)对所研究的苦参进行核型分析表明: 染色体数目为 $2n=18$, 核型公式为 $K(2n)=18=10, 14m+8sm$, 核型属2A型; 核不对称系数为59.42%; 染色体的相对长度组成为 $2n=18=6M_2+12M_1$ 。段永红等(2014)以产于内蒙古赤峰、山西长治、陕西眉县和四川成都的四种苦参为材料, 采用根尖压片法, 比较分析了苦参的核型特征, 并对其进行了聚类分析, 推测4种苦参的进化关系。

由于不同来源的苦参在外在形态、生长习性、组织构造以及所含的化学成分方面具有高度的相似性。多数情况下, 传统的鉴定方法已难以准确鉴定, 核型分析是细胞学水平研究亲缘关系的一种方法(孙桂芳等2019)。因此, 本课题组对采集的8种不同产地苦参资源, 进行染色体核型分析, 以期对苦参育种、种质鉴定和基因组学分析提供参考。

收稿 2019-04-08 修定 2019-07-03

资助 国家自然科学基金(21201024)、山西省重点学科建设项目(FSKSC)、山西省青年科技研究基金项目(201801D221323)和山西省高校科技创新资助项目(201802106)。

* 通讯作者(czxywzj@163.com)。

1 材料与方法

1.1 材料

苦参(*Sophora flavescens* Ait.)种子由作者及团队成员收集,具体来源见表1。所有供试苦参种子资源已由本实验室提取其DNA,经ITS2 (internal transcribed spacer)序列扩增后测序,中国医学科学院药用植物研究所的“中药材DNA条形码鉴定系统”ITS2序列比对鉴定。

1.2 方法

1.2.1 染色体制片

参照刘丽莎(1997)的方法并进行改良,选取8种不同产地饱满的苦参种子于锥形瓶中,倒入适量浓硫酸(淹没种子即可)后置于恒温振荡器中,120 r·min⁻¹室温振荡45 min,回收浓硫酸,清水冲洗4~5次,用湿润纱布包裹后放于培养皿中,重置于20°C恒温培养箱中避光催芽。当种子胚根长至1~2 cm时(约6~7 d),切取约3 mm根尖,向其中加入0.2%秋水仙素溶液直至浸没胚根,室温诱导4 h后,放入卡诺氏固定液(无水乙醇:冰乙酸=3:1) 24 h,固定好的胚根用蒸馏水冲洗3~4次,于1 mol·L⁻¹ HCl中,60°C解离10 min,蒸馏水冲洗3~4次后,用镊子将根尖敲碎,滴加改良的品红溶液压片。采用显微镜(Carl Zeiss, Germany)镜检并拍照。

表1 试验材料及来源

Table 1 Materials tested in this study

序号	采集地	纬度/经度	海拔/m
1	内蒙古自治区赤峰市(栽培)	42°15'35.08"N/ 118°53'20.18"E	587
2	江苏省宿迁市沭阳县(栽培)	34°09'42.30"N/ 118°37'9.55"E	6
3	浙江省杭州市(栽培)	30°10'25.60"N/ 120°09'47.34"E	19
4	湖南省郴州市桂阳县(栽培)	25°44'13.86"N/ 112°43'55.52"E	315
5	河南省南阳市(栽培)	33°16'33.71"N/ 113°01'10.64"E	130
6	山西省长治市武乡县大寨村(野生)	36°58'28.05"N/ 112°39'54.43"E	1 080
7	山西省长治市长治县苦参基地(栽培)	36°01'30.71"N/ 113°01'8.50"E	944
8	山西省长治市壶关县鹅屋乡(野生)	35°53'7.38"N/ 113°34'7.90"E	1 424

1.2.2 核型数据分析

分别选取9个缢痕清晰、轮廓清晰、分散良好、染色体数目完整的中期分裂细胞,每种苦参观察的细胞数在30个以上,测量并计算染色体数量、相对长度、染色体长度比、长短臂臂比以及核型类型等参数,染色体核型分析参照李懋学(1981)的方法。染色体相对长度系数按照Kuo等(1972)的方法进行计算和分类。具体计算公式及标准(表2)如下:

染色体相对长度(relative length, RL)=单个染色体长度/18条染色体长度×100%;

染色体长度比(LC/SC)=最长染色体长度/最短染色体长度;

臂比(arm ratio, AR)=染色体长臂/染色体短臂;

核型不对称系数(karyotype asymmetry coefficient, As.K)=染色体长臂总长/全组染色体总长×100%;

相对长度系数(index of relative length, I.R.L)=每条染色体的相对长度/染色体平均相对长度。

1.2.3 核型似近系数聚类分析

参照吴昌谋(1996)的聚类分析方法,依据苦参的染色体数、染色体相对长度、着丝粒指数、臂比值以及平均数、方差等,采用核型似近系数平均聚类法(unweighted pair-group method using arithmetic average, UPGMA)进行聚类。

2 实验结果

2.1 不同产地苦参资源的染色体数目及特征类型

观察图1发现,8种不同产地苦参的中期染色体数目稳定,均为 $2n=2x=18$, $x=9$,结合表3的相对长度和臂比等参数进行同源染色体配对,得出每个细胞的18条染色体均可配成9对,没有发现非整

表2 植物核型分类

Table 2 Classification of plant karyotypes

染色体长度比 (LC/SC)	臂比大于2:1的染色体比例/%			
	0	1~50	51~99	100
< 2:1	1A	2A	3A	4A
2:1~4:1	1B	2B	3B	4B
> 4:1	1C	2C	3C	4C

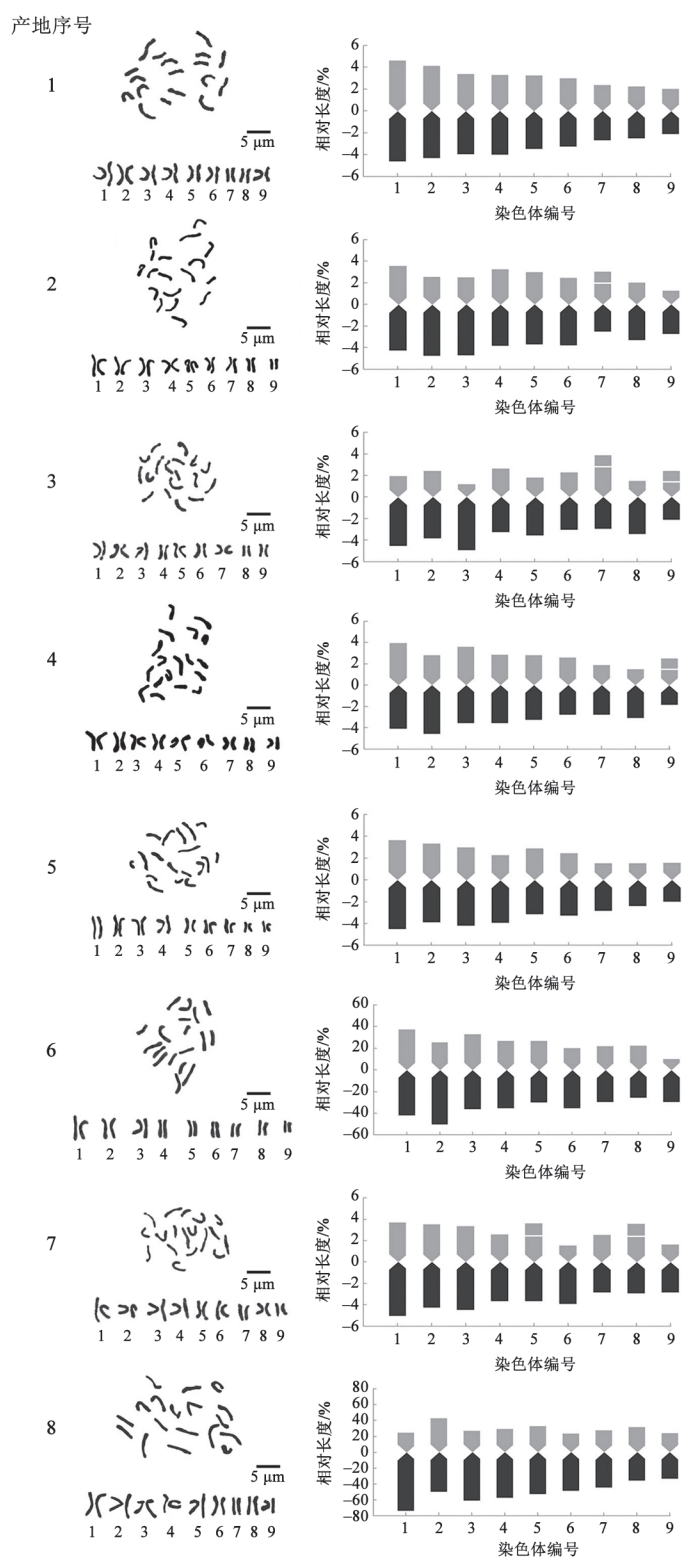


图1 八种不同产地苦参的染色体形态(左)及核型图(右)

Fig.1 The chromosome types (left) and karyotype diagrams (right) of *Sophora flavescens* from eight different habitats

图中产地序号数字见表1说明, 图2同此。

表3 八种不同产地苦参根尖细胞有丝分裂中期染色体核型参数

Table 3 The karyotype parameters in mitosis metaphase of root tip cells of *Sophora flavescens* from eight different habitats

产地	染色体 编号	染色体 相对 长度/%	臂比	相对长度指数		类型	产地	染色体 编号	染色体 相对 长度/%	臂比	相对长度指数		类型
				I.R.L	Kuo						I.R.L	Kuo	
内蒙古 自治区 赤峰市	1	9.26	1.01	1.41	L	m	河南省 南阳市	1	8.14	1.24	1.40	L	m
	2	8.43	1.05	1.28	L	m		2	7.22	1.16	1.24	M ₂	m
	3	7.34	1.17	1.11	M ₂	m		3	7.14	1.41	1.23	M ₂	m
	4	7.28	1.22	1.10	M ₂	m		4	6.24	1.72	1.07	M ₂	sm
	5	6.72	1.08	1.02	M ₂	m		5	6.03	1.08	1.04	M ₂	m
	6	6.26	1.09	0.95	M ₁	m		6	5.71	1.33	0.98	M ₁	m
	7	5.07	1.13	0.77	M ₁	m		7	4.36	1.86	0.75	S	sm
	8	4.78	1.13	0.73	S	m		8	3.91	1.59	0.67	S	m
	9	4.14	1.06	0.63	S	m		9	3.58	1.27	0.62	S	m
江苏省 宿迁市	1	7.83	1.21	1.26	L	m	山西省 长治市 武乡县	1	7.91	1.12	1.32	L	m
	2	7.31	1.87	1.17	M ₂	sm		2	7.53	1.99	1.26	L	sm
	3	7.24	1.89	1.16	M ₂	sm		3	6.93	1.10	1.16	M ₂	m
	4	7.07	1.18	1.13	M ₂	m		4	6.24	1.32	1.05	M ₂	m
	5	6.69	1.25	1.07	M ₂	m		5	5.66	1.13	0.95	M ₁	m
	6	6.23	1.55	1.00	M ₁	m		6	5.57	1.76	0.93	M ₁	sm
	7	4.31	1.43	0.69	S	m		7	5.15	1.38	0.86	M ₁	m
	8	5.33	1.62	0.86	M ₁	m		8	4.78	1.16	0.80	M ₁	m
	9	4.03	2.17	0.65	S	sm		9	3.96	3.06	0.66	S	st
浙江省 杭州市	1	6.50	2.35	1.19	M ₂	sm	山西省 长治市 长治县	1	8.76	1.36	1.38	L	m
	2	6.27	1.59	1.15	M ₂	m		2	7.83	1.21	1.24	M ₂	m
	3	6.11	4.17	1.12	M ₂	st		3	7.83	1.35	1.24	M ₂	m
	4	5.91	1.23	1.08	M ₂	m		4	6.22	1.43	0.98	M ₁	m
	5	5.37	2.01	0.98	M ₁	sm		5	5.86	1.66	0.93	M ₁	m
	6	5.34	1.34	0.98	M ₁	m		6	5.45	2.54	0.86	M ₁	sm
	7	5.34	1.25	0.98	M ₁	m		7	5.38	1.13	0.85	M ₁	m
	8	4.89	2.32	0.89	M ₁	sm		8	5.19	1.31	0.82	M ₁	m
	9	3.46	1.57	0.63	S	m		9	4.48	1.74	0.71	S	sm
湖南省 郴州市	1	8.03	1.04	1.36	L	m	山西省 长治市 壶关县	1	9.86	2.97	1.23	M ₂	sm
	2	7.41	1.63	1.26	L	m		2	9.27	1.17	1.16	M ₂	m
	3	7.18	1.00	1.22	M ₂	m		3	8.80	2.23	1.10	M ₂	sm
	4	6.41	1.24	1.09	M ₂	m		4	8.65	1.96	1.08	M ₂	sm
	5	6.10	1.16	1.04	M ₂	m		5	8.55	1.62	1.07	M ₂	m
	6	5.40	1.07	0.92	M ₁	m		6	7.24	2.07	0.90	M ₁	sm
	7	4.68	1.47	0.79	M ₁	m		7	7.18	1.62	0.90	M ₁	m
	8	4.59	2.08	0.78	M ₁	sm		8	6.76	1.14	0.84	M ₁	m
	9	3.24	1.33	0.55	S	m		9	5.79	1.39	0.72	S	m

表中“Kuo”指按照Kuo等(1972)以染色体相对长度系数将染色体分为4组的染色体分类标准分类。按照染色体长度分为L: 长染色体型; M₁: 中短染色体型; M₂: 中长染色体型; S: 短染色体型。以染色体着丝点位置分为m: 中部着丝点型; sm: 亚中部着丝点型; st: 近端着丝粒型。

倍体、多倍体的现象, 确定供试的8种苦参均为二倍体植物。同时也可以看出, 8种产地的苦参中, 内蒙古自治区赤峰市、河南省南阳市、山西省长治市武乡县和山西省长治市壶关县苦参均没有随体,

其余4种产地苦参含有随体, 且江苏省宿迁市与湖南省郴州市苦参各含有1对随体, 浙江省杭州市和山西省长治市长治县苦参各含有2对随体, 均为中部着丝点(m)型。

2.2 不同产地苦参资源的核型分析

进一步对8种供试苦参根尖有丝分裂中期染色体核型参数进行分析。染色体相对长度(表3)中, 山西省长治市壶关县野生苦参相对较长, 长度范围为5.79%~9.86%, 浙江省杭州市苦参相对较短, 其相对长度范围为3.46%~6.50%, 其余产地苦参相对长度值均位于3.24%~9.26%之间, 差异不明显。江苏省宿迁市, 浙江省杭州市, 湖南省郴州市, 山西省长治市长治县的苦参均含有随体。从染色体特征看来, 其类型有明显的差异, 内蒙古自治区赤峰市苦参均为中部着丝点(m)型, 其余7种产地苦参除m型外还有亚中部着丝点(sm)型, 且浙江省杭州市和山西省长治市武乡县苦参还有近端着丝粒(st)型。按照染色体相对长度系数(I.R.L)及Kuo (1972)的分类标准, 分为长染色体L型($I.R.L \geq 1.26$)、中长染色体M₂型($1.01 \leq I.R.L \leq 1.25$)、中短染色体M₁型($0.76 \leq I.R.L \leq 1.00$)及短染色体S型($I.R.L < 0.76$)四种, 从苦参的染色体特征(表3)来看, 除浙江省杭州市和山西省长治市壶关县苦参没有L型, 其余产地苦参均具有所有四种特征类型。

8种产地苦参染色体结构特征, 其染色体的臂比、核型公式、染色体长度比、核型种类等都存在明显的差异(表4)。核不对称系数范围为29.64%~45.75%, 其中以湖南省郴州市苦参的核不对称系数最小(29.64%), 核型对称性最差; 山西省长治市壶关县野生资源苦参(45.75%)核型对称性最高。由染色体长度比(LC/SC)及臂比值>2:1的染色体比例, 得出不同产地苦参核型种类有2A、1B与2B三

种, 其中江苏省宿迁市、浙江省杭州市、山西省长治市长治县与山西省长治市壶关县苦参属于2A型; 属于1B型的为内蒙古自治区赤峰市和河南省南阳市苦参; 湖南省郴州市和山西省长治市武乡县苦参为2B型。

2.3 不同产地苦参资源的聚类分析

利用似近系数平均聚类法(UPGMA)对8种不同产地苦参进行聚类发现(图2), 结果整体分为两大类: 内蒙古自治区赤峰市、江苏省宿迁市、浙江省杭州市和湖南省郴州市苦参聚为一大类, 河南省南阳市苦参和山西省长治市的三种苦参聚为另一大类。并且在核型似近系数约为0.92处, 8种苦参被划分为3类, 内蒙古自治区赤峰市和江苏省宿迁市苦参聚为一类, 浙江省杭州市和湖南省郴州市苦参聚为一类, 河南省南阳市苦参和山西省长治市三种苦参聚为一类。当核型似近系数约为

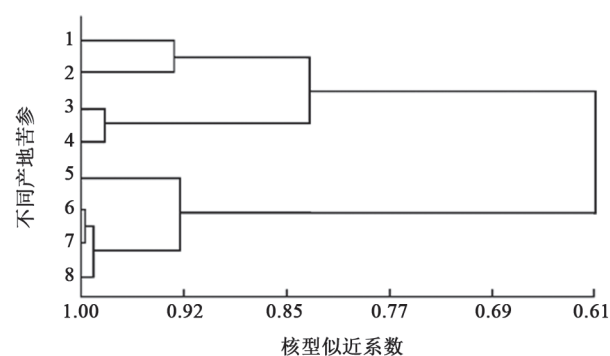


图2 八种不同产地苦参的核型似近系数聚类分析

Fig.2 The clustering drawing of *Sophora flavescens* from eight different habitats by karyotype resemblance-coefficient

表4 八种不同产地苦参的核型比较

Table 4 Comparison of karyotype of *Sophora flavescens* from eight different habitats

产地	核型公式	染色体长度比	平均臂比值	臂比>2的染色体比例/%	核不对称系数/%	核型种类
内蒙古自治区赤峰市	$2n=2x=18=18m$	2.24	1.10	0	31.02	1B
江苏省宿迁市	$2n=2x=18=12m(2SAT)+6sm$	1.94	1.57	11	33.68	2A
浙江省杭州市	$2n=2x=18=10m(4SAT)+6sm+2st$	1.88	1.98	44	31.73	2A
湖南省郴州市	$2n=2x=18=14m(2SAT)+4sm$	2.48	1.34	11	29.64	2B
河南省南阳市	$2n=2x=18=14m+4sm$	2.27	1.41	0	30.13	1B
山西省长治市武乡县	$2n=2x=18=12m+4sm+2st$	2.00	1.56	11	31.47	2B
山西省长治市长治县	$2n=2x=18=14m(2SAT)+4sm(2SAT)$	1.96	1.53	11	33.69	2A
山西省长治市壶关县	$2n=2x=18=10m+8sm$	1.70	1.80	33	45.75	2A

0.99时,山西省长治市武乡县和山西省长治市长治县苦参首先聚类,亲缘关系最近。

3 讨论

染色体的细胞数目、形态、结构及核型,可以作为物种鉴别的重要的生物学数据。同一物种或品种的染色体数目比较恒定,对阐述植物进化程度和分类有重要的意义(杨光穗等2016)。苦参品种单一,其有效成分为其主要的药用价值。由于苦参产地不同从而使其形态、核型及有效成分等各异。段永红等(2014)对内蒙古赤峰、山西长治、陕西眉县、四川成都四个地区苦参进行了研究,在染色体数目上,所有研究苦参均为二倍体, $2n=2x=18$, 与本研究的结果相同。但核型公式不同,如其结果中内蒙古赤峰苦参核型公式有随体,而本研究中的该产地苦参没有随体;同为山西长治苦参的核型公式也不同,其结果显示,四种苦参核型均为1A型,而本研究的结果显示山西省长治市的3种苦参核型具有2A和2B两种类型,且山西省长治市长治县苦参含有2对随体。在植物体细胞染色体的鉴别中,主要是以其全长、臂长、着丝点位置和特殊的结构如随体为依据(孙桂芳等2019)。随体的数量和位置可以用来辅助判断物种的倍性,并为进化过程中出现的染色体倒位等事件提供证据(赵瑞红等2018)。本文收集的8种不同地区苦参地区来源不同,经纬度、海拔不同,本研究中的三种同为长治地区苦参,核型与结构却不相同。本文研究认为,材料的核型结构、类型跟地域、生态环境有极大的关系,因此,药用植物有“道地性”之说。

细胞学的核型分析已广泛应用于植物分类学研究,可以为植物系统起源进化和种间亲缘关系研究提供重要的细胞学资料(王霖娇等2017),已在多种植物中进行了应用,研究手段也各不相同,如吴春红等(2014)通过荧光原位杂交技术对白菜rDNA及 $C_{\phi}t-1$ DNA的核型进行了研究。本研究采用常规压片法对8种不同来源苦参的核型进行研究,显示其核不对称系数为:山西省长治市壶关县>山西省长治市长治县>江苏省宿迁市>浙江省杭州市>山西省长治市武乡县>内蒙古自治区赤峰市

>河南省南阳市>湖南省郴州市。其中山西省长治市壶关县苦参的核不对称系数为45.75%,核型种类A型。Stebbins (1971)认为,高等植物核型进化的基本趋势是由对称向不对称发展,系统演化上处于比较古老或原始的植物,大多数具有较对称的核型,而不对称的核型则出现在衍生或进化较高的植物中。由此推测山西省长治市壶关县苦参资源的野生资源,没有或很少经过人工干预和选择,进化程度较低,很好的保持了苦参药材的道地性,尽管其他产地苦参也有A型核型类型,相比山西省长治市壶关县苦参的核不对称系数较低,核不对称型相对较差,推断其可能在进化过程中受到了不同程度的人工干预,但总体为A和B型,没有C型,仍然属于对称性的类型。

核型似近系数聚类分析结果能很好地反映供试材料的亲缘关系,所有产地苦参进化程度越低、亲缘关系越近,既蕴藏了遗传变异又保持了较高的遗传稳定性。本研究中的8种苦参资源核型似近系数聚类分析结果整体分为两大类,其中山西省长治市武乡县、山西省长治市长治县及山西省长治市壶关县苦参三者与河南省南阳市苦参亲缘关系较近,其中以山西省长治市武乡县和长治市长治县苦参亲缘关系最近。内蒙古自治区赤峰市与江苏省宿迁市苦参亲缘关系较近,浙江省杭州市与湖南省郴州市苦参亲缘关系较近,进化程度相似。

该研究成功获得了8种来自不同产地的苦参核型,为药用植物苦参的亲缘关系、育种和种质资源鉴定等提供了细胞学依据。

参考文献(References)

- Duan YH, Qu YF, Wang YQ, et al (2014). Analysis of karyotypes and resemblance-near coefficients of *Sophora flavescens* from different producing origins. Chin Pharm J, 49: 1194–1199 (in Chinese with English abstract) [段永红, 渠云芳, 王玉庆等(2014). 不同产地苦参核型及似近系数聚类分析. 中国药学杂志, 49: 1194–1199]
- Flora of China Editorial Committee of CAS (1988). Flora of China. Beijing: Science Press, 81 (in Chinese) [中国科学院《中国植物志》编辑委员会(1988). 中国植物志. 北京: 科学出版社, 81]
- Jiao YS, Liu YH, Yan H, et al (2015). Rhizobial diversity and

- nodulation characteristics of the extremely promiscuous legume *Sophora flavescens*. *Mol Plant Microbe Interact*, 28: 1338–1352
- Kuo SR, Wang TT, Huang TC (1972). Karyotype analysis of some *Formosan gymnosperms*. *Taiwania*, 17: 66–80
- Li L, Hu ZL, Liu DZ, et al (1997). A study of chromosome *Sophora flavescens* Ait. *J Shandong Nor Univ (Nat Sci Edn)*, 12: 316–318 (in Chinese with English abstract) [李兰, 胡志力, 刘东周等(1997). 苦参的染色体研究. *山东师范大学学报(自然科学版)*, 12: 316–318]
- Li MX (1981). The chromosome and karyotype analysis of plant. *Biol Bull*, 4: 18–21 (in Chinese) [李懋学(1981). 植物的染色体组和组型分析. *生物学通报*, 4: 18–21]
- Liu LS (1997). A preliminary study on preparing chromosome of young cotyledons from *Sophora flavescens*. *Chin Med Mater*, 20: 109–110 (in Chinese with English abstract) [刘丽莎(1997). 苦参幼嫩子叶染色体制片的初步研究. *中药材*, 20: 109–110]
- National Pharmacopoeia Commission (2015). *Chinese Pharmacopoeia (Vol.1)*. Beijing: Chemical Industry Press, 141 (in Chinese) [国家药典委员会(2015). *中国药典(一部)*. 北京: 化学工业出版社, 141]
- Stebbins GL (1971). *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. London: Edward Arnold, 48: 85
- Sun GF, Zhao YX, Yang JW, et al (2019). Karyotype analysis and comparison of nine varieties of *Cosmos bipinnata*. *J West Chin For Sci*, 48: 48–52, 69 (in Chinese with English abstract) [孙桂芳, 赵艺璇, 杨建伟等(2019). 波斯菊9个品种的核型分析与比较. *西部林业科学*, 48: 48–52, 69]
- Wang LJ, Tian J, Sheng MY (2017). Karyotype analysis of ten *Epimedium* species and its taxonomic implications. *J Sichuan Agric Univ*, 35: 389–395 (in Chinese with English abstract) [王霖娇, 田静, 盛茂银(2017). 10种淫羊藿属植物核型分析及其分类学的意义. *四川农业大学学报*, 35: 389–395]
- Wu CH, Fan SL, Wang LJ (2014). Fluorescence *in situ* hybridization and karyotyping analysis of rDNA and *C₀t-1* DNA in *Brassica campestris*. *Plant Physiol J*, 50: 1216–1222 (in Chinese with English abstract) [吴春红, 范双莉, 王力军(2014). 白菜rDNA及*C₀t-1* DNA的荧光原位杂交及其核型分析. *植物生理学报*, 50: 1216–1222]
- Wu CM (1996). Estimation of karyotype resemblance-near coefficient and evolutionary distance. *Acta Zootaxonom Sin*, 21: 338–344 (in Chinese with English abstract) [吴昌谋(1996). 核型似近系数和进化距离的估计. *动物分类学报*, 21: 338–344]
- Yang GS, Leng QY, Wang CD, et al (2016). A karyological study of 16 *Anthrrium* cultivars. *Chin J Trop Crops*, 37: 2283–2287 (in Chinese with English abstract) [杨光穗, 冷青云, 王呈丹等(2016). 16个红掌品种的核型分析. *热带作物学报*, 37: 2283–2287]
- Yao L, Yi H, Gao HM et al (2016). Comparison of alkaloids in roots of cultivated and wild *Sophora flavescens*. *Chin J Chin Mater Med*, 41: 3968–3974 (in Chinese with English abstract) [姚丽, 易红, 高慧敏等(2016). 野生与栽培苦参生物碱含量的比较研究. *中国中药杂志*, 41: 3968–3974]
- Zhao RH, Miao HM, Ma Q, et al (2018). Karyotype comparison analysis of the wild species *Sesamum alatum* and the cultivated sesame. *Acta Univ Nankaisis*, 51: 27–36 (in Chinese with English abstract) [赵瑞红, 苗红梅, 马琴等(2018). 芝麻野生种*Sesamum alatum*与栽培种*Sesamum indicum*核型比较分析. *南开大学学报*, 51: 27–36]

Chromosome number and karyotype analysis of *Sophora flavescens* Ait. from eight different habitats

LEI Hai-Ying¹, HOU Qin-Wen¹, BAI Feng-Lin¹, ZHAO Nan¹, HE Bao-Bao¹, WANG Zhi-Jun^{2,*}

¹Department of Biological Science and Technology, Changzhi University, Changzhi, Shanxi 046011, China

²Department of Chemistry, Changzhi University, Changzhi, Shanxi 046011, China

Abstract: As a traditional medicinal plant in China, *Sophora flavescens* from different habitats has different shapes, and its genetic relationship and evolution is unknown. In this paper, the karyotype characteristics of *Sophora flavescens* from 8 different habitats were compared and their karyotype similarity coefficients were clustered. The results showed that the chromosome numbers of *Sophora flavescens* from 8 habitats were highly constant, all of which were $2n=2x=18$, $x=9$. Chromosomes were mainly centromeric subtype (m) and subcentral centromere type (sm), as well as proximal centromeric type (st). The chromosome classifications included L-type of long chromosome, M₂-type of medium-long chromosome, M₁-type of medium-short chromosome and S-type of short chromosome. The karyotype formulas of *Sophora flavescens* from 8 habitats were different. The average arm ratio (AR) was 1.10–1.98, the chromosome length ratio (LC/SC) was 1.70–2.48, and the karyotype asymmetry coefficient (As.K) is 29.64%–45.75%. There were three types of karyotypes: 2A, 1B and 2B. The results of karyotype cluster analysis showed that 8 habitats *Sophora flavescens* could be divided into two main categories, among which was the closest genetic relationship of Wuxiang County and Changzhi County of Changzhi City, in Shanxi Province. The result will provide a reference for the breeding, germplasm identification and genome analysis of *Sophora flavescens*.

Key words: *Sophora flavescens* Ait.; chromosome; karyotype analysis

Received 2019-04-08 Accepted 2019-07-03

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (21201024), Key Discipline Construction Project of Shanxi Province (FSKSC), the Youth Science and Technology Research Fund of Shanxi Province (201801D221323), and the University Science and Technology Innovation Fund Project of Shanxi Education Department (201802106).

*Corresponding author (czxywzj@163.com).