

沙田柚实生苗染色体的荧光显带分析

苗 茵^{1,2} 徐凤娇¹ 兰 红² 陈春丽^{1,2}

1. 华中农业大学生命科学技术学院, 武汉 430070; 2. 华中农业大学园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070

摘要 采用 CMA (chromomycin A3, CMA) 和 DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 双荧光染色方法, 分析了沙田柚实生苗根尖染色体的荧光带型和核型结构。结果表明: 沙田柚实生苗染色体存在 6 种不同类型的 CMA 荧光带型, 即染色体臂两端及近着丝粒部位均有荧光带 (A 型)、染色体臂一端及近着丝粒部位共有 2 处荧光带 (B 型)、染色体臂两端有荧光带 (C 型)、仅染色体臂一端有荧光带 (D 型)、染色体臂一端有较弱荧光带 (E 型) 及染色体上无荧光带 (F 型)。大部分实生苗染色体的 CMA 带型公式是 $2n=18=3A+1B+2C+4D+8F$, 其他实生苗的染色体组成是 $2n=18=3A+1B+2C+4D+4E+4F$ 、 $3A+1B+2C+4D+8E$ 、 $2n=18=2A+2B+2C+4D+8F$ 和 $2n=18=2A+2B+2C+4D+4E+4F$ 。染色体的 DAPI 带型与 CMA 带型有相反带纹, 并存在不同程度的弱带。同时观察到体细胞染色体联会现象和 2~4 个染色体脆性位点。

关键词 沙田柚; 荧光带型; 染色体联会; 脆性位点; 染色体结构

中图分类号 S 666.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2014)01-0018-06

染色体显带技术主要有 C 带 (centromere, 着丝粒)、Q 带 (quinacrine, 荧光染料喹吖因)、G 带 (Giemsa, 吉姆萨染料) 和 R 带 (reverse, 相反) 等多种显带技术^[1]。近年, 结合 2 种碱基特化染色剂的荧光显带技术开始在许多物种的染色体研究方面发挥独特作用, 一种是色霉素 A3 (chromomycin A3, CMA), 是一类 GC 碱基特化的荧光染料; 另一种是 AT 碱基特化的 4',6- 二脒脲 -2- 苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 荧光染料^[2]。基于物种不同染色体上异染色质区大小及分布位置的差异性, 2 种荧光染色剂在不同染色体不同位置呈现出清晰、稳定的带型, 尤其 CMA 带型可形成特定的染色体细胞学标记^[3-4]。这一技术在柑橘类植物上应用可有效区分和鉴定部分染色体, 已成为柑橘遗传育种研究中的重要工具^[5-6]。

沙田柚 (*Citrus grandis* 'Shatianyou') 又称金柚, 是我国柑橘类植物中特有的栽培柚良种, 以品质优良著称, 尤以广西容县沙田柚最好, 但其起源不详, 其遗传组成亟待研究。另外, 柑橘类植物通常被认为遗传上有较高的杂合性^[7], 染色体带型和核型分析对探讨它们的亲缘关系和育种工作都十分重

要。本研究随机选取沙田柚实生苗, 对其根尖体细胞染色体进行 CMA/DAPI 荧光显带和核型分析, 可以有效地鉴定沙田柚的染色体组成, 确定沙田柚的染色体整体特征, 有助于了解沙田柚在柑橘属植物中的种系发生、物种进化、亲缘关系, 从而为柑橘遗传育种研究提供细胞学信息。

1 材料与方法

1.1 材料与染色体制备

在国家柑橘育种中心实验基地采集沙田柚的成熟果实, 随机收集其种子。将种子置于 28 ℃ 光照培养箱培养, 取生长 10 d 左右的实生苗主根或侧根根尖 3~5 mm。参照陈瑞阳等^[8] 的方法进行根尖处理和染色体制片, 略有修改。饱和对二氯苯预处理根尖 2 h, 0.075 mol/L KCl 低渗 30 min, 新鲜卡诺氏固定液 ($V_{\text{无水乙醇}} : V_{\text{乙酸}} = 3 : 1$) 固定 12~24 h。根尖充分水洗后用含 0.25% 果胶酶 (Sigma)、0.25% 果胶酶 Y-23 (Yakult) 和 0.5% 纤维素酶 RS (Onozuka) 的混合酶液 37 ℃ 酶解 60~70 min。吸取 1 个酶解后的根尖于干净载玻片上, 置于体视镜下用解剖针除去根尖分生区以外的细胞, 加 1 滴

收稿日期: 2013-09-03

基金项目: 国家自然科学青年基金项目(30900070)、国家自然科学基金项目(J1103510)和中央高校基本科研业务费专项(2013PY084)

苗 茵, 硕士研究生。研究方向: 植物分子细胞遗传。E-mail: 408569468@qq.com

通信作者: 陈春丽, 博士, 副教授。研究方向: 植物分子细胞遗传学及植物细胞发育生物学。E-mail: chenchunli@mail.hzau.edu.cn

60% 乙酸 1 min, 再滴 1~2 滴固定液使细胞分散, 火烤至着火。最后 20 倍相差显微镜下镜检染色体制片, 记录分裂相的坐标。

1.2 荧光染色、观察与图像处理

每张染色体制片加 CMA (5 mg/mL) 与 DAPI (5 μ g/mL) 混合液 100 μ L, 室温下避光 2 h 对染色体进行荧光染色。抗淬灭剂 Vectashield (Vector Laboratories, Peterborough, UK) 封片, 4 $^{\circ}$ C 过夜。Zeiss Scope A1 荧光显微镜 (Zeiss 公司, Germany) 紫外激发下观察 DAPI 蓝色荧光, 蓝色激发下观察 CMA 黄色荧光, 数码相机 (Hamamatsu CCD, Japan) 拍照。用图像软件 Adobe Photoshop 8.0 (Adobe Systems, San Jose, CA, USA) 对图像进行处理, 包括荧光图像的合成、图像对比度和亮度调整、裁剪等。

1.3 染色体测量及核型模式图绘制

采用图像分析软件 Image-Pro Plus 6.0 分别测量染色体长、短臂的长度。根据乔永刚等^[9]方法采用 Excel 软件将核型数据 (各条染色体的长、短臂长度) 输入制作核型模式图。

2 结果与分析

2.1 沙田柚染色体的 CMA 带型

荧光显微观察显示, CMA 染色剂在沙田柚实生苗根尖细胞的较多染色体上呈现出不同位置和不同大小的较强黄色荧光亮带, 部分染色体上观察到较弱的黄色荧光亮点, 部分染色体上没有表现出黄色亮点。对 120 株沙田柚实生苗体细胞染色体进行 CMA 荧光染色统计分析, 表明沙田柚实生苗染色体存在 6 种不同类型的 CMA 荧光带型 (图 1), 它们分别是: 染色体臂两端及近着丝粒部位有较强的 CMA 黄色荧光带 (A 型)、染色体臂一端及近着丝粒部位共有 2 处较强 CMA 黄色荧光带 (B 型)、染色体臂两端均有较强 CMA 荧光带 (C 型)、仅染色体臂一端有明显 CMA 荧光带 (D 型)、染色体臂一

端有较弱 CMA 荧光带 (E 型) 及染色体上无可见 CMA 荧光带 (F 型)。

2.2 沙田柚实生苗根尖染色体的 CMA/DAPI 带型

对沙田柚实生苗的染色体组成进行观察和统计, 发现沙田柚实生苗根尖细胞染色体呈 $2n=18$ 的稳定数目。依据图 1 中 CMA 带型分类对 6 种沙田柚染色体类型进行分析, 实生苗根尖染色体有 5 种不同构型的组成 (表 1, 图 2)。在观察的 120 株实生苗中, 54 株呈现出 3 条 A 型、1 条 B 型、2 条 C 型、4 条 D 型及 8 条 F 染色体的组成 (即 3A+1B+2C+4D+8F, 图 2-3), 接近观察总数的一半; 22 株实生苗的染色体组成除了含有一致的 A、B、C、D 4 种类型外, 还有 4 条 E 型和 4 条 F 型 (即 3A+1B+2C+4D+4E+4F, 图 2-6); 7 株染色体组成是 3A+1B+2C+4D+8E (图 2-7); 11 株实生苗染色体由 A、B、C 型各 2 条, 以及 D、E、F 型各 4 条组成 (2A+2B+2C+4D+4E+4F, 图 2-8); 余下 26 株实生苗染色体组成是 A、B、C 型各 2 条和 4 条 D 型、8 条 F 型染色体 (2A+2B+2C+4D+8F, 图 2-9)。在这些沙田柚实生苗中, 可以看出 C 型和 D 型染色体数目稳定, 分别是 2 条和 4 条, A、B、E 和 F 这 4 种类型的染色体数目不定。

表 1 沙田柚实生苗根尖染色体的 CMA 带型公式

Table 1 CMA banding patterns of somatic chromosomes of 'Shatianyou'

种类 Types	组成 Construction	实生苗株数 Seedlings No.
1	3A+1B+2C+4D+8F	54
2	3A+1B+2C+4D+4E+4F	22
3	3A+1B+2C+4D+8E	7
4	2A+2B+2C+4D+4E+4F	11
5	2A+2B+2C+4D+8F	26

大部分实生苗植株的根尖细胞核中也呈现明显的 16 个 CMA 荧光亮点。这与第一种类型的染色体上 CMA 荧光带纹总数相同, 暗示 CMA 染色的富含 GC 碱基的异染色质在细胞核仍然浓缩在一起。在染色体 CMA 染色较强区域 DAPI 则呈现较弱信号。但我们也观察到, 并不是所有 DAPI 荧光较弱区域都会呈现 CMA 带纹, 有部分 DAPI 染色较弱区域并未出现 CMA 带纹, 如图 2-3, 最长的 1 对 F 型染色体端部明显 DAPI 荧光较弱。

我们在沙田柚根尖细胞部分分裂相中观察到体细胞染色体联会现象, 1 条 C 型染色体的一端和 1 条 D 型染色体的 CMA 亮带端发生联会 (图 2-3)。

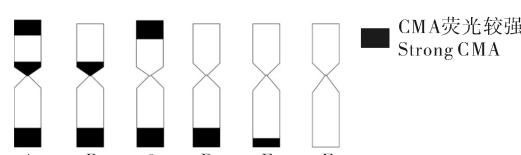
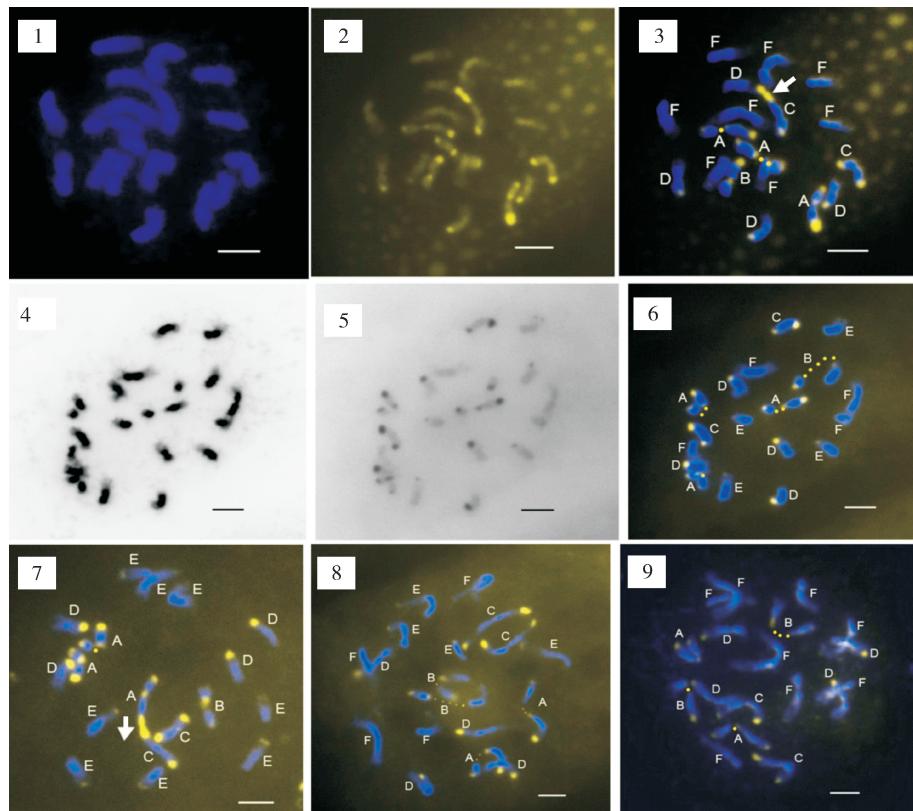


图 1 依据 CMA 带纹区分的 6 种沙田柚染色体类型模式

Fig. 1 Schematic representation of six chromosome types in 'Shatianyou' according to the position of CMA-positive bands

1条A型染色体的一端和1条C型染色体的一端也较紧密地结合在一起(图 2-7)。另外,在沙田柚实生苗体细胞染色体中,A 和 B 这 2 种类型染色体常

常出现脆性位点(图 2-3、6~9)。非常明显的是,这些脆性位点都是出现在染色体近着丝粒处的 CMA 带附近部位。



1~3:第1类沙田柚实生苗根尖染色体荧光图像 The fluorescent image of first chromosome type of 'Shatianyou' seedling root tip; 1:DAPI 染色 DAPI staining; 2:CMA 染色 CMA staining; 3:1 和 2 合成的图像 The image combined with 1 and 2 (箭头示意染色体联会 Arrow indicate synapsis); 4~6:第2类沙田柚实生苗根尖染色体荧光图像 The image of the second chromosome type; 4:DAPI 染色 DAPI staining(去色,反相 Color discarded and inverted); 5:CMA 染色 CMA staining(去色,反相 Color discarded and inverted); 6:4 和 5 合成的图像 The image combined with 4 and 5; 7~9:CMA/DAPI 染色合成的沙田柚实生苗根尖染色体荧光图像 The image combined CMA and DAPI banding image; 7:第3类 The third chromosome type image(箭头示意染色体联会 Arrow indicate synapsis); 8:第4类 The forth chromosome type image; 9:第5类 The fifth chromosome type image. 图中 A、B、C、D、E 和 F 表示以 CMA 带型区分的染色体类型 Letters in A, B, C, D, E and F indicate chromosome types according to CMA patterns; 黄色小圆点处示意染色体脆性位点 Small yellow dots indicate the position of chromosome fragile sites, 标尺 = 3 μm Bar = 3 μm.

图 2 CMA 和 DAPI 荧光染色的沙田柚根尖染色体

Fig. 2 CMA/DAPI staining of somatic chromosomes in 'Shatianyou' seedlings

2.3 沙田柚实生苗体细胞染色体的核型分析

将观察到的沙田柚实生苗 5 种染色体类型中最主要的第 1 种类型(3A+1B+2C+4D+8F)进行核型分析,染色体的测量参数及核型分析参数见表 2。依据这些染色体参数以及 CMA/DAPI 双荧光带型绘制出沙田柚实生苗典型染色体类型的核型模式图(图 3)。沙田柚体细胞染色体数目为 $2n=2x=18$,

染色体基数是 $x=9$ 。染色体的绝对长度为 $2.07\sim4.66\text{ }\mu\text{m}$,全组染色体总的绝对长度为 $56.67\text{ }\mu\text{m}$,染色体平均绝对长度为 $3.15\text{ }\mu\text{m}$,染色体相对长度组成为 $3.66\%\sim8.23\%$,臂比为 $1.06\sim2.37$,着丝点类型主要是 m 和 sm,最长染色体与最短染色体的比值为 2.25,臂比值大于 2 的染色体占 22.2%,核型不对称性属于 stebbins^[10]的 2B 型。

表 2 沙田柚实生苗体细胞染色体参数

Table 2 Chromosome lengths, arm ratio and types of 'Shatianyou'

染色体编号 Chromosomes No.	相对长度/% Relative length				臂比 (Long arm/Short arm)	着丝点指数 Number of fundamental	染色体类型 Types
	长臂 Long arm	短臂 Short arm	总长 Total				
1	4.62	3.60	8.23		1.28	43.78	m
2	3.56	3.01	6.56		1.18	45.83	m
3	4.38	3.41	7.79		1.28	43.77	m
4	2.75	2.61	5.35		1.05	48.72	m
5	3.31	3.26	6.57		1.01	49.64	m
6	3.33	3.05	6.37		1.09	47.82	m
7	4.01	2.19	6.20		1.84	35.26	sm
8	4.16	1.98	6.14		2.11	32.20	sm
9	3.58	2.36	5.94		1.52	39.67	m
10	2.86	2.69	5.56		1.06	48.49	m
11	3.76	1.65	5.41		2.28	30.50	sm
12	3.47	1.82	5.29		1.91	34.39	sm
13	3.47	1.46	4.93		2.37	29.65	sm
14	2.44	1.78	4.22		1.37	42.18	m
15	2.88	1.33	4.21		2.16	31.68	sm
16	2.16	1.59	3.75		1.36	42.42	m
17	2.15	1.67	3.82		1.29	43.70	m
18	2.20	1.46	3.66		1.51	39.90	m

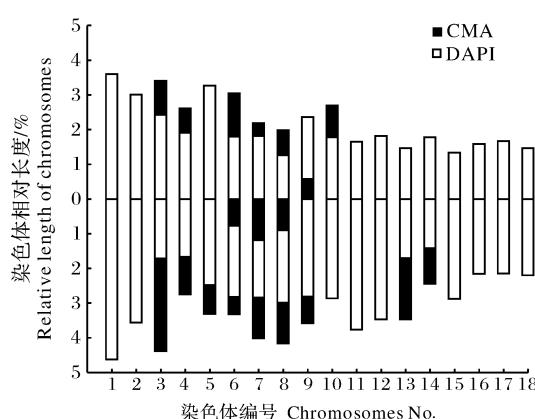


图 3 沙田柚实生苗根尖染色体主要类型的核型模式图

Fig. 3 The main karyotype ideogram of 'Shatianyou' somatic chromosomes

3 讨 论

与其他植物染色体显带技术如 C 带、Q 带、G 带和 R 带等相比, 本研究中使用的 CMA/DAPI 双荧光显带法显得简单、高效, 染色体呈现出稳定的带纹特征, 在植物染色体研究中常有使用^[11-13]。CMA/DAPI 带纹的特征性可用来识别染色体, 如本试验沙田柚实生苗体细胞中, 数目较少的 A、B、C 及最长的 F 型染色体都可直接被 CMA/DAPI 双荧光染色鉴定出来, 尤其 CMA 染色具有鲜明的染色体荧光特征, 同一种材料不同细胞之间的带型表现相当一致。因此, CMA 带型分析是鉴定柑橘类植物

染色体的有效方法。DAPI 荧光显带呈现出 AT 富有区荧光强而 GC 富有区荧光弱的明暗相间的染色体条带。结合应用生物学软件, 将染色体进行 3D 重建, 可以显示出染色体上丰富的 DAPI 带纹^[14-15], 为染色体结构分析提供更多信息。这一技术在大麦、水稻和百合等植物染色体分析中显示的染色体带型特征信息量不亚于 G 带^[14]。

沙田柚实生苗体细胞染色体 CMA 带型含有较多的 D 型和 F 型染色体。已报道的柑橘类植物染色体研究表明它们都含有数目较多的 D 型和 F 型^[3, 6, 13, 16-17]。由此推测这 2 种类型可能是柑橘类植物染色体的基本型。同时还出现了比较少见的 A 型、B 型和 C 型染色体, 这些特殊带型染色体的存在, 对于研究沙田柚与其他柑橘植物的亲缘关系及其起源进化具有非常重要的参考价值。在沙田柚所有实生苗体细胞染色体中, 第 1 对染色体的特征都表现出一致性, 是没有 CMA 带纹的 F 型, 且染色体长、短臂两端会显示出清晰的 DAPI 荧光较弱区域, 很容易分辨出来。有文献将之称为 FL 型染色体, 在柑橘类植物中广泛存在, 被认为是高度保守的 1 对^[16-17]。这些 CMA/DAPI 带型为了解沙田柚基因组结构提供了重要信息。

沙田柚实生苗染色体的 CMA/DAPI 带型呈现出多样性, 是因为沙田柚和其他柚类一样, 是自交不亲和植物, 栽培通常采用嫁接繁殖。从沙田柚果实中取的种子是杂种, 沙田柚母株为其母本, 父本为其

他品种的柑橘,那么通过种子得到的实生苗即为F1代,F1代发生性状分离,当CMA/DAPI混合染色时,染色体就会出现多种带型,并且呈现出高度杂合性。推测这也正是我们在分析染色体核型时同源染色体差异较大的原因之一。另外,柑橘类植物染色体有不同程度的杂合^[3],因而存在同源染色体之间细胞学特征不完全一致的现象。

本研究观察到沙田柚实生苗较多数细胞中出现染色体联会现象。而体细胞染色体联会不是所有植物共有的特性和规律,是在部分植物中同源或非同源染色质相互吸引粘合而发生的特有现象。该现象在柑橘中目前仅有少数报道,一例是在辐射诱变得到的少核红橘中观察有体细胞联会^[18],另一例是在“三叶”宜昌橙体细胞有丝分裂中发现的^[19]。但其形成机制和生物学意义并不清楚,有待于进一步研究。本研究中的试验材料为研究体细胞联会这一特殊现象的形成机制及生物学意义提供了重要基础。本研究发现部分染色体出现2~4个脆性位点,即在A型或B型染色体次缢痕的CMA带处常常出现染色体断裂现象。推测正是由于脆性位点的出现,使得个别报道认为沙田柚染色体数目是20条^[20]。脆性位点在人类和动物细胞遗传学中研究较多,一般认为发生在染色体的一些特殊位点上,而不是随机的染色体断裂,是基因组不稳定性的表现,在人类和动物中常常造成病变^[21]。植物中少有关于染色体脆性位点的研究,仅有报道在具有大染色体的黑麦草和大麦中存在脆性位点^[22-23]。

本研究采用CMA及DAPI双荧光显带对沙田柚实生苗体细胞染色体进行带型和核型分析,并观察到其体细胞染色体联会现象和染色体脆性位点特征,为柑橘类植物染色体的结构与功能带来更多新的认识。下一步将荧光显带结合其他技术,如染色体荧光原位杂交(FISH)等进行研究,判定沙田柚及其他柑橘类植物的亲缘关系及系统进化特征,并为柑橘遗传育种提供细胞学水平上的理论依据。

参 考 文 献

- [1] 周雪雁,关伟军,马月辉,等.染色体显带技术及其在生物学研究中的意义[J].上海畜牧兽医通讯,2004(5):2-3.
- [2] 朱激,林辰涛.一种新型的DNA荧光染料——DAPI的光学特性及其应用[J].武汉植物学研究,1986,4(1):91-102.
- [3] GUERRA M. Cytogenetics of Rutaceae. V. High chromosomal variability in *Citrus* species revealed by CMA /DAPI staining [J]. Heredity, 1993, 71:234-241.
- [4] 杨晓玲,程舟.用荧光素显带技术识别柑橘杂种染色体的多样性[J].同济大学学报:自然科学版,2007,35(5):705-707.
- [5] 吉前华,郭雁君.柑橘类植物染色体研究进展和对柑橘育种的启示[J].西南农业学报,2010,23:1338-1345.
- [6] ESILVA A E, ANDRÉ M, DOS-SANTOS K G, et al. The evolution of CMA bands in *Citrus* and related genera [J]. Chromosome Research, 2010, 18:503-514.
- [7] PEDROSA A, SCHWEIZER D, GUERRA M. Cytological heterozygosity and the hybrid origin of sweet orange(*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)[J]. Theor Appl Genet, 2000, 100:361-367.
- [8] 陈瑞阳,宋文芹,李秀兰.植物染色体标本制备的去壁、低渗法及其在细胞遗传学中的意义[J].遗传学报,1982,9(2):151-159.
- [9] 乔永刚,宋美.利用Excel制作核型模式图[J].农业网络信息,2006(10):97-99.
- [10] STEBBINS G L. Chromosomal evolution in higher plant [M]. London: Edward Arnold Ltd, 1971:85-104.
- [11] 徐进,陈天华,王章荣,等.不同种源染色体荧光带型的研究[J].南京林业大学学报:自然科学版,2001,25(9):11-16.
- [12] PEDROSA-HARAND A, KAMI J, GEPTS P, et al. Cytogenetic mapping of common bean chromosomes reveals a less compartmentalized small-genome plant species [J]. Chromosome Research, 2009, 17:405-417.
- [13] SILVA A E B, MARQUES A, FILHO-W-DOS S S, et al. The cytogenetic map of the *Poncirus trifoliate* (L.) Raf.—a nomenclature system for chromosomes of all citric species [J]. Tropical Plant Biology, 2011, 4:99-105.
- [14] LIU J Y, SHE C W, HU Z L, et al. A new chromosome fluorescence banding technique combining DAPI staining with image analysis in plants[J]. Chromosoma, 2004, 113:16-21.
- [15] WANG J, TAN Y. A novel genetic programming algorithm for designing morphological image analysis method; ICSI'11 Proceedings of the Second International Conference on Advances in Swarm Intelligence [C]. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2011:549-558.
- [16] YAMAMOTO M, ABKENAR A, MATSUMOTO R, et al. CMA banding patterns of chromosomes in major *Citrus* species [J]. J Japan Soc HortSci, 2007, 76 (1):36-40.
- [17] SILVAA E B, MARQUES A, SANTOS K G B, et al. The evolution of CMA bands in *Citrus* and related genera [J]. Chromosome Research, 2010, 18:503-514.
- [18] 任振川,梁国鲁,朱四新,等.等辐射诱发红桔少核的细胞遗传学[J].核农学报,1991,5(3):129-133.
- [19] 李晔,汪卫星,向素琼,等.“三叶”宜昌橙体细胞联会现象观察与分析[J].中国南方果树,2012,41(3):26-28.
- [20] 申定健,唐正义,祝华珍.柑橘属6种植物染色体核型比较分析[J].内江师范学院学报,2006,21:53-57.
- [21] 涂知明,柯致和.染色体脆性位点的研究进展[J].国外医学遗传学分册,1993(5):237-242.
- [22] HUANG J, MA L, YANG F, et al. 45S rDNA regions are chromosome fragile sites expressed as gaps *in vitro* on metaphase

- chromosomes of root-tip meristematic cells in *Lolium* spp. [J]. PLoS ONE, 2008, 3(5): e2167.
- [23] CHEN A, BRULÉ-BABEL A, BAUMANN U, et al. Collins structure-function analysis of the barley genome: the gene-rich region of chromosome 2HL [J]. *Funct Integr Genomics*, 2009, 9: 67-79.

Chromosome analysis of *Citrus grandis* ‘Shatianyou’ seedlings using fluorescent banding

MIAO Yin^{1,2} XU Feng-jiao¹ LAN Hong² CHEN Chun-li^{1,2}

1. College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. Key Laboratory of Horticultural Plant Biology (Ministry of Education), Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract The karyotype and fluorescent banding of chromosomes from root tips of *Citrus grandis* ‘Shatianyou’ seedling were analyzed by CMA/DAPI double staining to investigate the chromosomal structure of ‘Shatianyou’. Results showed that there were six different CMA banding patterns: A type was a chromosome with two terminal and one proximal bands; B was a chromosome with one terminal and one proximal band; C was a chromosome with two terminal bands; D, a chromosome with one terminal band; E, a chromosome with one small terminal band only; F, a chromosome without any bands. CMA banding pattern formula of most seedlings was $2n=18=3A+1B+2C+4D+8F$, whereas some were $2n=18=3A+1B+2C+4D+4E+4F$, $2n=18=3A+1B+2C+4D+8E$, $2n=18=2A+2B+2C+4D+8F$ or $2n=18=2A+2B+2C+4D+4E+4F$. Compared with CMA bands, DAPI bands were opposite patterns and there were some weak DAPI signals in different degrees. Somatic chromosome synapsis and 2-4 fragile sites were also observed.

Key words *Citrus grandis* ‘Shatianyou’; fluorescence banding pattern; chromosome synapsis; fragile site; chromosomal structure

(责任编辑:张志钰)