

AGATA MADEJ

Zakład Cytologii i Embriologii Roślin
Uniwersytet Jagielloński
ul. Grodzka 52, 31-044 Kraków

KINETOCHOR DYFUZYJNY

WSTĘP

Kinetochor stał się w ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań. Wynika to z ważnej roli jaką odgrywa w cyklu komórkowym. Ponieważ większość badań jest przeprowadzanych na zlokalizowanych kinetochorach ssaków, kinetochor niezlokalizowany jest poznany w znacznie mniejszym stopniu. Jego pochodzenie, struktura, występowanie stanowią wciąż otwarty problem.

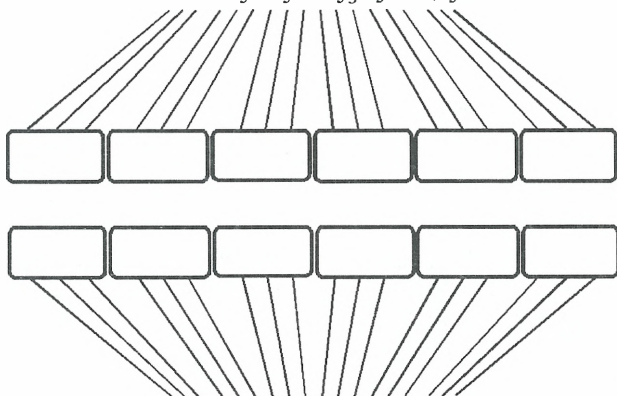
Kinetochor jest wyspecjalizowaną strukturą, odpowiedzialną za przyłączanie mikrotubul wrzeciona podziałowego do chromosomu. Jest także związany z molekularnym mechanizmem ruchu chromosomów w trakcie podziału komórki (BAJER i MOLÉ-BAJER 1972, BRINKLEY i współaut. 1989, RIEDER 1982, 1990, MITCHISON 1990). Terminy centromer i kinetochor były pierwotnie używane jako synonimy, co wynikało ze ścisłego powiązania strukturalnego i funkcjonalnego. MURRAY i SZOSTAK (1985) zaproponowali, aby termin centromer oznaczał nieć DNA, natomiast kinetochor — białkowe komponenty zasocjowane z centromerowym DNA. Skład biochemiczny oraz molekularna organizacja kinetochoru są dopiero poznawane. Duże znaczenie miało odkrycie przeciwciał antykinetochorowych w surowicy ludzi chorych na sklerodermę odmiany CREST (MOROI i współaut. 1980). Pozwoliło to na poznanie rodziny białek występujących w obszarze centromerów (CENP centromere proteins), których masa molekularna waha się od 14 do 140 kDa (BRINKLEY i współaut. 1989). Białka te dość dobrze opisano (KINGWELL i RATTNER 1987, WITT 1994). Jednak dokładne położenie poszczególnych białek w obrębie regionu centromer-kinetochor, a co za tym idzie ich funkcje, są zbadane dopiero w niewielkim stopniu. Badania EARNSHAWA i MIGEONA (1985) oraz EARNSHAWA i współpracowników (1989) dotyczące lokalizacji CENP-B i

CENP-C dowiodły, że CENP-C jest specyficzne dla kinetochoru, a CENP-B wydaje się być związane z obszarem centromerowym. Dalsze badania dowiodły, że CENP-B wiąże się bezpośrednio z fragmentem sekwencji alfoidalnych, który nazwano CENP-B box (WITT 1994). Kompleks kinetochor-centromer został przebadany z zastosowaniem przeciwciał antykinetochorowych w chromosomach człowieka, kilku gatunków ssaków (ZINKOWSKI i współaut. 1991) oraz jednego gatunku roślinnego *Haemanthus katherinae* Bak. (MOLE-BAJER i współaut. 1990). Występowanie białek rozpoznawalnych przez te same przeciwciała w obszarze kinetochorów odległych filogenetycznie organizmów wskazuje na wysoki konserwatyzm białek tego regionu w trakcie ewolucji.

Większość organizmów posiada kinetochor zlokalizowany, mieszczący się w jednym miejscu chromosomu, to jest na powierzchni centromeru czyli przewężenia pierwotnego. Wielkość kinetochoru zlokalizowanego jest skorelowana z wielkością centromeru, który nie jest strukturą o stałej masie i rozmiarze. Objętość centromeru jest zmienna i ściśle zależy od objętości i masy chromosomu, do którego należy (BENNETT i współaut. 1981). Kinetochor zlokalizowany przyjmuje różne formy strukturalne w zależności od organizmu. U ssaków, niektórych glonów, owadów, pierwotniaków występuje w postaci pojedynczego lub wielowarstwowego dysku. Większość przebadanych roślin wyższych (np. *Haemanthus*, *Lillium*, *Allium*) posiada kinetochor określany jako typ „ball and cup” będący kulą niezdefiniowanego materiału zagłębioną w gęstszej elektronowo chromatynie. Kinetochor, bez wyraźnej struktury, trudny do odróżnienia od chromatyny, do którego przyłącza się zazwyczaj jedna mikrotubula, występuje u niektórych owadów i grzybów, na przykład

drożdży (RIEDER 1982, BRINKLEY i współaut. 1989). U nielicznych przedstawicieli świata zwierzęcego i roślinnego chromosomy nie posiadają przewężenia pierwotnego, a mikrotubule przyłączają się w różnych, licznych miejscach chromosomu. W konsekwencji chromatydy w trakcie ruchu dobiegunowego przesuwały się równolegle względem siebie (ryc. 1). Taki typ kinetochoru został nazwany dyfuzyjnym (syn.

rozproszony) (SCHRADER 1935), niezlokalizowanym, a chromosomy holokinetycznymi. W wyniku takiego ukształtowania kinetochoru, fragmenty chromosomów powstałe w wyniku napromieniowania jonizującego przyłączają się do włókien wrzeciona i normalnie kontynuują ruch podczas anafazy (HAKANSSON 1954, 1958, BAUER 1967, MURAKAMI i IMAI 1974, TANAKA i TANAKA 1977, PAZY i PLITMANN 1994).



Ryc. 1. Schemat przedstawiający holokinetyczny ruch chromosomów.

WYSTĘPOWANIE CHROMOSOMÓW Z KINETOCHOREM ROZPROSZONYM

Kinetochor niezlokalizowany został opisany zarówno u zwierząt, jak i roślin. Stwierdzano jego obecność w chromosomach niektórych robaków obłych (ALBERTSON i THOMSON 1982, GODAY i współaut. 1992), owadów z rzędów Hemiptera (SCHRADER 1935, COMINGS i OKADA 1972, RIEDER i współaut. 1990, GONZÁLEZ-GARCIA i współaut. 1996), Lepidoptera (MURAKAMI i IMAI 1974, MAEKI 1981) i Trichoptera (cyt. wg WHITE'A 1978). W świecie roślin kinetochor niezlokalizowany został stwierdzony zarówno u roślin niższych, na przykład u *Spirogyra* (MUGHAL i GODWARD 1973), niektórych rodzajów Desmidiaceae (KING 1960), jak i u roślin kwiatowych. Wśród roślin jednoliściennych chromosomy holokinetyczne znajdowano u przedstawicieli rodzin Cyperaceae (HAKANSSON 1954, 1958, LÖVE i współaut. 1957, BRASELTON 1971), Juncaceae (NORDENSKIÖLD 1962, BRASELTON 1971, 1981, BOKHARI i GODWARD 1980) oraz Liliaceae (TANAKA i TANAKA 1977, 1979, 1980), zaś u roślin dwuliściennych zostały opisane u Myristicaceae (FLACH 1966) i Cuscutaceae (PAZY i PLITMANN 1991, 1994). Sugerowano występowanie kine-

tochoru dyfuzyjnego u Musaceae i Zingiberaceae (cyt. wg LÖVE i współaut. 1957), u owadów w rzędzie Odonata oraz u pajęczaków z rzędów Scorpionidea i Acarina (LIMA-DE-FARIA 1949), jednak informacje te nie zostały udokumentowane. Pierwsze obserwacje nad chromosomami holokinetycznymi były prowadzone w mikroskopie świetlnym w chromosomach mitotycznych i mejotycznych. W latach 70-tych zaczęto analizować strukturę kinetochoru niezlokalizowanego w mikroskopie elektronowym. Do badań tych należą między innymi obserwacje kinetochoru *Luzula purpurea* i *Cyperus alternifolius* (BRASELTON 1971), *Oncopeltus fasciatus* (COMINGS i OKADA 1972), *Spirogyra majuscula* (MUGHAL i GODWARD 1973), *Bombyx mori* i *B. mandarina* (MURAKAMI i IMAI 1974), *Luzula nivea* (BOKHARI i GODWARD 1980), *Luzula echinata* (BRASELTON 1981), *Eumeta variegata* (MAEKI 1981), *Caenorhabditis elegans* (ALBERTSON i THOMSON 1982), *Agallia constricta* (RIEDER i współaut. 1990), *Parascaris equorum* (GODAY i współaut. 1992).

CHROMOSOMY POLICENTRYCZNE VERSUS HOLOCENTRYCZNE

Na podstawie obserwacji ultrastruktury kinetochoru rozproszonego w mikroskopie elektronowym wyróżniono dwa jego typy. Różnice dotyczą rozpiętości materiału kinetochorowego wzdłuż chromosomu. Chromosomy z kine-

tochorem równomiernie rozmieszczonym na całej lub prawie całej jego długości nazwano holocentrycznymi (syn. holokinetyczny). W chromosomie z kinetochorem policentrycznym materiał kinetochorowy występuje w postaci kilku lub

kilkunastu odrębnych pakietów rozmieszczonych na jego powierzchni (LIMA-DE-FARIA 1949.)

Morfologia kinetochoru niezlokalizowanego jest różnorodna. Zazwyczaj kinetochor rozproszony przyjmuje postać materiału fibrylarnego rozciągniętego w formie pręta wzdłuż chromosomu, który jest mniej elektronowo gęsty niż chromatyna. U *Luzula purpurea*, *L. echinata* i *L. nivea* dobrze widoczny materiał kinetochorowy wydaje się być umiejscowiony we wgłębieniach chromatyny (BRASELTON 1971, 1981, BOKHARI i GODWARD 1980). W przypadku *Cyperus alternifolius* materiał kinetochorowy jest trudny do zaobserwowania (BRASELTON 1971).

Morfologia kinetochoru dyfuzyjnego w chromosomach mitotycznych i mejotycznych może być taka sama (BRASELTON 1971, 1981) lub odmienna. Chromosomy mitotyczne *Oncopeltus fasciatus* posiadają kinetochor o odrębnej strukturze, w postaci pasma materiału fibrylarnego. Natomiast podczas mejozy kinetochor jest niewidoczny, a mikrotubule wnikają wprost do chromatyny (COMINGS i OKADA 1972).

Kinetochor *Caenorhabditis elegans* (ALBERTSON i THOMSON 1982) i *Graphosoma italicum* (GONZÁLEZ-GARCIA i współaut. 1996) wykazuje strukturę trójwarstwową, przypominającą kinetochor ssaków, jednak warstwy te są rozciągnięte wzdłuż chromosomu.

Chromosomy policentryczne jako niestabilne są eliminowane w warunkach naturalnych, natomiast chromosomy z kinetochorem dyfuzyjnym osiągają normalną bipolarną orientację podczas podziałów. Znane są przypadki, kiedy w chromosomach policentrycznych jeden kinetochor jest funkcjonalny, podczas gdy pozostałe kinetochory tracą zdolności kinetyczne. Sugerował to VAARAMA (1954) w swojej hipotezie ewolucji kinetochoru. Takie zjawiska obserwuje się także w chromosomach policentrycznych powstałych na drodze mutacji strukturalnych w kulturach *in vitro* (JOACHIMIAK i współaut. 1993, 1995). Jednak w przypadku chromosomów z kinetochorem niezlokalizowanym są obserwowane mikrotubule wrzeciona przyłączone w kilku miejscach chromosomu, co wskazywałoby, że więcej niż jeden kinetochor jest funkcjonalny. W związku z tym istnieje wątpliwość, czy rzeczywiście takie chromosomy istnieją, czy raczej są to chromosomy holokinetyczne.

Chromosomy *Luzula purpurea* i *Cyperus alternifolius* zostały uznane za policentryczne na podstawie stwierdzenia, że region kinetochorowy na kolejnych skrawkach w mikroskopie elektronowym składa się z kilku odrębnych pakietów substancji fibrylarniej (BRASELTON 1971). U *Cyperus alternifolius* granice poszczególnych obszarów kinetochorowych zlewają się, ponie-

waż kinetochor słabo się wybarwia. Jednakże istnieją trudności związane z interpretacją topografii chromosomów na kolejnych skrawkach. Chromosomy mają tendencję do zlepiania się, nawet do tworzenia jednolitej masy. Wówczas mogą być widoczne jako chromosomy policentryczne, podczas gdy faktycznie są to zlepione ze sobą pojedyncze chromosomy posiadające kinetochor dyfuzyjny ciągnący się prawie przez całą długość chromosomów (BOKHARI i GODWARD 1980). Również policentryczność przypisywana chromosomom *Spirogyra* wydaje się być niepewna, bowiem dotyczy ona tylko jednego z długich chromosomów, w którym są obserwowane dwa miejsca przyczepu mikrotubul, podczas gdy pozostałe chromosomy mają jeden zlokalizowany kinetochor (MUGHAL i GODWARD 1973).

W przypadku *Agallia constricta* można mówić o policentryczności chromatyny metafazowej i anafazowej nie zaś w odniesieniu do poszczególnych chromosomów (RIEDER i współaut. 1990). Policentryczna chromatyna i jej holokinetyczny ruch anafazowy jest jedynie skutkiem agregacji lub kohezji małych, licznych prometafazowych chromosomów, z których każdy zawiera pojedynczy, dyfuzyjny kinetochor. Powstawanie połączeń miało miejsce w trakcie formowania się płytki metafazowej. Autorzy dowiedli, że kohezja chromosomów nie wynikała w tym przypadku z utrwalania glutaraldehydem, jak sugerowali BOKHARI i GODWARD (1980). Z tego wynika, że holokinetyczne chromosomy wykazują naturalną lepkość, która wpływa na zlepianie się ich ze sobą oraz na występowanie licznych mostów anafazowych widocznych w przypadku *Agallia constricta* (RIEDER i współaut. 1990).

Wśród Hemiptera również chromosomy *Dysdercus intermedius* zostały opisane jako policentryczne. Jednak z dalszych badań w mikroskopie elektronowym wynika, że poszczególne chromosomy łączą się ze sobą we wczesnej metafazie, a następnie rozchodzą się równolegle względem siebie jak duże policentryczne chromosomy. W przeciwieństwie jednak do *Agallia constricta*, chromosomy posiadają wyraźnie zlokalizowane kinetochory w formie warstwowej płytki (RUTHMANN i PERMANTIER 1973).

Chromosomy *Parascaris univalens* do niedawna były podawane jako klasyczny przykład chromosomów policentrycznych. Obiekt ten okazał się bardzo interesujący ze względu na występowanie różnych stadiów kinetochoru w różnych typach komórek (GODAY i współaut. 1992). Stwierdzono obecność czterech typów organizacji kinetochorów. W komórkach linii generatywnej są obecne dwa chromosomy mi-

totyczne, które są typowymi chromosomami holokinetycznymi z kinetochorem ciągnącym się przez całą eu- i heterochromatynę. Ale już podczas mejozy aktywność kinetyczna jest ograniczona do heterochromatynowych krańców chromosomów, a kinetochor nie ma wyodrębnionej struktury. Mikrotubule są przymocowane bezpośrednio do chromatyny. We wczesnych stadiach rozwoju zarodka kinetochor rozciąga się tylko wzdłuż euchromatyny. W dalszych podziałach komórek zarodka heterochromatyna ulega eliminacji, towarzyszy temu rozpad chromosomu na wiele fragmentów (około 60), z których każdy posiada pojedynczy kine-

tochor dyfuzyjny w formie płytki. Tak więc u *Parascaris* ma miejsce swoista regulacja organizacji kinetochoru dotycząca jego lokalizacji, rozmiarów oraz struktury. Proces ten jest związany z ubytkiem heterochromatyny; mechanizm tej eliminacji nie jest znany.

Z wyżej przedstawionego przeglądu organizmów, u których podawano występowanie chromosomów policentrycznych wynika, że w świetle nowych danych, uzyskanych przy zastosowaniu nowoczesnych technik badawczych, chromosomy te faktycznie reprezentują typ chromosomów z kinetochorem rozproszonym.

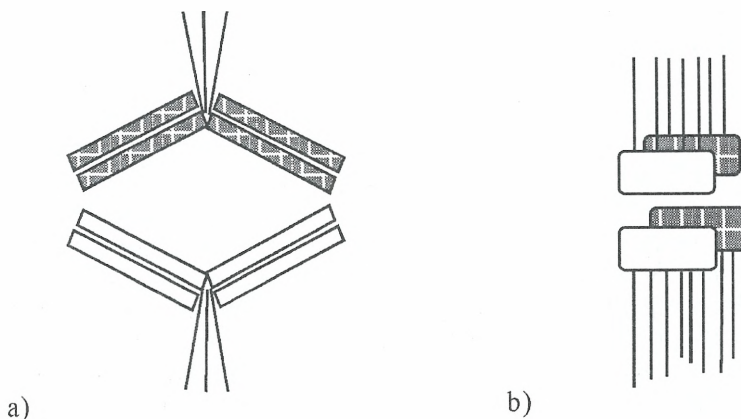
CHROMOSOMY HOLOKINETYCZNE A PRZEBIEG MEJOZY

Kinetochory chromatyd siostrzanych w pierwszej anafazie normalnej mejozy są ze sobą ściśle związane i funkcjonują jako jedna całość. W przypadku organizmów z kinetochorem dyfuzyjnym często dochodzi do przedwczesnego rozdziału chromatyd, w wyniku czego biwalent jest widoczny w postaci czterech niezależnych chromatyd połączonych ze sobą telomerami (BROWN 1954, NORDENSKIÖLD 1962, FLACH 1966, TANAKA i TANAKA 1980, BRASELTON 1981, PAZY i PLITMANN 1991). Taką odrębność chromatyd siostrzanych potwierdza rekonstrukcja kolejnych skrawków biwalentu *Luzula echinata* wskazująca na występowanie niezależnych obszarów kinetochorowych na każdej chromatydzie (BRASELTON 1981).

W normalnej mejozie podział redukcyjny, rozumiany jako rozdział chromosomów homologicznych, poprzedza podział wyrównujący, w którym następuje segregacja chromatyd siostrzanych (ryc. 2a). Mejozę taką określono jako preredukcyjną, ponieważ redukcja zachodzi w pierwszej kolejności (BATTAGLIA i BOYES 1955). U organizmów z kinetochorem dyfuzyjnym zaobserwowano, że kolejność podziałów w mejozie jest odwrócona (HUGHES-SCHRADER 1955, NORDENSKIÖLD 1962, STRANDHEDE 1965). W ta-

kiej mejozie chromosomy siostrzane segregują w podziale pierwszym, a redukcja ma miejsce w drugim podziale mejotycznym (ryc. 2b). Postredukcja wynika z autoorientacji chromosomów w metafazie I, czyli takiego ułożenia biwalentów, w którym ich długa oś jest prostopadła do osi wrzeciona. W takim przypadku chiazmy nie zanikają w podziale pierwszym, ale utrzymują się do metafazy II. Chiazmy takie zostały nazwane przez NORDENSKIÖLD (1962) chiazmami reliktowymi.

Chociaż postredukcja jest ściśle związana z występowaniem kinetochoru niezlokalizowanego, to jednak nie odnosi się ona do wszystkich organizmów z takim typem kinetochoru. Normalna mejoza ma miejsce między innymi u dwóch gatunków jedwabników (MURAKAMI i IMAI 1974) oraz dwóch gatunków *Chionographis* (TANAKA i TANAKA 1980). Wśród Homoptera część przebadanych gatunków podtypu Sternorrhyncha wykazuje postredukcję (HELENIUS 1952), podczas gdy u Auchenorrhyncha jest powszechna preredukcja (HALKKA 1959). Zarówno u Hemiptera, jak i u Lepidoptera są znane przypadki, kiedy mejoza przebiega odmiennie u osobnika męskiego i żeńskiego. W oogenezie mejoza może być postredukcyjna, a w sper-



Ryc. 2. Ułożenie chromatyd w pierwszym podziale mejotycznym, a) normalna mejoza — podział redukcyjny, b) mejoza postredukcyjna — podział wyrównujący. Jednakowym kolorem zaznaczono chromatydy siostrzane.

matogenezie preredukcyjna (SUOMALAINEN 1953, SUOMALAINEN i HALKKA 1963). Równie dobrze u osobników męskich może zachodzić mejoza odwrócona (HUGHES-SCHRADER 1955). Oba rodzaje mejozy mogą być również reprezentowane w jednej komórce. Wśród przebadanych Hemiptera różnice dotyczą autosomów i chro-

mosomów płci (SCHRADER 1935, HELENIUS 1952, UESHIMA 1963). Mejoza postredukcyjna była obserwowana w przypadku chromosomów zmutowanych pod wpływem promieniowania, a także triwalentu mieszańca *Bombyx mori* x *B. mandarina* (MURAKAMI i IMAI 1974).

ZMIANY W KARIOTYPIE

W grupie organizmów z chromosomami holokinetycznymi można by się spodziewać, że specjacja oraz ewolucja kariotypu będzie przebiegać odmiennie. Oprócz normalnych poliploidów i aneuploidów jest możliwe bowiem występowanie agmatoploidów będących skutkiem fragmentacji pojedynczych chromosomów holokinetycznych oraz agmatopoliploidów, powstających w wyniku fragmentacji całych genomów (cyt. wg GRANT 1981, GREILHUBER 1995). W konsekwencji tego powinna mieć miejsce znacznie większa różnorodność w liczbie chromosomów niż w przypadku organizmów z chromosomami monocentrycznymi. Wzrost liczby chromosomów w wyniku fragmentacji pociąga za sobą zmniejszenie się ich długości (NORDENSKIÖLD 1949, 1951, MICHALSKA 1953).

W przypadku Hemiptera nie stwierdzono gatunków o liczbie chromosomów wyższej od $n=25$. Różnice kariotypów pomiędzy spokrewnionymi gatunkami wydają się być podobne do tych, stwierdzonych w grupach owadów z chromosomami monocentrycznymi (cyt. wg WHITE'A 1978).

Lepidoptera obejmuje organizmy o liczbie chromosomów od $n=7$ do $n=223$. Fragmentacja chromosomów wydaje się być powszechna w rodzinie Lycaenidae. Kariotyp rodzaju *Lysandra* zawiera około trzech chromosomów dużo większych od pozostałych, które są reprezentowane tylko raz nawet u gatunków z największą liczbą chromosomów. Taka sytuacja nie zdarza się w przypadku prawdziwych poliploidów. Sugeruje się, że większe chromosomy mogą być chromosomami płci i jako jedyne nie podlegają fragmentacji (cyt. wg WHITE 1978). Odwrotny stosunek długości chromosomów do ich liczby u niektórych spokrewnionych Lepidoptera zauważył także SUOMALAINEN (1953).

Proces fragmentacji chromosomów w przypadku trzech gatunków Desmidiaceae został zasugerowany przez KINGA (1960).

Wśród Cyperaceae dobrze poznany został rodzaj *Carex*. Liczba chromosomów u przedstawicieli tego rodzaju waha się od $2n=12$ do $2n=112$. Typowe dla rodzaju *Carex* jest występowanie licznych aneuploidalnych liczb chro-

mosomów. Gatunki z większą liczbą chromosomów mają zwykle więcej krótszych chromosomów niż gatunki z mniejszą liczbą chromosomów. Analiza kariotypów wskazuje, że podstawową liczbą dla tego rodzaju jest $x=5$. Gatunki o innej liczbie chromosomów powstały głównie w procesie agmatoploidalności (LÖVE i współaut. 1957).

Rodzaj *Luzula* należący do rodziny Juncaceae charakteryzuje się powszechnie występującą agmatopoliploidalnością oraz w niewielkim stopniu agmatoploidalnością. Liczba chromosomów waha się od $2n=6$ (*Luzula purpurea*) do $2n=66$ i 72 (*Luzula pilosa*) (cyt. wg GRANT 1981). Podczas mejozy u mieszańców międzygatunkowych o różnym stopniu ploidalności (*Luzula campestris* $2n=12$ x *Luzula sudetica* $2n=48$) duże chromosomy koniugują z kilkoma mniejszymi chromosomami, co sugeruje, że procesem odpowiedzialnym za zwiększanie stopnia poliploidalności była fragmentacja chromosomów (NORDENSKIÖLD 1961). W obrębie rodzaju występują także normalne poliploidy (NORDENSKIÖLD 1951, JAROLÍMOVÁ i KIRSCHNER 1995, KIRSCHNER 1995). Jednym z nich jest tetraploid *Luzula multiflora* ($2n=24$) występujący na terenie Irlandii. Porównawcza analiza morfologiczna, kariologiczna, analiza izozymów i allozymów, jak również obserwacje nad przebiegiem mejozy u sztucznego mieszańca potwierdziły allopoliploidalne pochodzenie *Luzula multiflora* z udziałem *Luzula pallidula* i *Luzula campestris* jako gatunków rodzicielskich (JAROLÍMOVÁ i KIRSCHNER 1995, KIRSCHNER 1995).

Związek agmatoploidalności i ewolucji nie jest jasny. Jedynie z badań cytologicznych nad hiszpańskimi populacjami *Carex laevigata* ($2n=72$) można wnioskować o adaptacyjnej wartości agmatoploidalności (LUCENO i CASTROVIEJO 1991). Liczba chromosomów tego gatunku waha się od $2n=69$ do $2n=80$. Analiza kariotypów wskazuje, że powstały one w wyniku fragmentacji i fuzji poszczególnych chromosomów. Rozmieszczenie poszczególnych cytotypów jest związane z szerokością geograficzną; im dalej na południe tym bardziej nasila się fragmentacja chromosomów i przeważają agmatoploidy.

EWOLUCJA KINETOCHORU

Ewolucja kinetochoru mogła przebiegać w dwóch kierunkach: (i) z chromosomów holokinetycznych wyodrębniły się chromosomy monocentryczne, (ii) proces przebiegał odwrotnie — z chromosomów monokinetycznych powstały chromosomy holokinetyczne. Zwolennicy pierwszej teorii twierdzą, że chromosomy monokinetyczne stanowią końcową formę w stopniowym przekształcaniu się prymitywnego chromosomu holokinetycznego. Świadczy o tym występowanie szeregu form pośrednich oraz szerokie rozpowszechnienie w przyrodzie chromosomów monokinetycznych.

Hipoteza VAARAMY (1954) jest oparta na założeniu, że pierwotnie małe holokinetyczne chromosomy miały tendencję do łączenia się w dłuższe jednostki oraz że kinetyczna aktywność ulegała stopniowej koncentracji w telomerach. W wyniku tego procesu powstały chromosomy holokinetyczne, które w pewnych warunkach wykazywały wzmocnienie aktywności kinetycznej w telomerach (np. u niektórych gatunków czerwców z rodzajów *Steatococcus* i *Tamalia*, u skorpionów oraz u *Luzula purpurea*) (cyt. wg VAARAMA 1954). Koncentracja aktywności kinetycznej w końcowych segmentach miała spowodować zaniknięcie lub stłumienie aktywności kinetycznej w centralnej części chromosomu. Dalszą konsekwencją lokalizacji kinetochoru są chromosomy z kinetochorem półzlokalizowanym, które w mitozie zachowują się jak monocentryki, a w mejozie ujawnia się aktywność pierwotnych elementów kinetycznych. Taki typ wykazują chromosomy mchu *Pleurozium schreberi*, obiekt badań VAARAMY (1954). Formą pośrednią są także chromosomy o aktywności neocentrycznej, u których pomimo obecności centromeru, aktywność kinetyczna objawia się w telomerach. W przypadku monocentrycznego chromosomu istnieje jeden funkcjonujący centromer, który zdominował inne elementy kinetyczne poprzez stłumienie ich aktywności. JONES (1978) zgadza się z powyższą hipotezą, wskazując na prymitywność chromosomów holokinetycznych wynikającą z braku specjalizacji funkcji kinetochorowej oraz na podobieństwa w zachowaniu się centromerów i telomerów wskazujące na ich wspólne pochodzenie.

SYBENGA (1981) za podstawę swoich rozważań przyjął zachowanie się chromosomów podczas mejozy. Wyróżnione przez niego typy przebiegu mejozy stanowią kolejne stopnie w specjalizacji aktywności kinetycznej. Do pierwszego typu zaliczył stosunkowo długie chromoso-

my całkowicie holokinetyczne zarówno w mitozie, jak i w mejozie. Mejoza jest postredukcyjna (*Luzula purpurea*). Drugi typ dotyczy stosunkowo małych chromosomów większości czerwców i kilku gatunków *Luzula*. Aktywność kinetyczna wykazuje specjalizację na końcach chromosomowych, a oprócz postredukcji jest możliwa także preredukcja. Trzeci typ charakterystyczny jest dla Auchenorrhyncha oraz dla niektórych Lepidoptera mających małe lub średniej wielkości chromosomy (SYBENGA 1981). Aktywność kinetyczna jest zależna od lokalizacji chiazmy i ograniczona do małego odcinka chromosomu. Przebieg mejozy jest inny u osobników żeńskich i męskich. U osobników żeńskich ma miejsce postredukcja, u osobników męskich preredukcja z wyjątkiem multiwalentów oraz uniwalentów. Czwarty typ najbardziej wyspecjalizowany odnosi się do chromosomów monokinetycznych.

SYBENGA (1981) sądzi, że ogniwo pośrednie pomiędzy chromosomami monokinetycznymi a holokinetycznymi stanowią chromosomy holokinetyczne, które są funkcjonalnie monokinetyczne przynajmniej w jednym z podziałów. Takie chromosomy mają chiazmy zlokalizowane na jednym końcu a kinetochor na drugim. Być może przez liniowe powtórzenia odpowiednich sekwencji DNA nastąpiło wzmocnienie kinetycznej aktywności w danym punkcie. Dlatego prymitywne chromosomy monokinetyczne przypuszczalnie były akrocentrykami z centryczną heterochromatyną oraz dystalną lokalizacją chiazmy. Skoro monokinetyczne chromosomy pochodzą od holokinetycznych, to aktywność kinetyczna w różnych rejonach chromosomu powinna objawić się u nich okazjonalnie. Takim kierunkiem atawistycznym jest aktywność neocentryczna obserwowana głównie w mejozie u ryżu (PRAKKE i MÜNTZING 1942) i kukurydzy (cyt. wg SYBENGA 1981). W klasyfikacji centromerów pojawia się nawet termin neocentromer na określenie wyżej opisanej organizacji aktywności kinetycznej (SCHULZ-SCHAEFFER 1980). Lokalizacja chiazmy towarzysząca lokalizacji aktywności kinetycznej prowadziła do ograniczenia rekombinacji.

Odmienne zdanie na temat ewolucji kinetochoru ma BAUER (1967), w opinii którego chromosomy holokinetyczne są bardziej zaawansowane ewolucyjnie, bowiem skutki mutacji strukturalnych tego typu chromosomów (np. fuzji, translokacji) nie są eliminowane. Swoje wnioski

wysunął na podstawie badań nad aktywnością kinetyczną chromosomów Lepidoptera.

GREILHUBER (1995) z kolei twierdzi, że nie należy mówić o stadiach pośrednich w rozwoju centromeru rozproszonego. Aktywność neocentryczna opisywana u kukurydzy i ryżu jest według niego jedynie dowodem na to, że sekwencje centromerowe mogą występować poza właściwym centromerem bez wprowadzania zakłóceń do procesu mitozy i mejozy. Zdaniem GREILHUBERA (1995) kinetochor dyfuzyjny należy uznać za cechę zaawansowaną wśród roślin kwiatowych, bowiem nie ma potwierdzonych dowodów na jego występowanie u glonów, mszaków, paproci czy roślin nagonasiennych. Wśród roślin kwiatowych prawdopodobnie pojawił się kilka razy, niezależnie jako paralelizm. Dlatego uznał niezlokalizowany kinetochor w połączeniu z od-

wrconą mejozą za jedyną, dotyczącą chromosomów, cechę synapomorficzną na wyższym szczeblu taksonomicznym dla roślin jednoliściennych. Trudno uznać bez zastrzeżeń powyższe rozważania, ponieważ wprawdzie brak jest dowodów na istnienie chromosomów z kinetochorem rozproszonym w wyżej wspomnianych grupach roślin, ale być może wynika to z faktu, że chromosomy wielu roślin nie były badane szczegółowo pod kątem analizy kinetochoru. Są natomiast doniesienia o policentrycznych chromosomach u glonów (*Spirirogyra*) (MUGHAL i GODWARD 1973) oraz o dyfuzyjnym kinetochorze w chromosomach wątrobowców (*Marchantia*) (STEER 1985). Również było dyskutowane istnienie kinetochoru półzlokalizowanego u mchów (*Pleurozium*) (VAARAMA 1954).

PODJEDNOSTKOWY MODEL ORGANIZACJI KINETOCHORU

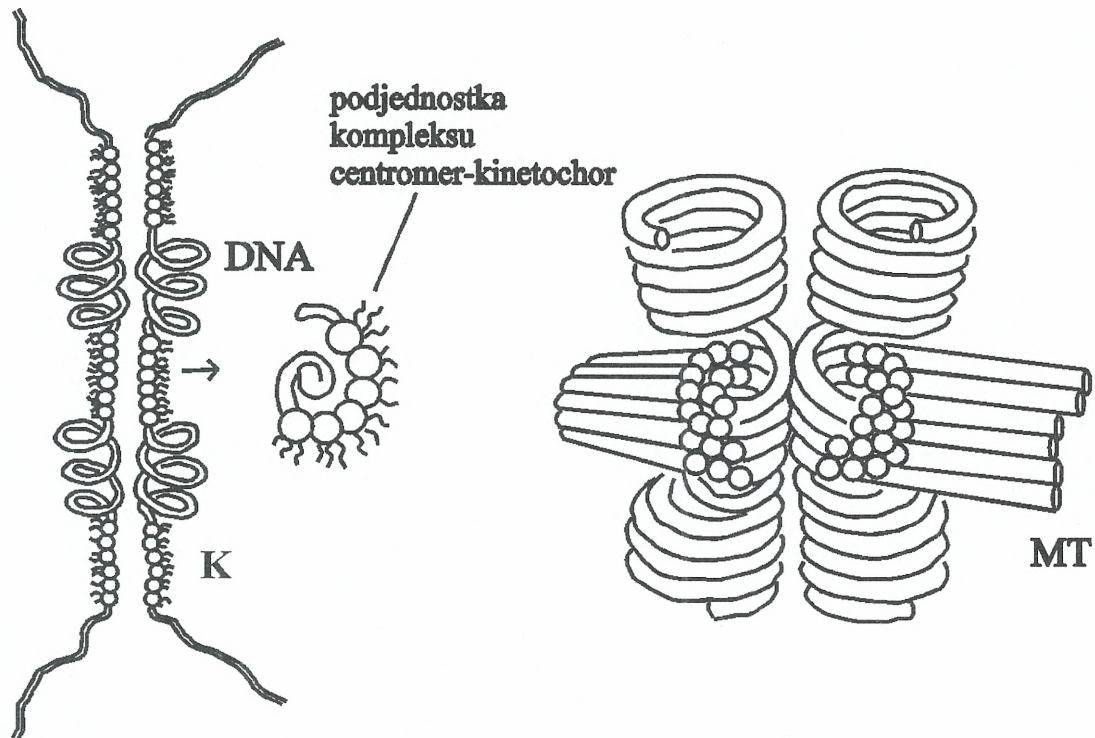
Wielkim krokiem w zrozumieniu zagadnień związanych ze strukturą kinetochoru zarówno zlokalizowanego, jak i rozproszonego było opracowanie modelu organizacji kompleksu centromer-kinetochor (ZINKOWSKI i współaut. 1991). Nowe techniki: indukowane kofeiną odłączanie niezreplikowanych kinetochorów oraz hipotoniczne rozciąganie kinetochorów w połączeniu z analizą mikroskopową, zastosowanie przeciwciał CREST antytubulinowych i antydyneinowych oraz hybrydyzacja *in situ* syntetycznych sekwencji centromerowych pozwoliły na opracowanie uniwersalnego modelu, tłumaczącego strukturalną i ewolucyjną zmienność kinetochoru oraz jego związek z centromerem. Na przykładzie trójwarstwowego kinetochoru ssaków (chomika, mundzaka japońskiego i mundzaka chińskiego) potwierdzono, że składa się on z funkcjonalnie podobnych, powtarzających się podjednostek ułożonych wzdłuż ciągłej nici DNA. Podjednostki te mają zdolność do wiązania tubuliny oraz mikrotubul, a na ich zewnętrznej powierzchni stwierdzono obecność cytoplazmatycznych dynein, białek związanych z ruchem chromosomów (ryc. 3). Elementami, które są związane z białkami CENP w ciągu całego cyklu komórkowego są sekwencje alfoidalne. Należą one do rodziny powtarzających się sekwencji satelitarnych, występujących wyłącznie w obrębie centromeru. Wykazano, że sekwencje te biorą udział nie tylko w budowie centromeru, ale także w jego funkcjonowaniu (WIRT 1994). Na początku mitozy kondensacja chromatyny prowadzi do uformowania struktury kinetochoru charakterystycznej dla danego organizmu. GRADY i współautorzy (1992) podali

dwa modele organizacji regionów DNA odpowiedzialnych za oddziaływanie z kinetochorem, jednakże w obu modelach specyficzne miejsca rozpoznawcze dla białek CENP przyjmują położenie na zewnątrz centromeru. W przypadku ssaków poprzez odpowiednie zwinięcie się podjednostek formuje się płytka lub dysk w miejscu przewężenia pierwotnego.

Złożoną strukturę kompleksu centromer-kinetochor sugerował już LIMA-DE-FARIA (1949, 1956, 1958). Z obserwacji poczynionych na chromosomach meiotycznych ryżu, *Agapanthus* i kukurydzy wynikało, że kinetochor składa się z chromomerów oraz fibryli (DNA) podobnych do tych znajdujących się w innych częściach chromosomu. Podjednostkową budowę kinetochoru chromosomów roślinnych potwierdziły badania MOLE-BAJER i współpracowników (1990) nad *Haemanthus* z zastosowaniem przeciwciał CREST.

Podjednostkowy model organizacji kinetochoru tłumaczy wspólny schemat budowy różnych rodzajów kinetochorów. Odmienne organizacja kinetochorów jest związana z różnym stopniem oraz sposobem kondensacji i zwinięcia się nici chromatynowej, który to proces organizuje białka kinetochorowe w ciągłą funkcjonalnie strukturę.

Model ten świetnie tłumaczy różnorodność form kinetochorowych u *Parascaris univalens* (GODAY i współaut. 1992). Różna organizacja kinetochoru w różnych typach komórek, w których zawartość chromosomowego DNA jest taka sama sugeruje, że centromerowe sekwencje DNA są rozmieszczone wzdłuż całego chromosomu, ale są prawdopodobnie w różnym sto-



Ryc. 3. Model kompleksu centromer-kinetochor (wg ZINKOWSKI i współaut. 1991 — zmieniony)

Nie DNA jest poprzetykana sekwencjami odpowiedzialnymi za wiązanie białek kinetochorowych (K), które z kolei łączą się z białkami mikrotubul (MT) przylączając w ten sposób włókna wrzeciona do chromosomu.

pnium zdolne do formowania kinetochoru w danym miejscu chromosomu. Wskazuje to na specyficzną organizację chromosomów w poszczególnych typach komórek. Wyjaśnia także brak wyodrębnionej struktury kinetochoru w komórkach mejotycznych. Obecność lub brak takiej struktury w specyficznym miejscu może być bezpośrednią konsekwencją odmiennego łączenia się podjednostek kinetochorowych, spowodowanego specyficzną dla danej komórki organizacją chromosomu.

Nowy model organizacji centromeru wyjaśnia także kilka aspektów ewolucji chromosomu. Pomimo częstych pęknięć i rekombinacji w obrębie centromeru w trakcie ewolucji chromosomy nie traciły zdolności do formowania funkcjonalnego kinetochoru. Elastyczność zachowania się kompleksu centromer-kinetochor przy mutacjach chromosomowych może prawdopodobnie wynikać z wysokiej powtarzalności jednostek kinetochorowych ułożonych na pojedynczej nici DNA ciągnącej się wzdłuż centromeru. Dlatego sugeruje się, że kinetochor organizmów eukariotycznych rozwinął się z kinetochoru o mniej licznych podjednostkach, które z czasem były dodawane na drodze rekombinacji. Jeśli przyjąć tę hipotezę, to liczba jednostek kinetochorowych i ich rozmieszczenie wzdłuż centromerowego DNA byłyby odzwierciedle-

niem ewolucyjnej historii każdego eukariotycznego chromosomu.

Model ZINKOWSKIEGO i współautorów (1991) rzuca również nowe światło na powstanie oraz ewolucję kinetochoru niezlokalizowanego. GREILHUBER (1995) zauważył, że powielanie a następnie rozprzestrzenienie się elementów transpozonowych, zawierających przypadkowo sekwencje centromerowe wzdłuż całego chromosomu, poza rejonem centromeru, mogło doprowadzić do powstania wtórnie z kinetochoru zlokalizowanego kinetochoru dyfuzyjnego. Zachowanie się takich elementów byłoby takie same, jak zachowanie się innych powtarzalnych sekwencji rozproszonych po całym genomie. Ponadto większość roślin z kinetochorem dyfuzyjnym posiada małe chromosomy. Rozprzestrzenienie się jednostek kinetochorowych mogło nastąpić w tym przypadku szybciej i mogło nieść mniej negatywnych konsekwencji w organizacji chromosomów niż w przypadku dużych chromosomów. Eksperymenty z zastosowaniem promieniowania, pokazujące, że fragmenty chromosomów z kinetochorem dyfuzyjnym nie są eliminowane oprócz fragmentów najmniejszych, są dowodem na wysoki stopień rozproszenia sekwencji centromerowych w tych chromosomach.

DIFFUSE KINETOCHORE

Summary

The non-localized kinetochore appears sporadically in remote taxonomical entities. Data concerning the holocentric and the polycentric chromosomes have been summarized. Recent observations reveal that there are no polycentric chromosomes but holocentric chromosomes may aggregate in metaphase and form polycentric chromatin plates in anaphase. The sequence of meiotic divisions is reversed in some organisms having a diffuse kinetochore. Such meiotic behaviour of bivalents is called inverted

meiosis or postreductional meiosis. The phenomena of agmatoploidy and agmatopolyploidy are connected with the occurrence of holokinetic chromosomes. Relation between chromosome fragmentation and karyological variability is discussed. The origin and evolutionary status of holocentric chromosomes is discussed. The repeat subunit model of the centromere-kinetochore complex is presented with respect to evolutionary diversity of localized kinetochore and the origin of diffuse kinetochore.

LITERATURA

- ALBERTSON D. G., THOMSON J. N., 1982. *The kinetochores of Caenorhabditis elegans*. Chromosoma (Berl.) 86, 409–428.
- BAJER A. S., MOLE-BAJER J., 1972. *Kinetochore and spindle fibers*. Int. Rev. Cytol. Suppl. 3, 98–130.
- BATTAGLIA E., BOYES J. W., 1955. *Post-reductional meiosis: Its mechanism and causes*. Caryologia 8, 87–134.
- BAUER H., 1967. *Die kinetische Organisation der Lepidopteren-Chromosomen*. Chromosoma (Berl.) 22, 101–125.
- BENNETT M. D., SMITH J. B., WARD J., JENKINS G., 1981. *The relationship between nuclear DNA content and centromere volume in higher plants*. J. Cell Sci. 47, 91–115.
- BOKHARI F. S., GODWARD M. B. E., 1980. *The ultrastructure of the diffuse kinetochore in Luzula nivea*. Chromosoma (Berl.) 79, 125–136.
- BRASELTON J. P., 1971. *The ultrastructure of the non-localized kinetochores of Luzula and Cyperus*. Chromosoma (Berl.) 36, 89–99.
- BRASELTON J. P., 1981. *The ultrastructure of meiotic kinetochores of Luzula*. Chromosoma (Berl.) 82, 143–151.
- BRINKLEY B. R., VALDIVIA M. M., TOUSSON A., BALCZON R. D., 1989. *The kinetochore: structure and molecular organization*. [W:] *Mitosis molecules and mechanisms*. HYAMS J. S., BRINKLEY B. R. (red.). Academic Press, London-Toronto, 77–118.
- BROWN S., 1954. *Mitosis and meiosis in Luzula campestris DC*. Univ. Calif. Publ. Bot. 27, 231–278.
- COMINGS D. E., OKADA T. A., 1972. *Holocentric chromosomes in Oncopeltus: kinetochore plates are present in mitosis but absent in meiosis*. Chromosoma (Berl.) 37, 177–192.
- EARNSHAW W. C., MIGEON B. R., 1985. *Three related centromere proteins are absent from the inactive centromere of a stable isodicentric chromosome*. Chromosoma (Berl.) 92, 290–296.
- EARNSHAW W. C., RATRIE III W., STETTEN G., 1989. *Visualization of centromere proteins CENP-B and CENP-C on a stable dicentric chromosome in cytological spreads*. Chromosoma (Berl.) 98, 1–12.
- FLACH M., 1966. *Diffuse centromeres in a dicotyledonous plant*. Nature 209, 1369–1370.
- GODAY C., GONZÁLEZ-GARCÍA J. M., ESTEBAN M. R., GIOVINAZZO G., PIMPINELLI S., 1992. *Kinetochores and chromatin diminution in early embryos of Parascaris univalens*. J. Cell Biol. 118, 23–32.
- GONZÁLEZ-GARCÍA J. M., BENAVENTE R., RUFAS J. S., 1996. *Cytochemical and immunocytochemical characterization of kinetochores in the holocentric chromosomes of Graphosoma italicum*. Eur. J. Cell Biol. 70, 352–360.
- GRADY D. L., RATLIFF R. L., ROBINSON D. L., MCCANLIES E. C., MEYNE J., MOYZIS K. M., 1992. *Highly conserved repetitive DNA sequences are present at human centromeres*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 1695–1699.
- GRANT V., 1981. *Plant speciation*. 2nd edition. Columbia Univ. Press, New York, 369–375.
- GREILHUBER J., 1995. *Chromosomes of the monocotyledons (general aspects)*. [W:] *Monocotyledons: systematics and evolution*. RUDAL P. J., CRIBB P. J., CUTLER D. F., HUMPHRIES C. J., (red.). Royal Botanic Gardens, Kew, 379–414.
- HAKANSSON A., 1954. *Meiosis and pollen mitosis in X-rayed and untreated spikelets of Eleocharis palustris*. Hereditas 40, 325–345.
- HAKANSSON A., 1958. *Holocentric chromosomes in Eleocharis*. Hereditas 44, 531–540.
- HALKKA O., 1959. *Chromosome studies on the Hemiptera Homoptera Auchenorrhyncha*. Ann. Acad. Scient. Fennice Ser. A IV Biol. 43, 42–71.
- HELENIUS O., 1952. *The mode of bivalent orientation in the Hemiptera*. Hereditas 38, 420–434.
- HUGHES-SCHRADER S., 1955. *The chromosomes of the giant scale Aspidoproctus maximus Louns. (Coccoidea-Margarodidae) with special reference to asynapsis and sperm formation*. Chromosoma 7, 422–438.
- JAROLÍMOVÁ V., KIRSCHNER J., 1995. *Tetraploids in Luzula multiflora (Juncaceae) in Ireland: karyology and meiotic behaviour*. Folia Geobot. Phytotax. 30, 389–396.
- JOACHIMIAK A., PRZYWARA L., IŁNICKI T., KOWALSKA A., 1993. *Megachromosomes in tissue culture of Allium*. Genetica 90, 35–40.
- JOACHIMIAK A., IŁNICKI T., KOWALSKA A., PRZYWARA L., 1995. *Chromosome alterations in tissue culture cells of Allium fistulosum*. Genetica 96, 191–198.
- JONES K., 1978. *Aspects of chromosome evolution in higher plants*. Adv. Bot. Res. 6, 120–194.
- KING G. C., 1960. *The cytology of the desmids: the chromosomes*. New Phytol. 59, 65–72.
- KINGWELL B., RATTNER J. B., 1987. *Mammalian kinetochore/centromere composition: A 50 kDa antigen is present in the mammalian kinetochore/centromere*. Chromosoma (Berl.) 95, 403–407.
- KIRSCHNER J., 1995. *Allozyme analysis of Luzula sect. Luzula (Juncaceae) in Ireland: Evidence of the origin of tetraploids*. Folia Geobot. Phytotax. 30, 283–290.
- LIMA-DE-FARIA A., 1949. *Genetics, origin and evolution of kinetochores*. Hereditas 35, 422–444.
- LIMA-DE-FARIA A., 1956. *The role of the kinetochore in chromosome organization*. Hereditas 42, 85–160.
- LIMA-DE-FARIA A., 1958. *Compound structure of the kinetochore in maize*. J. Her. 49, 299–302.
- LOVE A., LOVE D., RAYMOND M., 1957. *Cytotaxonomy of Carex section Capillares*. Can. J. Bot. 35, 715–761.
- LUCENO M., CASTROVIEJO S., 1991. *Agmatoploidy in Carex laevigata (Cyperaceae). Fusion and fission of chromo-*

- somes as the mechanism of cytogenetic evolution in Iberian populations. *Pl. Syst. Evol.* 177, 149–159.
- MAEKI K., 1981. The kinetochore of the *Lepidoptera*. iii Morphology and behavior of fragment chromosomes and electron-microscopic illustration of microtubules (MTs) locating along chromosomes. *Proc. Japan Acad. Ser. B* 57, 71–76.
- MICHALSKA A., 1953. *Badania cytologiczne nad rodzajem Luzula*. *Acta Soc. Bot. Pol.* 22, 169–186.
- MITCHISON T. J., 1990. The kinetochore in captivity. *Nature* 348, 14–15.
- MOLE-BAJER J., BAJER A. S., ZINKOWSKI R. P., BALCZON R. D., BRINKLEY B. R., 1990. Autoantibodies from a patient with scleroderma CREST recognised kinetochores of the higher plant *Haemanthus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 3599–3603.
- MOROI Y., PEEBLES C., FRITZLER M. L., STEIGERWALD J., TAN E. M., 1980. Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 1627–1631.
- MUGHAL S., GODWARD M. B. E., 1973. Kinetochore and microtubules in two members of *Chlorophyceae*, *Cladophora fracta* and *Spirogyra majuscula*. *Chromosoma (Berl.)* 44, 213–229.
- MURAKAMI A., IMAI H. T., 1974. Cytological evidence for holocentric chromosomes of the silkworms, *Bombyx mori* and *B. mandarina*, (*Bombycidae*, *Lepidoptera*). *Chromosoma (Berl.)* 47, 167–178.
- MURRAY A. W., SZOSTAK J. W., 1985. Chromosome segregation in mitosis and meiosis. *A. Rev. Cell Biol.* 1, 289–315.
- NORDENSKIÖLD H., 1949. The somatic chromosomes of some *Luzula* species. *Bot. Not.* 1, 81–92.
- NORDENSKIÖLD H., 1951. Cyto-taxonomical studies in the genus *Luzula*. I. Somatic chromosomes and chromosome numbers. *Hereditas* 37, 325–355.
- NORDENSKIÖLD H., 1961. Tetrad analysis and the course of meiosis in the three hybrids of *Luzula campestris*. *Hereditas* 47, 203–237.
- NORDENSKIÖLD H., 1962. Studies of meiosis in *Luzula purpurea*. *Hereditas* 48, 503–519.
- PAZY B., PLITMANN U., 1991. Unusual chromosome separation in meiosis of *Cuscuta L.* *Genome* 34, 533–536.
- PAZY B., PLITMANN U., 1994. Holokinetic chromosome behaviour in *Cuscuta* (*Cuscutaceae*). *Pl. Syst. Evol.* 191, 105–109.
- PRAKKEN R., MÜNTZING A., 1942. A meiotic peculiarity in rye, simulating a terminal centromere. *Hereditas* 28, 441–482.
- RIEDER C. L., 1982. The formation, structure, and composition of the mammalian kinetochore and kinetochore fiber. *Int. Rev. Cytol.* 79, 1–58.
- RIEDER C. L., 1990. Formation of the astral mitotic spindle: ultrastructural basis for the centrosome-kinetochore interaction. *Electron Microsc. Rev.* 3, 269–300.
- RIEDER C. L., BOWSER S. S., COLE R., RUPP G., PETERSON A., ALEKSANDER S. P., 1990. Diffuse kinetochores and holokinetic anaphase chromatin movement during mitosis in the Hemipteran *Agallia constricta* (Leafhopper) cell line AC-20. *Cell Mot. Cytosk.* 15, 245–259.
- RUTHMANN A., PERMANTIER Y., 1973. Spindel und Kinetochoren in der Mitose und Meiose der Baumwollwanze *Dysdercus intermedius* (*Heteroptera*). *Chromosoma (Berl.)* 41, 271–288.
- SCHULTZ-SCHAEFFER, 1980. *Cytogenetics plants, animals, humans*. Springer-Verlag New York Inc., 34–36.
- SCHRADER F., 1935. Notes on the mitotic behavior of long chromosomes. *Cytologia* 6, 422–430.
- STEER M. W., 1985. Mitosis in Bryophytes. *Adv. Bryol.* 2, 1–23.
- STRANDHEDE S. O., 1965. Chromosome studies in *Eleocharis*, subser. *palustres*. *Hereditas* 53, 47–62.
- SUOMALAINEN E., 1953. The kinetochore and the bivalent structure in the *Lepidoptera*. *Hereditas* 39, 88–96.
- SUOMALAINEN E., HALKKA O., 1963. The mode of meiosis in the *Psyllina*. *Chromosoma (Berl.)* 14, 498–510.
- SYBENGA J., 1981. Specialization in the behaviour of chromosomes on the meiotic spindle. *Genetica* 57, 143–151.
- TANAKA N., TANAKA N., 1977. Chromosome studies in *Chionographis* (*Liliaceae*) I. On the holokinetic nature of chromosomes in *Chionographis japonica* Maxim. *Cytologia* 42, 753–763.
- TANAKA N., TANAKA N., 1979. Chromosome studies in *Chionographis* (*Liliaceae*) II. Morphological characteristics of the somatic chromosomes of four Japanese members. *Cytologia* 44, 935–949.
- TANAKA N., TANAKA N., 1980. Chromosome studies in *Chionographis* (*Liliaceae*) III. The mode of meiosis. *Cytologia* 45, 809–817.
- UESHIMA N., 1963. Chromosome behavior of the *Cinex pilosellus* complex (*Ciniciidae*: *Hemiptera*). *Chromosoma (Berl.)* 14, 511–521.
- VAARAMA A., 1954. Cytological observations on *Pleurozium schreberi*, with special reference to centromere evolution. *Ann. Bot. Soc. Vanamo* 28, 159.
- WHITE M. J. D., 1978. *Modes of speciation*. The Australian National University W. H. Freeman and Company, San Francisco, 71–75.
- WITT M., 1994. Sekwencje alfoidalne jako element struktury centromeru. *Post. Biol. Kom.* 21, 93–96.
- ZINKOWSKI R. P., MEYNE J., BRINKLEY B. R., 1991. The centromere-kinetochore complex: a repeat subunit model. *J. Cell Biol.* 113, 1091–1110.