

Volvox aureus

Historisch overzicht — Kweken — Zwemmen — Oriëntatie

H. J. NIEBOER.

(vervolg)

De oriëntatie.

Laten we een lichtbundel horizontaal door het water lopen, waarin een *Volvox* rondzwemt, dan zal deze zich in de meeste gevallen naar de lichtbron bewegen. Nu veronderstelde Bancroft (1907), dat deze oriëntatie plaatsvindt, doordat de flagellen aan de lichtkant als het ware verlamd worden. Dat een positieve lichtoriëntatie op deze manier kan plaatsvinden is duidelijk, maar er zijn nog wel andere mogelijkheden denkbaar. We moeten nu zien klaar te spelen *Volvox* in omstandigheden te brengen, die een continue waarneming onder het microscoop mogelijk maken en die toch zo natuurlijk mogelijk zijn. Aan de laatste eis voldoet zeker niet de tot nu toe gebruikte methode waarbij men *Volvox* klemt tussen een object- en een dekglas, dat bv. met capillairen op het objectglas steunt.

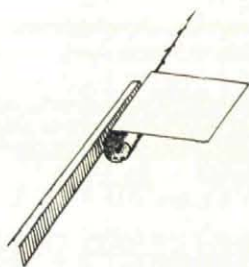


Fig. 8. De gemonteerde stekel van *Opuntia rufida*.

Proef 1: Na enig proberen werd de volgende techniek ontwikkeld. We nemen een stekel van de cactus *Opuntia rufida*. De

lengte hiervan is ongeveer 3 mm, de diameter ± 0.06 mm, de lengte van de weerhaken is vrijwel gelijk aan de diameter ter plaatse. Deze stekel bevestigen we met paraffine aan een opgerold reepje bladtin, dat op zijn beurt weer aan een staafje

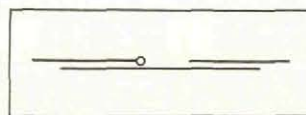


Fig. 9. Drie capillairen bevestigd op een objectglas. *Volvox* in een hoek gedrukt.

wordt vastgekit (fig. 8). Een *Volvox* wordt nu in een druppel op het objectglas gebracht waarop drie capillairen, als in fig. 9 aangegeven, zijn bevestigd. We zuigen dan zoveel van het water weg, tot de *Volvox* door de oppervlaktespanning tegen het glas wordt gedrukt. Daarna wordt onder een prepareermicroscoop de *Volvox* met een naald in een hoek gedreven en op de stekel gespietst. Het bladtinrolletje wordt nu snel van de staaf afgebroken en in een ringaquarium met karmijnsuspensie gedaan. Dit aquarium heeft een binnendiameter van 15 mm, en een hoogte van 5 mm, het is bevestigd op het objectglas en wordt afgesloten met een dekglas. Onze *Volvox* laat zich nu rustig bekijken onder het microscoop. De weerhaakjes van de stekel zorgen ervoor, dat hij onwrikbaar vast blijft zitten (glasharen e.d. zijn daarom niet te gebruiken voor het fixeren). Figuur 10 geeft een *Volvox* op een stekel, en de weerhaken in de juiste

grootteverhouding weer. Een aldus gespietste *Volvox* gaat rustig door met zijn zwembewegingen en met zijn ontwikkeling; de dochterkolonies groeien en verlaten op de gezette tijd de moederbol. Wordt de *Volvox* op zo'n stekel geprikt

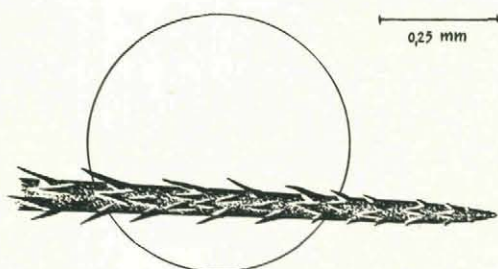


Fig. 10. *Stekel van Opuntia rufida met de omtrek van een middelmatig grote Volvox.*

en er daarna weer afgestreken (waarbij hij zwaar verwond wordt door de weerhaken) dan vertoont hij toch geen verschil in reacties met controles. Op grond van dit gedrag mag worden aangenomen dat de gemonteerde *Volvox*-exemplaren zich op dezelfde wijze gedragen als normale vrij zwemmende exemplaren. Een derde argument wordt aangegeven bij proef 2.

We plakken nu een aanwijshaar exentrisch op het oculair-diafragma, zodat in het microscoop een beeld verkregen wordt, als aangegeven is in fig. 11. We zien een continue stroom van karmijndeeltjes om de *Volvox* heen gaan, in de volgende figuren aangeduid door de kromme pijlen, die lopen van de sensitieve pool naar de generatieve pool. Veranderingen van de normale zwembewegingen zullen zich dadelijk kenbaar maken als afwijkingen in deze stroming.

We schermen nu het aquarium opzij goed af door een huls van zwart papier. Bij verschillende standen van het diafragma van

het microscoop kunnen we nu de tijd opnemen, die een karmijndeeltje nodig heeft om van het aanwijshaar tot aan de *Volvox*-bol te komen. Het blijkt dat, onafhankelijk van de lichtintensiteit, de stroomsnelheid en dus de flagelslag constant is. Hiermee is dus de mening van Bancroft weerlegd, dat de flagellen door het licht verlamd worden of minder slaan.

Opmerking: Brengen we een voorwerp vlakbij of tegen de gefixeerde *Volvox*, dan reageert deze ter plaatse met onregelmatige flagelbewegingen of met stoppen daarvan; vooral de sensitieve pool is in dit opzicht gevoelig. Dit is één van de redenen waarom we de methode van het klemmen van de *Volvox* tussen object- en dekglas bij voorkeur niet gebruiken.

Proef 2: We sluiten enige *Volvox*-bollen van onze culture in een bovenbeschreven ringaquarium. Bekijken we dit aquarium, dat zijdelings weer goed is afgeschermd, onder de zwakke vergroting van een microscoop, dan blijkt dat, als we plotse-

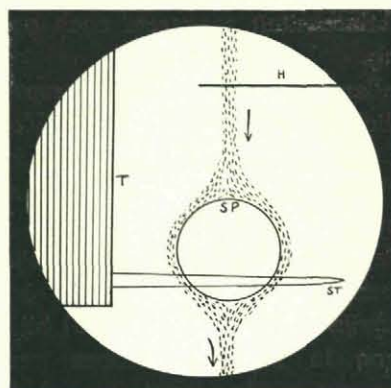


Fig. 11. *Het microscopische beeld van een gefixeerde Volvox.*

H = aanwijshaar, T = bladtinrol, ST = stekel. De pijlen geven de stroomrichting aan. Getekend zijn alleen de sterk bewegende karmijndeeltjes.

ling de diafragma-opening veranderen, het volgende kan gebeuren:

a) De *Volvox*-bollen vertragen bij verhoging van de lichtintensiteit meer of minder sterk hun bewegingen of stoppen deze geheel en zinken dan met hun generatieve pool naar beneden; deze reactie duurt enkele seconden, daarna zwemmen de *Volvox*-bollen weer normaal door.

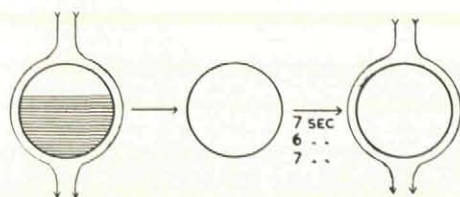


Fig. 12. Reactie van afzonderlijke delen van *Volvox* op een snelle overgang van donker naar licht.

b) Er gebeurt niets bij plotselinge verhoging van de lichtintensiteit, maar hetzelfde effect van a) vindt plaats als reactie op snelle lichtvermindering.

c) Tenslotte bestaat de mogelijkheid, dat de *Volvox*-bollen noch op vergroting van de lichtintensiteit reageren, noch op verkleining.

Herstellen we bij a) en b) de oorspronkelijke lichtintensiteit, terwijl de *Volvox*-bollen nog bewegingloos zijn, dan zwemmen zij even plotseling weer door als ze gestopt zijn.

Reactie a) zien we vaak optreden bij *Volvox*-exemplaren die lange tijd in het donker zijn geweest en reactie b) bij zulke die lang in het licht hebben gestaan. Plaatsen we nu de aquaria van a), b) en c) voor het raam (niet in de zon) dan blijkt:

Volvox-exemplaren van a) verzamelen zich aan de lichtkant,

die van b) verzamelen zich aan de kant van het licht af,

die van c) zwemmen verspreid rond.

De reactie a) hebben we ook gezien bij *Volvox*-bollen, die ten gevolge van vraat van rotatoriën of amoeben (zie boven) $\pm 5/6$ deel van hun cellen hebben verloren. Ook door deze waarneming wordt de bruikbaarheid van de bij proef 1 beschreven methodiek aangetoond.

Proef 3: Om te zien wat met de flagellen precies gebeurt bij deze licht-oriëntatie in geval a) van proef 2, fixeren we een *Volvox*, zoals aangegeven is in proef 1. De karmijndeeltjes omstromen hem als weergegeven in fig. 11. Vergroten we nu plotseling de lichtintensiteit, dan verandert deze stroom abrupt; is de reactie sterk, dan staan alle flagellen stil, anders alleen die aan de sensitieve pool. Herstel van de flagelslag vindt plaats van de generatieve poolkant af naar voren. Tussen het begin van dit herstel en het volledige herstel kunnen verscheidene seconden verlopen. Brengen we de intensiteit tijdens de reactie weer terug op de oorspronkelijke sterkte, dan gaat de stroom dadelijk weer normaal door. Verduisteren we de *Volvox* gedeeltelijk, door tussen de lichtbron en de microscoopspiegel een scherm te plaatsen, dan krijgen we een resultaat zoals in fig. 12 aangegeven. De grens licht-donker

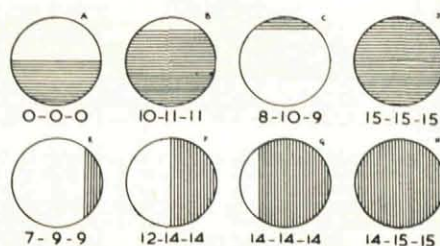


Fig. 13. Als fig. 12. De sensitieve pool is steeds naar boven gericht. De getallen geven de duur van de reactie in seconden aan van drie verschillende proeven.

is zeer scherp te krijgen. Halen we na een halve minuut plotseling het scherm weg, dan kunnen we de reactie van afzonderlijke gedeelten van de *Volvox* op de snelle overgang donker-licht meten aan de hand van de tijd die verloopt vóór de stroom geheel is hersteld. Daarna wordt het effect van dezelfde verduistering nog tweemaal bepaald. In fig. 13 is het resultaat van een serie van dergelijke proeven aangegeven; getekend is daar alleen de situatie tijdens het verduisteren. We zien uit deze proeven dat *Volvox* reageert op veranderingen in de lichtintensiteit en dat de sensitieve pool de grootste gevoeligheid heeft voor deze reactie.

Deze uitkomst maakt het waarschijnlijk dat de oriëntatie naar het licht plaatsvindt, doordat de overgang donker-licht remmend werkt. Wanneer namelijk de cellen bij hun draaiing naar de lichtkant komen, zullen de flagellen een tijdlang stoppen of minder slaan. De lichtkant krijgt dus een kleinere voortbewegende kracht en de lengte-as zal zich naar het licht wenden (fig. 14). Is de lengte-as eenmaal evenwijdig aan de lichtstralen georiënteerd, dan treedt bij geen enkele cel meer de overgang donker-licht op, zolang de *Volvox* in de lichtrichting georiënteerd blijft. Afwijkingen zullen dadelijk worden gecorrigeerd.

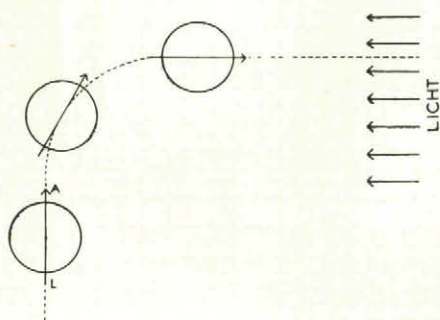


Fig. 14. De positieve lichtoriëntatie (naar Mast).

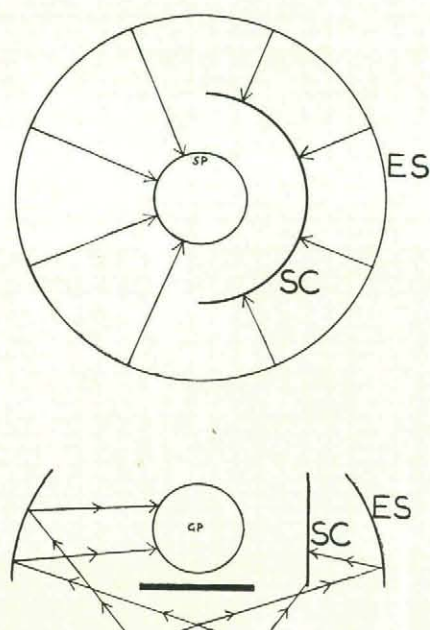


Fig. 15. Proef 4: *Volvox* in het centrum van de epispiegel. Boven: van boven gezien. Onder: van opzij gezien. ES = epispiegel, SC = scherm. De pijlen geven het verloop van de lichtstralen aan. (De *Volvox* is in verhouding veel te groot getekend).

Proef 4: We spraken zojuist over de „lichtkant” van een *Volvox*, maar kunnen we daarvan spreken bij een zo doorschijnend organisme? Anders gezegd: De *Volvox*-cellen aan de kant, die naar de lichtbron is toegekeerd, worden aan de buitenkant getroffen; de *Volvox*-cellen aan de andere kant van het boloppervlak aan de andere kant. De vraag is nu: Maakt het voor de cellen verschil van welke kant ze door het licht getroffen worden?

Om dit na te gaan plaatsen we een *Volvox*, die gefixeerd is als bij de vorige proeven, in het centrum van een microscoop met epispiegel, zodat hij zich bevindt in het centrum van radiaal gerichte lichtstralen (fig. 15). Om warmte-effecten uit

te sluiten is het ringaquarium geplaatst in een met water gevulde petrischaal (niet getekend) en wordt na iedere proef een tijdlang het licht uitgedraaid. Door nu met een zwarte papierstrook (SC in fig. 15) het licht van één kant beurtelings af te scher- men en toe te laten, veroorzaken we, wan- neer de lichtstralen een hoek maken met de lengte-as, dezelfde lichtreactie, die we bij proef 3 beschreven, *alleen aan de eerst verduisterde kant*. Hieruit blijkt dus dat het inderdaad van belang is, van welke kant de cellen door het licht worden ge- troffen.

Proef 5: Waar vindt nu de lichtperceptie plaats? Hoewel het niet waarschijnlijk is, is het toch ook niet te voren uit te sluiten, dat de lichtveranderingen gepercipieerd worden door de flagellen; daartoe nemen we de volgende proef:

De flagellen aan de omtrek van de maxi- male optische doorsnede van een gefixeer- de *Volvox* worden verduisterd, de bij- behorende cellen niet (fig. 16, boven). Na verwijdering van het scherm reageren deze flagellen niet. Doen we de omgekeerde

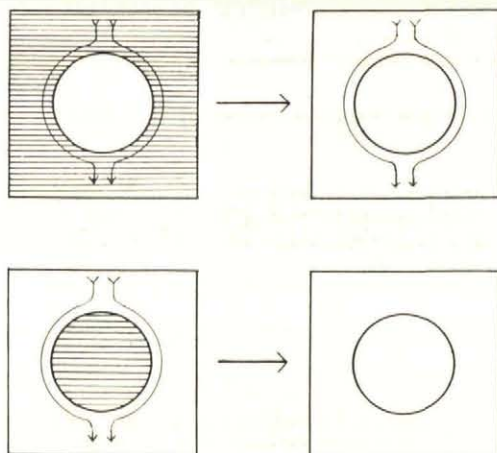


Fig. 16. *Proef 5:* Boven: eerst flagellen verduisterd — geen effect. Onder: eerst cellen verduisterd — lichtreactie.

proef, dan krijgen we wel een duidelijke reactie (fig. 16, onder). We zullen dus uit moeten zien naar andere lichtpercipiërende organen. Nu wijst de paralleliteit tussen enerzijds grote oogvlekken aan de sensitieve pool, die naar achteren toe steeds kleiner worden tot verdwijnen toe, en anderzijds de lichtreactie, die aan de sensi- tieve pool het grootste is en naar achteren toe steeds minder wordt, sterk in de rich- ting van de oogvlekken (stigmata) als lichtpercipiërende organen. Mast (1926 o.a.) veronderstelde, dat in de holte van de oogvlekken zich een lichtgevoelige stof bevindt, die door de met hun opening naar buiten gerichte pigmentbeker voor licht- stralen, die door de *Volvox*bol dringen, wordt afgeschermd.

Proef 6: De flagellen van iedere cel hoeven niet te wachten op de overgang donker- licht, voor zij reageren. De reactie breidt zich namelijk enigszins uit, zoals blijkt bij de proef van fig. 13B: niet alleen de fla- gellen van het verduisterde deel, maar ook die van het licht gelaten kapje aan de sensitieve pool reageren op het wegnemen van het scherm. Als mogelijke oorzaken voor dit verschijnsel kunnen we aannemen: a) verandering in de stroom, die het ge- volg is van de reactie van de flagellen van het verduisterde deel, wordt gepercipieerd door de flagellen, en bewerkt, dat ook de flagellen van het niet verduisterde deel bij de sensitieve pool gaan reageren, of b) er vindt een of andere geleiding plaats door de *Volvox* heen.

Om dit uit te maken monteren we twee *Volvox*-exemplaren als boven beschreven, drukken de bladtinrolletjes tot de ge- wenste hoogte en schuiven zo lang, tot de lengte-as van beide organismen in elkaars verlengde liggen en een situatie ontstaat zoals getekend is in fig. 17. De stroom van

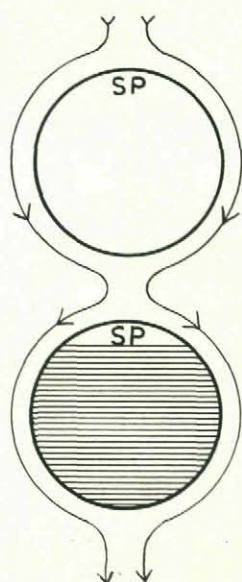


Fig. 17. Proef 6.

de generatieve pool van de voorste *Volvox* werkt een constante toestroming bij de sensitieve pool van de achterste *Volvox*. Herhalen we nu de bovengenoemde gedeeltelijke verduistering bij de achterste, dan blijken bij opheffing daarvan de flagellen aan diens sensitieve pool toch te reageren. De verklaring van dit verschijnsel zal dus gezocht moeten worden in de richting van inwendige prikkelgeleiding.

Discussie.

We vonden dus dat de afzonderlijke cellen met een schokreactie reageren op verandering in de lichtintensiteit (fobotaxis); de *Volvox* als geheel vertoonde echter topotaxis, d.w.z. hij beweegt zich onder invloed van de prikkel actief in de richting van de prikkelbron of er vanaf.

Mast 1926 beschreef de lichtoriëntatie van *Volvox* als volgt:

De flagellen slaan normaliter naar links-achter. Bij de overgang van donker naar

licht gaan de flagellen plotseling transversaal slaan (dus loodrecht op de lengte-as), bij de overgang van licht naar donker longitudinaal (dus evenwijdig aan de lengte-as). Het gevolg van de transversale slagrichting van de flagellen is, dat de *Volvox* gaat draaien zonder vooruit te komen; het gevolg van de longitudinale slag is: voortbeweging zonder draaien.

Het is duidelijk dat met een dergelijke reactie ook een georiënteerd zwemmen naar de lichtbron mogelijk is. Mast zag dus een kwalitatieve verandering nl. een verandering in de slagrichting. Onze proeven toonden aan een kwantitatieve verandering: een verandering in de slagfrequentie. Mast's theorie van de oriëntatie vond ik in handboeken en encyclopaedieën overgenomen als „de oriëntatie van *Volvox*”. Er moet met nadruk op gewezen worden dat de door ons verkregen resultaten betrekking hebben op *Volvox aureus*. Mast (1926) gaf niet aan met welke soort hij gewerkt heeft, maar waarschijnlijk was het, gezien zijn tekeningen en schema's, *Volvox globator* (elliptische vorm, korte dikke plasmodesmen). Het is niet onmogelijk, in aanmerking nemende de sterke verschillen in bouw, dat beide soorten een verschillend oriëntatie-mechanisme hebben.

Bij een *globator*, vastgeklemd tussen een holgeslepen objectglas en het dekglas, hebben we wel de schoksgewijze overgang van de schuin naar achter gerichte slag tot de transversale slagrichting bij de overgang van donker naar licht waargenomen. Deze waarneming steunt dus inderdaad het bovenstaand vermoeden, dat de controverse teruggebracht kan worden op een soortverschil.

We willen met dit onopgeloste probleem onze bespreking afsluiten. Voor wie een poging wil doen het op te lossen, zij ter aanmoediging vermeld, dat *V. globator*

waarschijnlijk niet zo zeldzaam in ons land is als Redeke (1947) aangeeft. In ieder geval kunnen aan de beide daar genoemde inlandse vindplaatsen nog twee geïsoleerde plassen in Haren (Gr.) worden toegevoegd.

Hieronder volgt een tabel van de beide inheemse *Volvox*-soorten, aan verschillende auteurs ontleend en aangevuld met eigen waarnemingen.

Op grond van deze sterke verschillen

in bouw heeft men wel verondersteld, dat beide soorten langs verschillende wegen in de evolutie ontstaan waren, nl. *aureus* uit plassen in Haren (Gr.) worden toegevoegd. een *Chlamydomonas*-soort en *globator* uit een *Sphaerella*-soort. Ook afgezien van deze diphyletische hypothese — overigens weersproken door de uniformiteit van de voortplanting — zal het belangwekkend zijn de oplossing van het oriëntatieprobleem te vinden.

	<i>Volvox aureus</i>	<i>Volvox globator</i>
Diameter	: maximaal $\pm 0,5$ mm	maximaal $\pm 0,7$ mm
Vorm	: volwassen kolonies rond	volwassen kolonies ellipsoïd
Aantal cellen	: 200—1000	1500—20000
Celvorm	: rond, diam. 0,01 mm	hoekig, 0,003—0,005 mm
Celwand	: onzichtbaar	tenminste a. d. S. P. zichtbaar
Plasmodesmen	: lang en dun	kort en dik
Geslachtsverdeling	: tweehuizig	eenhuizig
Zygotewand	: glad	met stekels

Litteratuur:

- Bancroft 1907, Journ. Exp. Zool. Vol. 4.
 Brown 1945, Ohio Journ. Sci. 45.
 Chapman 1941, „An introduction to the study of Algae”.
 Ehrenberg 1838, „Die Infusionthiere als vollkommene Organismen.”
 Janet 1912, 1922, 1923, „Le Volvox” 3 Vols.
 v. Leeuwenhoek 1702, „Sevende Vervolg der Brieven” 122ste Missive.
 Klein 1889, Jahrb. Wiss. Bot 20.
 Lowndes 1944, Proc. Zool. Soc. London 114.
 Mast 1907, Journ. Comp. Neur. and Psych. Vol. 17.
 Mast 1926, Zeitschr. f. Vergl. Phys. Bd 4.
 Mc. Lean and Ivimey-Cook 1951, „Textbook of theoretical Botany” Vol. I.
 Redeke 1947, „Hydrobiologie”.
 Swammerdam 1737, „Bijbel der Natuure” I.
 Ulehl 1911, Biol. Zentrbl. 31.

Vragen en korte mededelingen

Merkwaardig gedrag van Bonte kraai. Op 31 januari van dit jaar bevond ik mij bij de heer L. Minderhoud te Halsteren, uit wiens mond ik de volgende waarneming aan een Bonte kraai opschreef. In november 1958 zag ik boven een vuilnisstortplaats van de Stichting „Vrederust”, Halsteren N.B., een Bonte kraai vliegen. Deze kraai droeg iets in zijn

bek, vloog er mee omhoog en liet daarna het voorwerp uit zijn bek vallen. Ik meende iets te zullen zien, als het bekende „laten vallen van mossels op stenen”, maar de vogel dook het snel vallend voorwerp na, greep het **nog in de val** met beide poten, steeg er weer mee op en bracht intussen met één der poten het voorwerp weer in de bek terug.