

Sulla struttura microscopica dei cromosomi

Da G. COLOMBO¹, Padova

Dal complesso delle numerose osservazioni sulla struttura dei cromosomi, che da parecchie decine d'anni si vanno accumulando, alcuni dati si possono ritenere accertati.

I cromosomi sono costituiti da una sostanza esterna, la *matrice*, che avvolge ed include dei filamenti interni, i *cromatidi* o *cromonemi*.

La matrice è principalmente formata da acidi nucleici, proteine basiche e lipoproteine. Nelle varie fasi dei cicli cromosomici la matrice sarebbe la sede di evidenti variazioni metaboliche (SERRA²). I cromonemi o chromatidi, costituiti di nucleoproteine (SCHULTZ³), sono dei filamenti, che in numero vario (1, 2, 4 e forse in taluni casi 8) (NEBEL⁴) formano l'asse dei cromosomi e rappresentano l'individualità genetica dei cromosomi stessi.

Le caratteristiche morfologiche, che subito hanno colpito i citologi, sono la torsione del corpo cromosomico, che si vede soprattutto alla profase (FLEMMING⁵), e la struttura elicoidale dei cromosomi e più particolarmente dei chromatidi, che è visibile anche nella metafase e in alcuni stadi meiotici (BARANETZKY⁶).

L'importanza di tale struttura elicoidale è stata messa in evidenza da FUJI⁷ e successivamente dai suoi allievi e riconosciuta praticamente per tutti i cromosomi (cfr. KAUFMANN, MANTON⁸).

L'analisi della struttura microscopica dei cromosomi ha fatto un progresso notevolissimo dopo la diffusione della tecnica dello schiacciamento dopo fissazione e colorazione col carminio acetico (BELLING⁹) e successivamente è stata inoltre molto facilitata con l'introduzione della tecnica del pretrattamento delle cellule (con acidi, alcali o semplicemente acqua) prima

della fissazione, ideata da KUWADA e NAKAMURA¹ e modificata successivamente da vari citologi (v. MATTHEY²).

La struttura cromosomica è stata abbastanza ben chiarita con l'esame accurato di materiali favorevoli (specialmente di piante), ma soprattutto con lo studio delle variazioni dell'aspetto dei cromosomi nei cicli mitotici e meiotici.

Le strutture elicoidali secondo DARLINGTON

Dobbiamo a DARLINGTON³ la più organica descrizione delle modificazioni cromosomiche nel corso dei cicli mitotico e meiotico, interpretate come variazioni di strutture elicoidali dei chromatidi.

Alla profase mitotica, secondo DARLINGTON, si forma un avvolgimento elicoidale («maior coil») dei chromatidi, che man mano si contrae e determina l'accorciamento massimo dei cromosomi alla metafase. All'anafase e alla telofase questa elicoide si svolge.

Lo svolgimento alla telofase e nell'interfase può essere incompleto e nei nuclei interfasici si vedono perciò degli avvolgimenti relitti («relic coils»), che si possono scorgere anche nella successiva profase. Ad ogni profase si instaura un nuovo avvolgimento elicoidale, che non ha alcun rapporto con questi avvolgimenti relitti.

Nella meiosi, secondo DARLINGTON, al leptotene si ha lo svolgimento di elicidi, che di solito permangono nell'interfase da una mitosi all'altra, la «relic coil» già citata e la «minor coil», di cui avremo occasione di parlare più avanti. Con l'appaiamento cromosomico allo zicotene si avrebbe l'avvolgimento dei cromosomi omologhi tra loro, il quale viene indicato come «relational coil» ed i cui residui sarebbero visibili all'inizio del diplotene.

Dopo il diplotene, alla diacinesi si forma la «maior coil», che porta alla contrazione massima dei cromosomi alla metafase.

Le strutture elicoidali secondo CLEVELAND

Una recente accurata descrizione ed interpretazione della struttura elicoidale dei chromatidi è quella di

¹ Y. KUWADA e T. NAKAMURA, *Cytologia*, Tokio 5, 244 (1934).

² R. MATTHEY, *Rev. suisse Zool.* 60, 225 (1953).

³ C. D. DARLINGTON, *Proc. roy. Soc. London [B]* 118, 33 (1935); *Recent advances in cytology* (Churchill, London 1937).

¹ Istituto di Zoologia ed Anatomia comparata dell'Università di Padova.

² J. A. SERRA, *Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.* 12, 192 (1947).

³ J. SCHULTZ, *Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.* 9, 55 (1941).

⁴ B. R. NEBEL, *Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.* 9, 7 (1941).

⁵ W. FLEMMING, *Zellsubstanz, Kern und Zellteilung* (Vogel, Lipsia 1882).

⁶ J. BARANETZKY, *Bot. Z.* 38, 283 (1880).

⁷ K. FUJI, 1926, citato da KUWADA e NAKAMURA.

⁸ B. P. KAUFMANN, *Bot. Rev.* 14, 57 (1948). — I. MANTON, *Biol. Rev.* 28, 486 (1950).

⁹ J. BELLING, *Biol. Bull.* 50, 160 (1926).

CLEVELAND¹, che ha studiato il ciclo cromosomico mitotico e meiotico in diverse specie di Flagellati. Secondo CLEVELAND nella mitosi e nella meiosi è possibile riconoscere in seno ai cromosomi un avvolgimento elicoidale costante dei cromatidi, doppi o singoli, che si può osservare in tutte le fasi dei cicli di divisione: la «minor coil».

Questa elicoide è incorporata in un avvolgimento di ordine superiore, la «maior coil», che si forma alla profase e persiste fino alla telofase, rinnovandosi ad ogni ciclo di divisione.

Accanto alla «minor» ed alla «maior coil», le quali sarebbero degli avvolgimenti individuali, che interessano cioè i singoli cromosomi ed i cromatidi, vi è, secondo CLEVELAND, una «relational coil», cioè un avvolgimento dei cromatidi figli tra loro, che si forma in seguito all'autoriproduzione cromatidica. La «relational coil» è presente alla profase e scompare con il contrarsi della «maior coil».

La «relic coil» di DARLINGTON non avrebbe nessun significato strutturale, consistendo semplicemente in un andamento ritorto del corpo cromosomico, residuo della «maior coil» della mitosi precedente.

In complesso le osservazioni e le conclusioni di CLEVELAND coincidono con quelle di DARLINGTON. Il citologo americano insiste soprattutto sulla costanza della «minor coil», che si osserva bene nei grossi cromosomi dei Polimastigini da lui studiati, e sul fatto che la «relational coil» non rappresenta un vero e proprio stato strutturale dei cromosomi, ma la conseguenza dell'autoriproduzione.

Le descrizioni di DARLINGTON e CLEVELAND sono probabilmente le più complete ed organiche, ma le ricerche sugli avvolgimenti elicoidali sono numerose (cfr. KAUFMANN e MANTON²) e non tutte concordanti.

«Maior» e «minor coil»

Sulla «maior coil» vi è accordo pressoché generale. È un avvolgimento elicoidale, per lo più a raggio ampio e passo stretto, che si vede bene nei cromosomi profasici e metafasici; ad esso indubbiamente sono dovute le più vistose modificazioni cromosomiche nei cicli di divisione, caratterizzate soprattutto da un forte accorciamento dei cromosomi.

Tale accorciamento, dalla profase alla metafase, è stato accuratamente indagato, per quanto è possibile, anche da un punto di vista quantitativo.

Nella mitosi, dalla profase alla metafase, i cromosomi si accorciano fino a circa $\frac{1}{3}$; nella meiosi, dal pachitene alla metafase della prima divisione, a circa $\frac{1}{10}$ della lunghezza iniziale (cfr. DARLINGTON³, HUSKINS⁴).

Le relazioni quantitative tra accorciamento e grado di avvolgimento in base ad eventuali modelli geometrici non sono facilmente applicabili; le formule elaborate o sono troppo semplificate o richiedono misure, che non si possono prendere con un'approssimazione sufficiente sui preparati microscopici (MANTON¹).

La presenza di un avvolgimento interno dei cromatidi, la «minor coil», è in generale ammessa, benché, trovandosi questa struttura in molti casi ai limiti della risoluzione microscopica, sia difficile decidere se le immagini che si vedono siano dovute ad un avvolgimento elicoidale oppure ad ingrossamenti disposti lungo l'asse dei cromatidi stessi.

Si considera che l'elicoide «minor» sia quella che si vede chiaramente nella profase e metafase della seconda divisione meiotica e che deriva direttamente dall'avvolgimento interno della prima divisione (MANTON²). La presenza o meno di una «minor coil» è di fondamentale importanza per la struttura dei cromatidi ed il loro comportamento nelle divisioni dei cromosomi.

RUCH³ esaminando i cromosomi profasici e metafasici delle cellule madri del polline di *Tradescantia virginica*, dimostrerebbe che non vi è doppia elicoide, ma l'aspetto irregolare dei cromatidi, ravvolti secondo la «maior coil», sarebbe dovuto alla presenza di ingrossamenti cromomerici. La presenza di un doppio avvolgimento cromatidico nella mitosi e nella prima divisione meiotica non è completamente dimostrata dalle osservazioni a luce polarizzata di KUWADA e NAKAMURA⁴, che non sono state confermate dalle ricerche di BECKER⁵.

Cromomeri ed elicoide «minor»

La comparazione delle trasformazioni cromosomiche nella spermatogenesi e nell'oogenesi è molto utile per l'analisi di questo struttura.

Lo studio che ho fatto dell'oogenesi di una cavalletta (*Anacridium aegyptium* L; Catantopinae, Acridoidea, Orthoptera) (COLOMBO⁶) ed osservazioni precedenti sulla spermatogenesi (COLOMBO⁷) mi hanno fornito dati interessanti soprattutto sulla questione della presenza o meno dei cromomeri e di avvolgimenti elicoidali.

Per avere un quadro delle trasformazioni nucleari e cromosomiche della meiosi bisogna iniziare l'esame dall'ultima divisione goniale, che in generale è facilmente riconoscibile per le caratteristiche strutturali dei nuclei stessi.

Soprattutto nella spermatogenesi delle cavallette i nuclei dell'ultima telofase goniale hanno una tipica

¹ L. R. CLEVELAND, Trans. Amer. Phil. Soc. 30, 1 (1949).

² B. P. KAUFMANN, Bot. Rev. 14, 57 (1948). - I. MANTON, Biol. Rev. 25, 486 (1950).

³ C. D. DARLINGTON, *Recent advances in cytology* (Churchill, London 1937).

⁴ C. L. HUSKINS, Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol. 9, 31 (1941).

¹ I. MANTON, Biol. Rev. 25, 486 (1950).

² I. MANTON, Bioch. Bioph. Acta 3, 570 (1949).

³ F. RUCH, Chromosoma 3, 357 (1949).

⁴ Y. KUWADA e T. NAKAMURA, Cytologia, Tokio 6, 78 (1934).

⁵ W. A. BECKER, Arch. exper. Zellforsch. 22, 196 (1938).

⁶ G. COLOMBO, Acta Zool. 34, 191 (1953).

⁷ G. COLOMBO, Exper. 8, 15 (1952).

struttura a vesicole cromosomiche, descritta già nel 1908 da DAVIS¹.

Questa struttura è dovuta al fatto che permane a lungo la «maior coil» e che i singoli cromosomi mantengono

descritti ancora nel 1917 da WENRICH¹ come cromomeri. Questi supposti cromomeri sono interpretati da RIS² come giri di un avvolgimento elicoidale, in questo caso «minor coil», che simulano una struttura cromomerica.

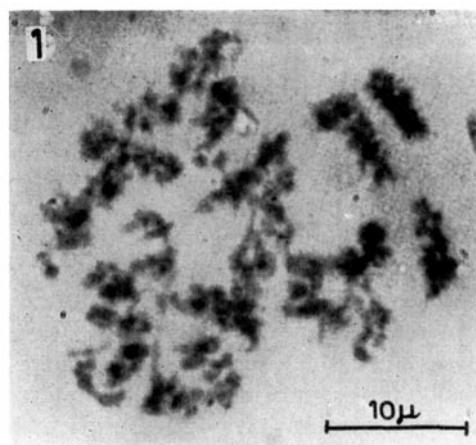


Fig. 1. Nucleo di oocita di *Anacridium aegyptium* L. (Orthoptera) prima della meiosi. I singoli cromosomi sono ben visibili e mostrano la «maior coil». Preparato per schiacciamento, col. FEULGEN.

gono la loro posizione reciproca dell'ultima anafase goniale; ciò probabilmente per il comportamento particolare della matrice. Tale struttura a vescicole si trova anche negli stadi premeiotici dell'oogenesi (Fig. 1).

L'elicoide «maior» dell'anafase precedente, che permane più a lungo, si rilascia soltanto quando si

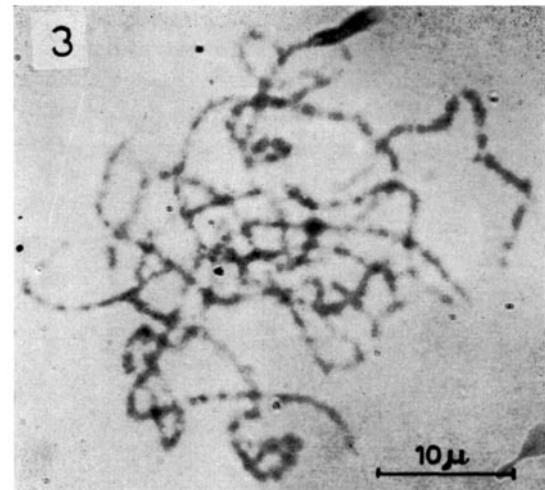


Fig. 3. Nucleo di oocita di *A. aegyptium* in zigotene colla stessa struttura cromosomica degli spermatociti allo stadio corrispondente (fig. 2). Preparato per schiacciamento, col. FEULGEN.

Se si esaminano le trasformazioni cromosomiche nelle prime fasi meiotiche degli oociti, si vede che i nuclei degli oociti fino allo zigotene presentano una struttura simile a quella degli spermatociti degli stadi corrispondenti (Fig. 3).

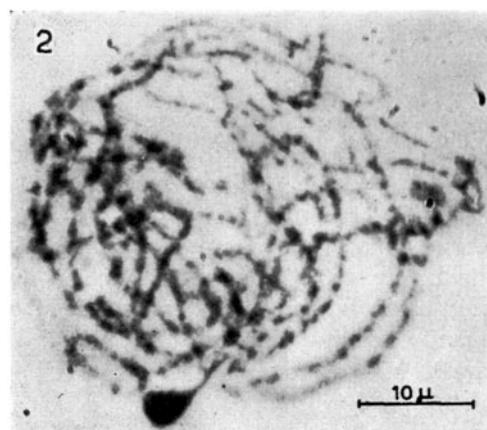


Fig. 2. Nucleo di spermatocita di *A. aegyptium* L. in zigotene. I cromosomi presentano la cosiddetta struttura cromomerica dovuta alla «minor coil». Preparato per schiacciamento, col. FEULGEN.

inizia lo stadio di preleptotene, determinando l'andamento sinuoso ed irregolare dei filamenti cromosomici, che poi si raddrizzano al leptotene vero e proprio. Allo zigotene i cromosomi presentano delle irregolarità lungo l'asse, che permangono identiche nel postzigotene (Fig. 2.) Si tratta degli ingrossamenti

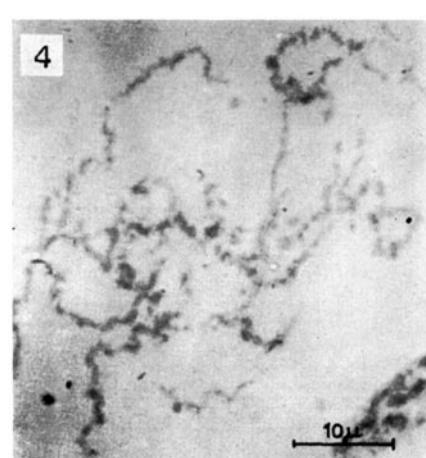


Fig. 4. Nucleo di oocita di *A. aegyptium* L. in postzigotene. La cosiddetta struttura cromomerica dello stadio precedente (fig. 3), si risolve in giri più lassi di elicoide. Preparato per schiacciamento, col. con l'ematossilina di HEIDENHAIN.

Nel postzigotene degli oociti, quando inizia il secondo periodo di accrescimento, i cromosomi diventano più lunghi, sottili e sinuosi, lasciando vedere una disposi-

¹ H. S. DAVIS, Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll. 53, 60 (1908).

² D. H. WENRICH, Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll. 60, 58 (1916).

² H. RIS, Biol. Bull. 89, 212 (1945).

zione elicoidale lassa (Fig. 4), fino a che, nei preparati per schiacciamento, anche con la colorazione di HEIDENHAIN, risultano praticamente invisibili.

Nei nuclei isolati, a fresco, col microscopio a contrasto di fase è possibile vedere a questo stadio sottili filamenti spinosi, sparsi in tutto il nucleo, che sono dei cromosomi simili ai cromosomi «lamp-brush» degli oociti degli Anfibi (Fig. 5).

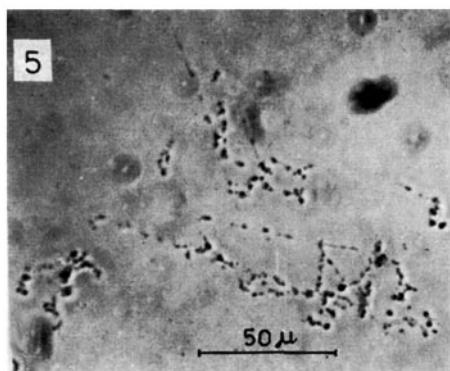


Fig. 5. Cromosomi isolati di un nucleo di oocita in accrescimento. Preparato a fresco, fotografato al microscopio a contrasto di fase.

Le trasformazioni cromosomiche degli oociti in accrescimento perciò si possono interpretare come risultato dello svolgimento della «minor coil» dei cromosomi zigotenici. I cromosomi «lamp-brush» sarebbero costituiti da filamenti cromatidici completamente o quasi estesi.

Queste trasformazioni dimostrano l'esistenza dell'elicoide «minor», che si osserva nelle prime fasi meiotiche degli oociti e che è costante negli spermatoцитi, come pure in tutte le fasi della mitosi e nell'interfase delle cellule somatiche. Tale conclusione concorda con quanto è stato visto al microscopio elettronico sui cromosomi interfasici isolati (YASUZUMI *et al.*, POLL¹).

La cosiddetta struttura cromomerica dei cromosomi zigotenici e pachitenici degli spermatoцитi sarebbe perciò dovuta ad avvolgimenti dei cromatidi, come descrive Ris, ma non corrisponderebbe a quella dei cromosomi degli oociti in accrescimento, in cui invece i cromatidi sarebbero completamente svolti. In questi ultimi sono visibili i veri cromomeri costituiti da ingrossamenti o vescicole disposti in fila lungo l'asse del cromatidio e separati l'uno dall'altro da tratti di cromatidio per così dire nudo, come è stato dimostrato negli oociti degli Anfibi da DURYEE² e da GALL³.

Nelle fasi meiotiche, che non siano quelle dell'accrescimento oocitario, i giri dell'elicoide «minor» non sono necessariamente distribuiti in modo regolare. Lungo l'asse del cromosoma si trovano delle regioni

a giri di avvolgimento più fitti ed altre ad avvolgimenti più radi. Queste strutture corrispondono ai «cromomeri» ampiamente studiati nella loro distribuzione sui cromosomi pachitenici del riso da LIMA DE FARIA¹, il quale del resto dà una definizione morfologica di tali strutture, che non pregiudica affatto l'interpretazione da me data.

Bisogna considerare che la «minor coil» interessa il cromatidio ad un livello strutturale, in cui variazioni nella struttura del cromatidio stesso, dovute ai cromomeri veri fanno sentire la loro influenza sull'avvolgimento stesso. Ciò generalmente non avviene per la «maior coil», poiché essa interessa il cromatidio che già presenta un avvolgimento interno, per cui le caratteristiche morfologiche e fisiologiche dei cromatidi possono far sentire meno i loro effetti; in questo caso è la matrice che assume forse maggiore importanza. Questo risulta per esempio nelle regioni eteropicnotiche degli eterocromosomi (WHITE, COLEMAN²), che sono caratterizzate da un diverso grado di avvolgimento della «maior coil», e da una differente carica di acidi nucleici in confronto degli autosomi.

Rapporti tra cromatidi e cromosomi figli

Abbiamo visto come i cromosomi presentino l'elicoide «minor» costantemente, anche nell'interfase. Questo fatto ed i recenti dati delle ricerche sulla sintesi nucleare dell'ADN permettono di riesaminare le questioni riguardanti i rapporti strutturali dei cromatidi in seguito all'autoriproduzione ed all'accoppiamento.

Le principali conclusioni su questo argomento sono fondate sui risultati delle osservazioni microscopiche sui cromosomi profasici e metafasici della mitosi e della meiosi. Molto spesso però i risultati variano da materiale a materiale e dipendono dai metodi di allestimento dei preparati.

In base ai rapporti tra i cromosomi figli alla metafase gli avvolgimenti cromatidici vengono indicati come «plectonemici», usando la terminologia di SPARROW³, quando nell'avvolgimento elicoidale «maior» i due cromatidi sono sempre paralleli e non si possono separare senza svolgerli; oppure «paranemici», quando i due cromosomi figli possono essere separati liberamente in direzione laterale. In quest'ultimo caso in proiezione i cromatidi sembrano accavallarsi l'uno sull'altro due volte ad ogni giro di elicoide.

In generale si ammetteva che la «maior coil» della mitosi fosse di tipo plectonemico, mentre nella meiosi si avrebbe un avvolgimento paranemico. Attualmente le opinioni sono piuttosto cambiate: gli avvolgimenti plectonemici sembrano sempre meno probabili.

¹ G. YASUZUMI *et al.*, Chromosoma 4, 221, 359 (1951). — E. E. POLL, Bioch. Bioph. Acta 10, 215 (1953).

² W. R. DURYEE, Ann. N. Y. Acad. Sci. 40, 920 (1950).

³ J. G. GALL, J. Morph. 94, 283 (1954).

¹ A. LIMA DE FARIA, Chromosoma 5, I (1952).

² M. J. D. WHITE, J. Genet. 40, 67 (1940). — L. C. COLEMAN, Genetics 28, 2 (1943).

³ A. H. SPARROW, Canad. J. Res. 20, 257 (1942).

Nella rivista sintetica sulla struttura elicoidale dei cromosomi di MANTON¹ si trova una messa a punto ed un esame critico di questi problemi.

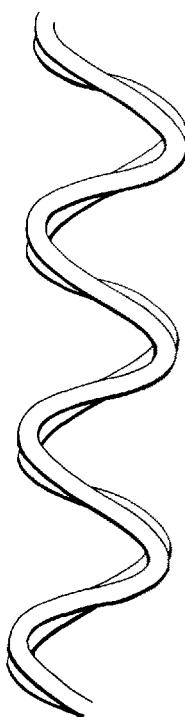


Fig. 6. Schema di cromosoma interfisico od in profase mitotica iniziale, con due cromatidi avvolti secondo l'elicoide minor paranemica.

Qualsiasi opinione si voglia sostenere, per tali questioni non è sufficiente basarsi su singole osservazioni, bensì bisogna prendere in esame tutto il complesso di trasformazioni cromosomiche, dato che le strutture di un determinato stadio non sono che la conseguenza di strutture precedenti.

Nella mitosi l'autoriproduzione chromatidica avverebbe nell'interfase, come dimostrano indirettamente le ricerche citofotometriche sull'ADN di LISON e PASTEELS², di SWIFT ed altri³, cioè avverebbe quando i cromosomi mostrano i residui della «maior coil», le «relic coils», mentre presentano pressoché normale la «minor coil».

Dopo l'autoriproduzione, prima della separazione dei cromatidi figli, che talora si osserva già alla profase, si ha l'individuazione dei cromatidi figli che probabilmente avviene per il fatto che la matrice prima unica per ogni cromosoma si individualizza per i singoli cromatidi. Tale individuazione si può porre già all'interfase.

Nel corso delle trasformazioni cromosomiche durante la profase e la prometafase caratterizzate dalla formazione e contrazione della «maior coil», non si osserva

mai né attorcigliamento né detorsione dei cromosomi o dei cromatidi. Si deve perciò pensare che all'autoriproduzione si formi una elicoide minor «paranemica» (Fig. 6); alla profase la «maior coil» formerebbe pure un avvolgimento paranemico. Prima della separazione dei cromosomi figli ciascun cromosoma sarebbe perciò formato da due cromatidi con due avvolgimenti, uno incorporato nell'altro, ed entrambi paranemici (Fig. 7). Solo all'anafase i singoli cromosomi sarebbero formati da un singolo cromatidio con doppio avvolgimento (Fig. 8).

Queste conclusioni derivate da un esame puramente morfologico sono particolarmente interessanti se si ricollegano alla probabile struttura cromonemica a livello molecolare: infatti i sali dell'ADN sarebbero disposti in catene elicoidali intorno ad un asse (WATSON e CRICK¹). Colla riproduzione cromosomica, attraverso il meccanismo della copie (MULLER²) o meglio attraverso quello delle copie negative («templates») (HALDANE³), si originerebbero nuove strutture elicoidali a livello molecolare.

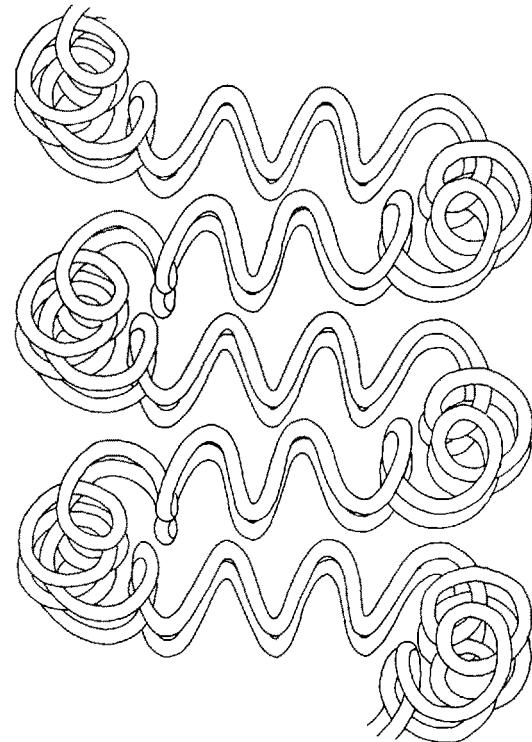


Fig. 7. Schema di cromosoma in prometafase mitotica, con due cromatidi avvolti secondo un'elicoide minor paranemica incorporata in una maior pure paranemica. Questo schema vale anche per gli univalenti alla meta- ed anafase della prima divisione meiotica.

Questo tipo di disposizione, colla formazione di elicoidi a livello strutturale microscopico, determina da

¹ J. D. WATSON e F. H. C. CRICK, *Nature* 171, 737 (1953).

² H. J. MULLER, *Proc. Roy. London* [B] 134, 1 (1947).

³ J. B. S. HALDANE, *The biochemistry of genetics. Cpt. VIII, Mutation and the problem of gene reproduction* (Allen & Unwin, London 1954).

un punto di vista geometrico, la formazione di avvolgimenti paranemici e perciò la possibilità di individuazione e separazione dei cromosomi figli senza svolgimenti o modificazioni strutturali notevoli.

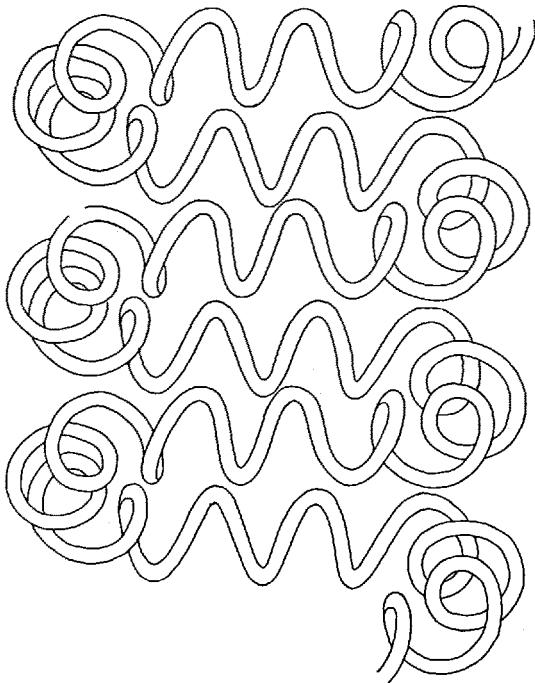


Fig. 8. Schema di cromosoma meta-anafasico mitotico con un solo cromatidio avvolto secondo la «maior» e la «minor coil».

Nella meiosi l'accoppiamento degli omologhi, che si associa all'autoriproduzione, complica ancor più la struttura dei bivalenti.

Secondo DARLINGTON la meiosi è caratterizzata da una «profase precoce» (teoria della «profase precoce»), cioè il nucleo entra in profase prima dell'autoriproduzione cromatidica. I cromosomi leptotenei sarebbero formati da un solo cromatidio e, dal punto di vista strutturale, presentano gli avvolgimenti relitti: allo zigotene gli omologhi si appaiano; soltanto i cromosomi diplotenici sarebbero strutturalmente comparabili con quelli della profase mitotica (cfr. il diagramma delle strutture cromosomiche della mitosi e della meiosi di DARLINGTON¹).

Poiché all'inizio dello scostamento diplotenico è stato osservato in alcuni casi un attorcigliamento di un omologo con l'altro, DARLINGTON e molti altri citologi parlano di una «relational coil»; viene ammesso perciò che l'accoppiamento avvenga per avvolgimento reciproco dei due cromosomi omologhi. Le «relational coils» a parer mio non presentano, neppure nel materiale in cui si vedono, una regolarità tale da dimostrare un avvolgimento reciproco: negli spermatociti delle cavallette all'inizio dello scostamento diplotenico i «partner» dei bivalenti sono pressoché paralleli.

¹ C. D. DARLINGTON, *Recent advances in cytology* (Churchill, London 1937).

Si deve perciò ammettere un accostamento parallelo degli omologhi, ed essendo questi avvolti secondo l'elicoide «minor», si forma un avvolgimento paranemico. In questo modo si attua nella maniera più semplice un accostamento per una più ampia superficie.

Una chiara dimostrazione che l'autoriproduzione cromatidica avvenga al pachitene, come sostiene DARLINGTON, non è stata data. Le ricerche citofotometriche di SWIFT¹ sui nuclei meiotici hanno mostrato che la quantità di ADN è quadruplicata già al leptotene iniziale, stadio in cui si dovrebbe perciò porre l'autoriproduzione stessa.

Le osservazioni microscopiche non forniscono dati sufficienti per decidere su questo punto; ad es. nei cromosomi «lamp-brush» degli oociti degli Anfibi i singoli cromonemi secondo DURYEE² sarebbero duplici, secondo GALL³ semplici.

Anche sul numero effettivo di filamenti cromonemici nei bivalenti le opinioni dei ricercatori sono tutt'altro che concordi.

In alcuni vegetali (*Tradescantia*, *Trillium*, ecc.) i cromosomi metafasici sarebbero tetrapartiti e le tetradi meiotiche ottopartite (NEBEL⁴).

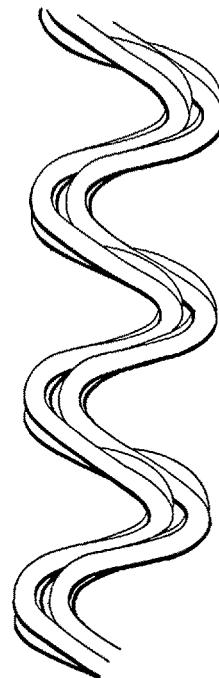


Fig. 9. Schema di cromosoma pachiteno, con quattro cromatidi avvolti secondo un'elicoide paranemica minor.

Questa struttura sarebbe dovuta ad una separazione accessoria dei cromatidi («tertiary split»), oltre a quella con la quale si dividono i cromosomi figli. Anche negli animali sono stati riconosciuti più di 2 e 4 cromatidi ed

¹ H. SWIFT e R. KLEINFELD, *Physiol. Zool.* **26**, 301 (1953).

² W. R. DURYEE, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **50**, 920 (1950).

³ J. G. GALL, *J. Morph.* **94**, 283 (1954).

⁴ B. R. NEBEL, *Cold Spring Harbor Symp. quant. Biol.* **9**, 7 (1941).

allora si parla di mezzi cromatidi, come per alcune specie di Flagellati (CLEVELAND¹), alcune specie di Acridoidei (MAKINO, MICKEY²) ed in un genere di Coccidi (HUGHES-SCHRADER³).

In ogni caso per definire l'unità cromatidica non ci si può basare sul numero di filamenti che si possono vedere all'esame microscopico, ma bisogna riferirsi a quelli che si possono individuare in base alla trasformazioni e separazioni cromosomiche nelle successive divisioni (KAUFMANN⁴).

Di sicuro per la meiosi si può dire che l'autoriproduzione avviene prima del pachitene e, poiché non c'è alcun motivo per non ammettere che l'autoriproduzione non avvenga anche nella meiosi nello stesso modo che nella mitosi, anche i due cromatidi figli di ciascun univalente daranno origine ad una elicoide paranemica minor.

I bivalenti prima del diplotene sarebbero così formati da quattro filamenti tutti presentanti un avvolgimento proprio ed incastri l'uno con l'altro in modo da formare complessivamente un'elicoide paranemica «minor» (Fig. 9).

Al diplotene ed alla diacinesi si forma e si contrae l'elicoide «maior» e si separano i «partner» di ciascuna coppia; alla metafase ciascun univalente sarebbe formato da due cromatidi con i due avvolgimenti incorporati, entrambi paranemici (Fig. 7). Tale struttura sarebbe propria anche dei cromosomi anafasici della prima divisione meiotica.

Queste conclusioni, anche per i cromosomi meiotici, si fondono sul fatto che non sono state mai dimostrate in maniera evidente modificazioni della struttura cromosomica che possano indicare avvolgimenti reciproci o vere detorsioni tra cromatidi o tra cromosomi omologhi.

Non credo che si possano ammettere né «relational coils» né avvolgimenti di tipo plectonemico. — Attualmente, per quanto mi consta, un solo citologo, MATSUURA⁵, sostiene che le elicoidi meiotiche sono di tipo plectonemico, ciò in relazione alla sua teoria della formazione dei «crossing-over» mediante rottura e saldatura dei cromatidi tra spirali parallele. Però a sostegno di tale interpretazione non sono riportati altri dati se non quelli del citologo giapponese stesso.

Conclusioni

Numerosissime osservazioni sulla struttura dei cromosomi in materiali diversissimi dimostrano concordemente che i cromatidi sono avvolti secondo un'elicoide.

Questa disposizione spaziale ha un'importanza fondamentale nei processi di riproduzione e di trasformazione dei cromosomi («internal mechanics» di DAR-

LINGTON); ma, in molti particolari di importanza notevole, le opinioni dei citologi sono contrastanti.

L'esame comparativo delle trasformazioni cromosomiche, soprattutto nella spermatogenesi e nell'oogenesi, che sono state qui esposte, ci permette di dare un'interpretazione generale sulla struttura cromatidica e sulla disposizione spaziale dei cromatidi nella mitosi e nella meiosi.

I cromatidi sarebbero costantemente avvolti secondo un'elicoide «minor». Lo svolgimento di tale elicoide si osserverebbe soltanto in alcuni casi, ad es. nei nuclei degli oociti in accrescimento. In questi sono visibili i veri cromomeri. I cromomeri comunemente descritti sarebbero invece giri dell'elicoide «minor», distribuiti irregolarmente lungo l'asse del cromosoma in relazione forse alla distribuzione dei veri cromomeri ed alle caratteristiche della matrice.

La costanza dell'avvolgimento elicoidale «minor» ed il fatto che l'autoriproduzione cromatidica avviene nell'interfase, rendono molto verosimile che nei cromosomi a due o quattro cromatidi si formino sempre degli avvolgimenti paranemici. La stessa disposizione spaziale dei cromatidi si avrebbe in seguito all'appaientamento meiotico.

Questo tipo di struttura nella maggior parte dei casi è confermato dalle trasformazioni cromosomiche, che precedono la separazione meta-anafasica dei cromosomi figli, ed è quella che probabilmente meglio concorda coi meccanismi di riproduzione cromosomica.

Summary

Very many observations of the structure of the chromosomes in various materials show, without exception, that the chromatids are coiled like springs.

This spatial arrangement is of fundamental importance in processes of reproduction and changes in chromosomes («internal mechanics» of DARLINGTON), but in many important particulars the opinions of cytologists differ.

The comparative study of changes in chromosomes, especially during spermatogenesis and oogenesis, which are described here, permits us to give a general interpretation of the chromatid structure and of the spatial distribution of the chromatids in mitosis and meiosis.

The chromatids should be constantly coiled in a «minor» spiral. The uncoiling of such spirals could be observed in some cases only, e.g., in nuclei of growing oocytes. In this the chromomeres are visible. The chromomeres commonly described should be the coils of the «minor» spiral, distributed irregularly along the axis of the chromosomes, perhaps in relation to the distribution of true chromomeres and to the characteristics of the matrix.

The constancy of the «minor» coil and the fact that chromatid reproduction takes place at the interphase, makes it very likely that in chromosomes with two or four chromatids there is always paranemic coil. The same spatial arrangement of the chromatids should have followed meiotic pairing.

In most cases this type of structure is confirmed by the changes in the chromosomes, which precede the separation of the daughter chromosomes at meta-anaphase, and it is in better agreement with the mechanisms of chromosomes reproduction.

¹ L. R. CLEVELAND, Trans. Amer. Phil. Soc. 39, 1 (1949).

² S. MAKINO, J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. [VI] no. 1, 29 (1936). — G. H. MICKEY, Amer. Nat. 80, 446 (1946).

³ S. HUGHES-SCHRADER, Biol. Bull. 78, 312 (1940).

⁴ B. P. KAUFMANN, Bot. Rev. 14, 57 (1948).

⁵ H. MATSUURA, Chromosoma 3, 431 (1949).