

## Merkwaardige verschijnselen bij *Dictyosphaerium pulchellum* Wood

door

P. J. SCHROEVERS (RIVON) en Mej. A. C. F. ROEST (RIV)  
(RIVON-mededeling no. 275)

Reeds gedurende enige tijd wordt in een gezamenlijk project van het RIVON en het Rijks Instituut voor de Volksgezondheid (RIV) hydrobiologisch onderzoek verricht met betrekking tot de kwalitatieve samenstelling van het phytoplankton in vijvers, die in de zandgronden van Drente en de Veluwe zijn gegraven ten behoeve van de zandwinning voor wegeaanleg, maar die nu een belangrijke functie hebben als recreatievijvers. Het doel van dit onderzoek is om na te gaan, in hoeverre hier van een enigszins uitgebalanceerd biologisch milieu sprake is, met andere woorden, hoe groot de capaciteit van deze watertjes is, waar het betreft de opvang van recreatieinvloeden. Gebleken is dat, door de periodieke inbreng van mineralen en organisch materiaal door de zomerse genoegens, een situatie ontstaat, die van het begin af voedselrijker is dan normaliter van plassen in deze omgeving zou zijn te verwachten. De zelfreinigende capaciteit van dit water zou volgens de bestaande theorieën groter zijn dan bij geëutrofeerde voedselarme vennen, zodat aan te nemen is, dat de vijvers redelijk goed zullen gaan voldoen aan de hun gestelde eisen.

Van de organismen, die deze min of meer eutrofe toestand indiceren, wordt hier *Dictyosphaerium pulchellum* genoemd, welke in het bijzonder in de plas „Kibbelkoele” bij Sleen sinds het begin van het onderzoek, dat startte in augustus 1964, regelmatig werd waargenomen. De plas is bij gedeelten gegraven. Een aanvang hiermee is gemaakt in 1963. Hij ligt in een dennenbos; verrijking van het water vanuit de omgeving vindt niet plaats. Voor een verdere beschrijving van het milieu wordt verwezen naar het betreffende rapport (ROEST & SCHROEVERS, 6). *Dictyosphaerium pulchellum* kwam nooit in grote aantallen voor, maar is in de meeste monsters wel aangetroffen. Misschien is de trefkans in het recreatie seizoen iets groter dan daarbuiten. Dit is echter niet significant. De meeste koloniën waren viercellig, met duidelijke verbindingsdraden, een fraaie komvormige chloroplast en een grote pyrenoid.

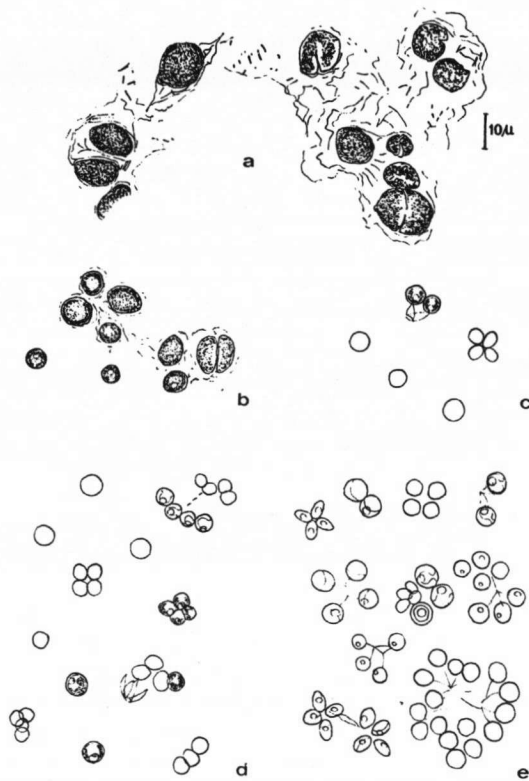


Fig. 1. Toestand van het materiaal in verschillende stadia van de ontwikkeling; a: 5 september; b: 13 september; c: 26 september; d: 3 oktober; e: 17 oktober.

Op 5 september 1966 (fig. 1, a) werd behalve hier en daar een enkel exemplaar van *Dictyosphaerium pulchellum* en van *Ankistrodesmus falcatus* var. *spirilliformis* een sterke ontwikkeling waargenomen van een op dat moment niet nader te classificeren organisme. Groene, onregelmatig afgeronde cellen lagen ingebed in vormloze slijmklompen, die opgebouwd schenen te zijn uit kleine deeltjes, misschien resten van andere celonderdelen. De cellen waren omgeven door een slijmachtig omhulsel, dat kleurloos was en een ruimte vrijliet om de celinhoud. Deze inhoud was grofkorrelig, min of meer tegen de buitenkant aanliggend, maar niet in een duidelijk lichaam geconcentreerd. Een verdere structuur was niet te ontdekken. De cellen waren tamelijk groot: doorsnede 9—18  $\mu$ , en waren levendig aan het delen. Verscheidene delingsstadia werden aangetroffen, zodat het delingsproces nader kon worden bestudeerd. Aan één zijde van de cel vond een insnoering plaats, die zich steeds verder voortzette. Later begon iets dergelijks aan de tegenovergestelde zijde. Beide insnoeringen groeiden dan naar elkaar, totdat de deling voltooid was. Op grond van het feit, dat ook zulke juist gedeelde cellen een omhulsel hadden zoals hierboven beschreven is, wordt aangenomen, dat deze niet als een rest van een oude celwand moet worden beschouwd, doch als een nieuwvorming is op te vatten.

De gedachten gaan dan al gauw uit naar een palmelloid stadium van een vrijzwemmende flagellaat. Om deze reden werd het organisme, dat in het centrifugaat in flinke hoeveelheden voorkwam, voorlopig beschouwd als een palmellastadium van een *Chlamydomonas*. Deze classificering steunde echter op geen enkel literatuurgegeven over dergelijke ontwikkelingen bij *Chlamydomonas*, terwijl tevens geen enkel karakteristiek kenmerk van dit geslacht (b.v. in flagel, stigma, vorm van de chloroplast, pyrenoid, etc.) kon worden waargenomen.

Om meer zekerheid te verkrijgen werd het buisje, waarin zich het levende centrifugaat bevond, bewaard in zonlicht, teneinde na te gaan of een verdere ontwikkeling kon worden waargenomen. Dit bleek inderdaad het geval te zijn. Op 13 september (fig. 1, b) was de slijmlaag aan het verdwijnen. De cellen waren kleiner (7—12  $\mu$  in doorsnede) en meer afgerond; ze begonnen te lijken op de ook aanwezige en reeds eerder geconstateerde cellen van *Dictyosphaerium pulchellum*, waarvan de eerste slijm-draadjes inderdaad op 26 september (fig. 1, c) werden geconstateerd.

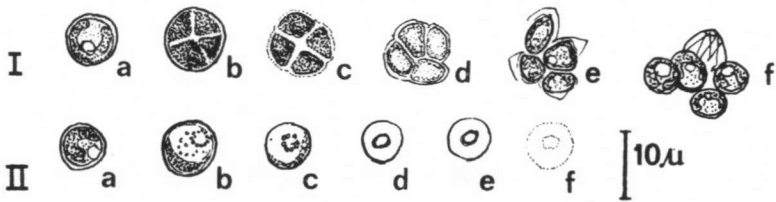


Fig. 2. Autosporenvorming (I) en afsterving (II) zoals in het materiaal werden waargenomen.

N.B. De aangegeven volgorde is gereconstrueerd door de cellen te vergelijken. Het betekent dus niet, dat de veranderingen van alle kenmerken inderdaad zo zijn als hier wordt aangegeven (b.v. de afmetingen der afstervende cellen). Dit laatste geldt overigens ook voor eventuele reconstructies, die kunnen worden gebaseerd op fig. 1, a met betrekking tot de celdeling en de overgang naar normale *Dictyosphaerium*-cellen.

Op 3 oktober (fig. 1, d) werd het materiaal nauwkeuriger bekeken. De grote cellen waren verdwenen. Ook van de slijmlagen was niets meer te vinden. Alle cellen hadden de gedaante aangenomen van *Dictyosphaerium pulchellum*: een ronde celvorm met een doorsnede van 5—8  $\mu$ , een duidelijke celwand, een tegen de wand aanliggende chloroplast, die aan één zijde een opening vrijlaat; aan de basis hiervan een tamelijk grote, ronde pyrenoid ( $\pm 2 \mu$  doorsnede), niet in, maar juist boven het bladgroenlichaam. Geconstateerd werd dat ook in deze fase een levendige deling plaatsvond. Hier was echter sprake van een autosporenvorming (fig. 2, I), zoals die bekend is bij *Dictyosphaerium*: de inhoud van de cel deelt zich in vieren. De vier ontstane cellen maken een eigen wand, zwellen op en doen de wand van de moedercel barsten. In het begin zijn de zo ontstane cellen iets langgerekt en min of meer toelopend naar het centrum van het coenobium. Daarna echter nemen ze de bolvorm aan. Pas dan vormt zich een stevige celwand. Een vraagpunt wordt nu, of nog van een coenobium kan worden gesproken. De cellen worden inderdaad uit één moedercel gevormd, doch het feit, dat ze bijeengehouden worden, is het gevolg van een externe factor. De cellen staan ook niet direkt met elkaar in contact. Bij verdergaande deling wordt dit nog moeilijker. De cellen stammen dan wel van één „oer cel” af, maar zijn niet in die ene cel ontstaan. Misschien is het het beste om alle moeilijkheden te vermijden en in alle gevallen van

„koloniën“ te spreken. Deze koloniën ontstaan doordat de wand van de moedercel verslijmt en de dochtercellen hieraan verbonden blijven. In het materiaal is deze vorming zeer fraai te volgen geweest. Ook deling in tweeën is gezien. Enkele malen werden driebcellige koloniën aangetroffen. Waarschijnlijk betreft het hier delingen in vieren, waarbij een cel is doodgegaan.

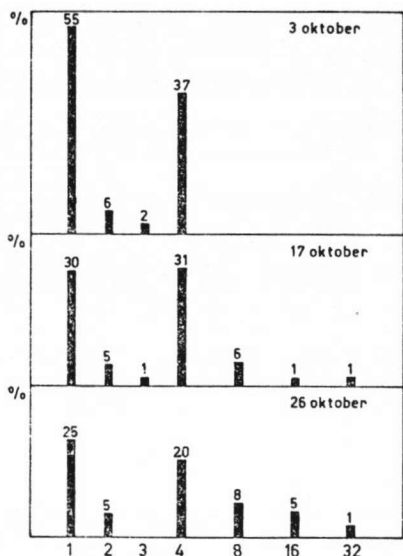


Fig. 3. Verhouding der koloniën van verschillend celaantal en verandering hiervan in de tijd (in de diagrammen van 17 en 26 oktober zijn niet alle grootteorden aangegeven). Horizontaal is uitgezet het aantal cellen per kolonie; verticaal het procentueel aandeel van de betreffende kolonievorm.

Tellingen werden verricht om een indruk te krijgen van de verhoudingen tussen deze categorieën. De resultaten zijn in het diagram (fig. 3) te zien. Duidelijk blijkt, dat driebcellige koloniën een uitzondering zijn en waarschijnlijk als een afwijking moeten worden beschouwd. Tweecellige zijn er meer, viercellige nog meer. Het aantal eencellige overheerst. Waarschijnlijk betreft het hier de cellen, die rechtstreeks zijn voortgekomen uit de oorspronkelijk massa. Uit het feit, dat het aantal viercellige koloniën zo groot is ten opzichte van het aantal tweecellige, moet naar onze mening worden afgeleid, dat de moedercel normaliter in vieren deelt, in een bepaald percentage van de gevallen echter in tweeën. Aan het materiaal zelf is dit echter niet waargenomen. Uiteraard is het niet ondenkbaar, dat ook de andere mogelijkheid, namelijk tweemaal een deling in tweeën plaatsvindt. Dit moet, gezien de verhouding van een-, twee-, respectievelijk viercellige koloniën, echter een uitzondering zijn.

De geschetste benadering werd ook gevolgd op 17 oktober, dus 14 dagen later (fig. 1, e). Het resultaat is te zien in dezelfde figuur. De verhouding is veranderd ten gunste van de meercelligen. Ook 8-cellige koloniën zijn aangetroffen, zelfs 16- en 32-cellige. In fig. 4 worden schematisch de mogelijkheden aangegeven, volgens welke 8-cellige koloniën kunnen worden gevormd. Er is bij het ontstaan van een dergelijke kolonie dus altijd tenminste één deling in tweeën geweest. In de telling van 3 oktober zagen we, dat de verhouding tussen twee- en vierdeling is als 1 : 6. Zou dit bij voortgezette delingen ook het geval zijn, dan zouden naar verhouding minder 8-cellige dan 16-cellige koloniën te zien moeten zijn. Dat dit niet het geval is, zou op verschillende wijzen kunnen worden verklaard:

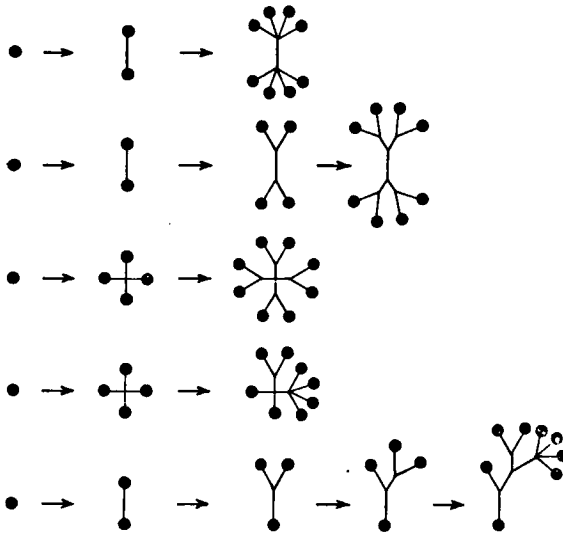


Fig. 4. De mogelijkheden voor de vorming van een 8-cellige kolonie, indien geen afsterving optreedt.

1. normaliter volgt op een deling in vieren een in tweeën.
2. normaliter volgt op een deling in tweeën een in vieren.
3. na een deling in vieren bestaat de neiging langzamer te delen of zelfs helemaal met delen op te houden.
4. koloniën die eenmaal of meerdere malen een vierdeling hebben gehad hebben de neiging om uiteen te vallen.
5. er sterven regelmatig cellen af.

Naarmate de koloniën meercellig worden, blijkt overigens wel, dat lang niet altijd de delingen simultaan verlopen, zodat een strenge doorvoering van het logarithmische grondprincipe vooral bij oudere koloniën niet meer is te constateren. Bij vier- of achtcellige coenobiën is dit echter meestal niet evident.

Van welk van deze gevallen werkelijk sprake is, kan worden achterhaald door de structuren der koloniën na te gaan en hierbij de verhoudingen te bepalen, waarin bepaalde verschijnselen worden waargenomen. Er moet dan het volgende worden geconstateerd:

in geval 1: het aantal koloniën met twee cellen in de laatste deling is groter dan dat met vier, indien de vorige deling in vieren is geweest;

in geval 2: het aantal koloniën met vier cellen in de laatste deling is groter dan dat met twee, indien de vorige deling in tweeën is geweest;

in geval 3: het aantal koloniën met een laatste deling in vieren is groter dan dat met een laatste deling in tweeën. Deze verhouding is meer extreem dan bij de twee- en viercellige koloniën: er heeft dus een verschuiving plaatsgevonden in de richting van die met vier cellen in de laatste deling;

in geval 4: het aantal koloniën met meer dan één vierdeling na elkaar is kleiner dan op grond van de verhoudingen bij twee- en viercellige koloniën is aan te nemen.

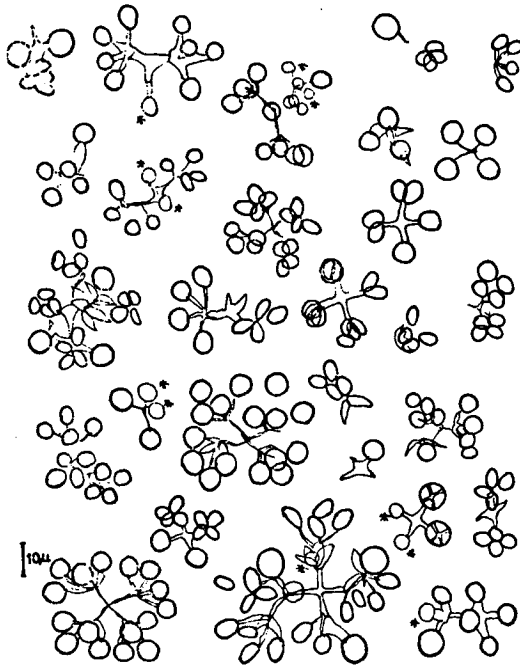


Fig. 5. Koloniën getekend op 26 oktober; met \* gemerkte cellen zijn aan het afsterven.

Dit geval is echter weinig waarschijnlijk, omdat de cellen bijeengehouden worden door celwandresten, die dood zijn en moeilijk beïnvloed kunnen worden door fysiologische processen in de cel, alhoewel het natuurlijk nooit onmogelijk is;

in geval 5: afstervende cellen zijn te zien. Indien dit niet het geval is, moet aan de structuur van de kolonie te zien zijn, dat bepaalde cellen zijn verdwenen. Bovendien zal in dit geval ook het aantal twaalfcellige koloniën relatief hoog zijn.

Voor al deze gevallen is een telling toegepast, waarvan het resultaat wordt gegeven in de volgende tabel:

|                   |                  |
|-------------------|------------------|
| Van 4 naar 2 : 4  | Van 2 naar 2 : 0 |
| Van 4 naar 4 : 27 | Van 2 naar 4 : 5 |
| Van 4 naar 0 : 10 | Van 2 naar 0 : 0 |

In deze tabel zijn de gegevens vermeld van 14 coenobiën, waarbinnen 46 opeenvolgingen konden worden geconstateerd (fig. 5 en 6). Dat is natuurlijk onvoldoende voor een betrouwbaar statistisch gegeven. Niettemin blijken enkele conclusies te kunnen worden getrokken. Vergelijken we de categorieën 4-4 en 4-2, dan blijkt dat een deling in vieren verre de voorkeur heeft. De verhouding tussen deze beide groepen is 27 : 4, ongeveer 7 : 1, wat dus niet principieel afwijkt van de verhouding bij de eerste deling. Aangezien de verhouding ten opzichte van de omgekeerde situatie, namelijk 2-4, praktisch dezelfde is als ten opzichte van 4-4, moet worden aangenomen, dat het percentage tweedelingen gedurende de groei van de kolonie (of het ouder

worden der culture) niet verandert. De mogelijkheden (1), (2) en (3) komen dus te vervallen. Indien geval 4 niet optreedt, zou theoretisch, op grond van de genoemde 7 : 1 verhouding het aantal 4-4 verbindingen 3,25 maal zo groot moeten zijn als de andere categorieën tezamen. Immers bij een totaal van 64 combinaties zullen 49 4-4 combinaties ontstaan. Zou de verhouding 6 : 1 zijn, dan werd het aantal 4-4 bindingen 2,8 maal zo groot als de andere bindingen tezamen. In de tabel wordt een tussenliggende waarde bereikt; hier is de verhouding namelijk  $27 : 9 = 3 : 1$ , waaruit blijkt, dat ook mogelijkheid (4) vervalt. Alleen de laatste mogelijkheid blijft over, namelijk, dat regelmatig afsterving van cellen moet plaatsvinden.

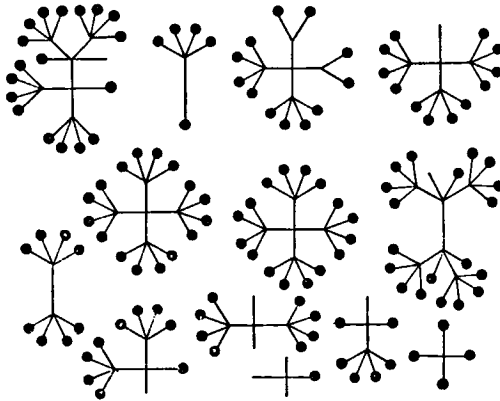


Fig. 6. Configuratie van de op 26 oktober getekende koloniën.

Om deze reden werd het materiaal nogmaals aan een nauwkeurig onderzoek onderworpen en werd inderdaad een afsterving geconstateerd. In het algemeen vindt zo'n afsterving (*fig. 2, II*) plaats in het begin der ontwikkeling. De cellen zijn nog klein en de wand is nog dun in vergelijking met die der volwassen cellen. De inhoud wordt blauwgroen van kleur en verliest meer en meer contour, totdat uiteindelijk de gehele cel is opgelost. De slijmraden, die niet van een cel zijn voorzien, hebben dit lot waarschijnlijk aan dezelfde oorzaak te danken. Hieruit zou zijn af te leiden, dat de afsterving aanzienlijk is. Immers op een totaal van 46 delingen is geconstateerd, dat in tien gevallen geen dochtercellen werden aangetroffen. Eén op de vijf cellen sterft dus af. Of deze afsterving een endo- of exogene oorsprong heeft, kon niet worden geconstateerd. In ieder geval zijn geen parasitaire organismen aangetroffen.

Keren wij terug naar de uitgangssituatie, zoals die begin september werd aangetroffen en die de basis vormde voor de hier gegeven beschouwingen, dan kunnen we ons afvragen, wat hier gebeurd is. In hoeverre is hier sprake van een normaal verschijnsel? Het optreden van een massale ontwikkeling is, voorzover ons bekend in Nederland alleen geconstateerd door BEIJERINCK (1), die het verschijnsel waarnam in het Hijkermeer. Het Hijkermeer is redelijk goed te vergelijken met het plasje Kibbelkoele in die zin, dat ook daar sprake is van een min of meer stabiel verrijkt water, gelegen in een zeer voedselarme omgeving. Ook uit het buitenland is waterbloei meermalen opgegeven (BRUNTHALER, 2). Nergens wordt echter vermeld, dat dit

gepaard gaat met morfologische veranderingen. Op grond van het feit, dat de waterbloei „in situ” wordt geconstateerd, moeten wij aannemen, dat het hier om goed herkenbare koloniën gaat. Het verschijnsel, zoals zich dat in de Kibbelkoele heeft geopenbaard, is dus nogal uitzonderlijk.

Gaan wij na, wat er binnen het geslacht *Dictyosphaerium* zoal bekend is over de morfologie van de cellen in verband met de voortplanting, dan blijkt ook hier geen aansluiting te vinden te zijn. MASSEE (5) beschreef reeds in 1891 een vorming van zoösporen. Deze zijn echter kleiner dan de cellen, waaruit ze ontstaan. Het valt overigens te betwijfelen of de door Massee beschreven vorm werkelijk tot het geslacht *Dictyosphaerium* moet worden gerekend; daarvoor bestaan te veel en te belangrijke verschillen, zoals in de oorsprong der slijmdraden, de vorm en opbouw der cellen, de vorming der kolonie, enz. Ook FRITSCH & JOHN (3) beschrijven een geval van zoösporenvorming, echter eveneens zonder de verschijnselen die in de Kibbelkoele zijn waargenomen. Sexuele voortplanting is beschreven, niet voor *D. pulchellum* maar voor *D. indicum* door IYENGAR & RAMANATHAN (4). Hier is sprake van oögamie. Ook hier zijn de cellen duidelijk kleiner dan de normale vegetatieve. Helaas is het verdere gedrag van de zygote door de schrijvers niet gevolgd. Het zou immers mogelijk kunnen zijn, dat deze zygoten zich ontwikkelen tot datgene, wat in de Kibbelkoele is waargenomen. De geschetste deling zou de reductiedeling kunnen zijn, waarna dan tot de vorming van gewone vegetatieve cellen zou kunnen worden overgegaan. Sexuele voortplanting zou gebonden kunnen zijn aan het eerste stadium van een dergelijke massale ontwikkeling, welke geïndiceerd wordt door uitwendige omstandigheden. Het is in dit verband misschien niet toevallig te achten, dat beëindiging van dit stadium oprad op het moment, dat de cellen in een nieuwe toestand werden overgebracht. Misschien is het milieu van plasjes als het onderhavige bij uitstek geschikt voor sexuele voortplanting van *Protococcales*, waarvan zoals bekend bij de meeste soorten maar zelden iets van die aard wordt waargenomen. Dat zou deze plasjes voor de bioloog bijzonder interessant maken.

#### Literatuur

1. W. BELJERINCK, Over verspreiding en periodiciteit van de zoetwaterwieren in Drentsche heideplassen. Verh. Kon. Akad. Wetensch., afd. Natuurk. 25 (2), 1926, p. 1—211.
2. J. BRUNNTHALER, Protococcales. In A. Pascher, Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz, H. 5, Chlorophyceae II. Jena, 1915.
3. F. E. FRITSCH & R. P. JOHN, An ecological and taxonomic study of the algae of British soils, 2. Ann. of Bot. N.S. 6, 1942, p. 371—395.
4. M. O. P. IYENGAR & K. R. RAMANATHAN, On sexual reproduction in a *Dictyosphaerium*. J. Indian Bot. Soc. 18, 1940, p. 195—200.
5. G. MASSEE, Life-history of a stipitate freshwater alga. J. Linn. Soc. Bot. 27, 1891, p. 457—462.
6. A. C. F. ROEST & P. J. SCHROEVERS, Invloed van recreatie op de biologische gesteldheid van enige in zandgrond gegraven plassen. Rapport RIVON-RIV, 1966, stencil.

#### Summary

In a shallow pond, dug in an oligotrophic area, but enriched by recreation, a waterbloom of a micro-organism which at first could not be identified was investigated. Cultivation showed a transformation into distinct colonies of *Dictyosphaerium pulchellum* Wood, which species was



repeatedly recorded from the pond before. It might be possible that the observed cells developed from zygotes, but in fixed material collected earlier no indications could be found to state this.

During the development of the culture the formation of colonies could be followed. The process starts with the formation of autospores. Division into 4 autospores occurs about 6 times as often as into 2. Deviations of the progress of the process may be explained by desynchronisation of the divisions and by dying off of the cells. The number of dying cells is considerable: 1 out of 5 cells dies before it is able to form new autospores.