

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Wissenschaftlicher Film C 1091/1972

**Semilunarperiodische Fortpflanzung
von *Clunio marinus*
Biologische Zeitmessung in der Gezeitenzone**

Begleitveröffentlichung von

Prof. Dr. D. NEUMANN, Köln

Mit 4 Abbildungen

GÖTTINGEN 1973

Film C 1091

**Semilunarperiodische Fortpflanzung
von *Clunio marinus*
Biologische Zeitmessung in der Gezeitenzone**

D. NEUMANN, Köln

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Zahlreiche Umweltbedingungen ändern sich periodisch: in Landbiotopen sind die tagesperiodischen und jahresperiodischen Schwankungen von Licht und Temperatur die bekanntesten, an den Meeresküsten sind es die gezeitenperiodischen Bedingungen von Überflutung und Trockenfallen. Eine Tierart hat im Freiland nur dann eine hinreichende Überlebenschance, wenn sie ihre Entwicklungs- und Verhaltensleistungen auf die günstigen Zeiten solcher Umweltschwankungen abstimmen kann, also auf die richtige Tages- oder Jahreszeit, oder auf die optimale Gezeitensituation. Die richtige zeitliche Programmierung von Entwicklung und Verhalten ist daher im Freiland vorteilhaft. Sie wird bei sehr vielen Organismen von endogenen Zeitmeßsystemen, sog. „biologischen Uhren“, geleistet (vgl. BÜNNING [1], NEUMANN [7]). Der vorliegende Film versucht sowohl den ökologischen als auch den physiologischen Aspekt solcher zeitkontrollierter Leistungsanpassungen darzustellen. Das hierfür ausgewählte Thema, die semilunarperiodische Fortpflanzung der Mücke *Clunio marinus*, ist unter den vielen möglichen Beispielen zwar etwas kompliziert, jedoch lassen sich die beiden genannten Aspekte hier besonders anschaulich und überzeugend vorführen.

Das Verständnis dieses Unterrichtsfilms wird erleichtert, wenn man die Zeitcharakteristik von Gezeiten kennt. Hierzu und zu weiterführenden Fragen über biologische Zeitmeßsysteme gibt die folgende Begleitveröffentlichung einige Hinweise.

¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 18 u. 19.

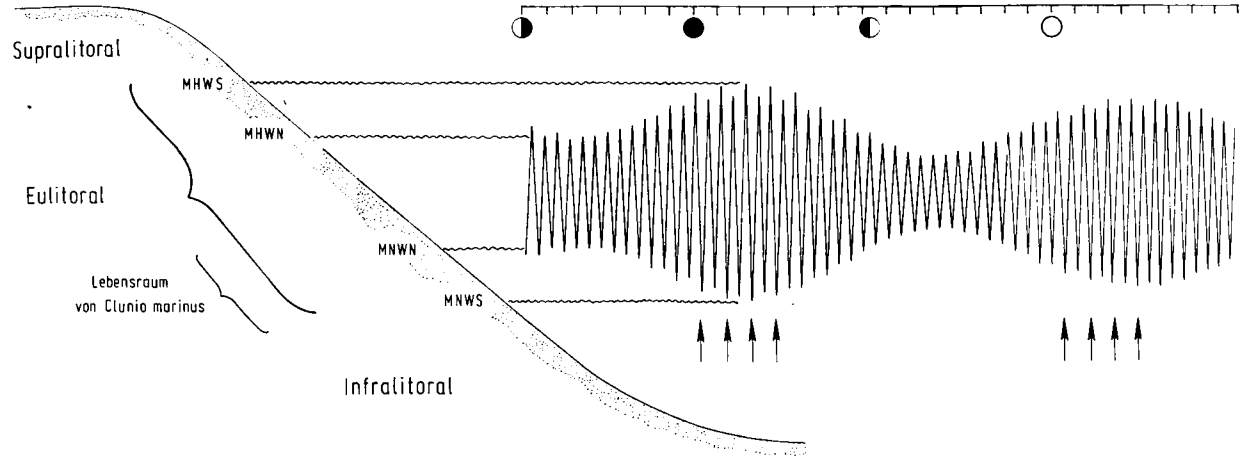


Abb. 1. Unterteilung der Gezeitenzone (links). Pegelaufzeichnungen für einen Küstenort an der französischen Nordküste über einen Mondphasenzyklus (nach rechts anschließend) und die Schlüpfzeiten von *Clunio marinus* (Pfeile). Ordinate (nicht eingezeichnet): Höhe des Wasserstandes. MHWS: Mittlere Hochwasserlinie von Springtiden, MHWN: die von Nipptiden. MNWN: Mittlere Niedrigwasserlinie von Nipptiden, MNWS: die von Springtiden

Gezeiten und Gezeitenzone

Der stete Wechsel von Ebbe und Flut sowie die regelmäßige Folge von Spring- und Nipptiden bestimmen die Lebensbedingungen an den Küsten der Ozeane und offenen Nebenmeere. An den gezeitenstarken europäischen Küsten bilden Ebbe und Flut einen halbtägigen Zyklus von nahezu 12,4 Stunden: Hoch- und Niedrigwasserstände treten daher in der Regel zweimal täglich auf, sie verschieben sich von Tag zu Tag um durchschnittlich 48 Minuten und sie treffen damit — dieses ist für die späteren Überlegungen besonders zu beachten — nur alle 15 Tage (nach einer Verschiebung um $15 \times 48' = 12$ Stunden) wieder auf gleiche Tageszeiten. Der Tidenhub des halbtägigen Gezeitenzyklus ändert sich parallel zum Mondphasenwechsel (Abb. 1): er erreicht dabei regelmäßig zur Zeit der Springtiden (1—2 Tage nach Voll- und Neumond) Höchstwerte und zur Zeit der Nipptiden (an den Tagen nach Halbmond) Tiefstwerte. Aus der Überlagerung von 12,4stündigem Gezeitenzyklus und 15tägigem Tidenhubzyklus ergibt sich, daß an einem Küstenort eine bestimmte Gezeiteinsituation, wie z. B. ein Springniedrigwasser, alle 15 Tage um gleiche Tageszeiten wiederkehrt.

Anhand der Zeitcharakteristik der Gezeiten kann der Lebensraum „Gezeitenzone“ untergliedert werden. Im Eulitoral wird nur ein mittlerer Bereich zwischen MHWN und MNWN täglich zweimal überflutet und trockengelegt (Abb. 1). Der darüberliegende Bereich des oberen Eulitorals wird nur bei Springhochwasser völlig untertauchen, der untere Bereich des Eulitorals wird entsprechend nur bei Springniedrigwasser trockenliegen. Diese unterschiedlichen Überflutungsbedingungen in der Gezeitenzone sind mit einer verschiedenen Algen- und Tierbesiedlung korreliert. Der Lebensraum der Mücke *Clunio marinus* liegt an gezeitenstarken Küsten im unteren Eulitoral: er ist daher die längste Zeit überflutet und taucht in der Regel alle zwei Wochen um die Springniedrigwasserzeiten auf.

Semilunarperiodische Fortpflanzung und biologische Zeitmeßsysteme

Die Springniedrigwasserzeiten sind die Fortpflanzungstermine der mittel-europäischen *Clunio*-Populationen (Abb. 1, s. Pfeile). Man spricht von semilunarperiodischer Fortpflanzung, da diese parallel zum halben Mondphasenzyklus geschieht. Der erste Teil des Films zeigt das wenige Stunden währende Leben der *Clunio*-Imago mit Schlüpfen, Kopulation und Eiablage (nähere Einzelheiten vgl. NEUMANN und DORDEL [8]). Im zweiten Teil wird anhand von Aufzuchtexperimenten dargelegt, wie *Clunio* im Freiland mit Hilfe von äußeren Zeitgebern und endogenen Zeitmeßsystemen seinen Entwicklungsabschluß auf die Springniedrigwasserzeit programmieren kann. Ein erstes Zeitmeßsystem kontrolliert im Freiland die Verpuppungstage so, daß die schlüpfreifen Puppen nach

einer durchschnittlichen Puppenruhe von 4 Tagen nur an den Springtiden vorliegen: es wird circa-semilunares Zeitmeßsystem genannt. Ein zweites Zeitmeßsystem läßt die Mücken nur zu einer Tageszeit schlüpfen, zu der an ihrem Küstenort auch tatsächlich Niedrigwasser einsetzt (Abb. 1 und 4): es wird circadianes Zeitmeßsystem genannt. Beide Zeitmeßsysteme beruhen auf endogenen Rhythmen (= biologische Uhren). Die folgenden, im Film nicht mehr gezeigten Experimente erläutern, wie die endogenen Eigenschaften der Zeitmeßsysteme geprüft werden können.

Das circa-semilunare Zeitmeßsystem

Wie im Film ausführlich gezeigt wird, kann man in einer Laboratoriumspopulation mit Hilfe eines künstlichen Mondlichtprogramms eine semilunare Verpuppungsperiodik auslösen (Abb. 2b). Wenn man eine unsynchronisierte Versuchspopulation wie in Abb. 2a aufzieht und auf diese den Mondlichtreiz nur einmal einwirken läßt, so stellt sich gleichfalls eine annähernd semilunarperiodische Verpuppungsverteilung ein (Abb. 2c), obwohl die Larven aus der einmaligen Behandlung keinen Hinweis auf die semilunare Periodendauer erhielten. Dieses Ergebnis findet folgende Deutung: der einmalige Reiz synchronisiert in den Larven einen angeborenen endogenen Rhythmus, der jede Larve durchschnittlich alle zwei Wochen in eine Verpuppungsbereitschaft führt. Je nach Entwicklungszustand der Larven erfolgt die Verpuppung in der ersten Bereitschaftsphase oder in einer der späteren, periodisch wiederkehrenden. Dieser endogene Rhythmus wird circa-semilunares Zeitmeßsystem genannt, da seine Periodendauer ungefähr auf den halben Mondphasenzyklus abgestimmt ist. Endogene lunare Rhythmen sind auch bei anderen marinen Organismen nachgewiesen worden, bei dem Polychaeten *Platynereis* (HAUENSCHILD [2]) und bei der Braunalge *Dictyota* (vgl. BÜNNING [1]). Vermutlich werden auch die lunaren Fortpflanzungsrhythmen des aus der Südsee bekannten Palolo (HAUENSCHILD, FISCHER, HOFFMANN [3]) und die eines an der kalifornischen Küste lebenden Fisches (*Grunion-Leuresthes tenuis*: WALKER [9]) in ähnlicher Weise kontrolliert.

Das circadiane Zeitmeßsystem

Wenn man eine *Clunio*-Kultur mit schlüpfähigen Puppen in einem 24stündigen Licht-Dunkel-Zyklus (abgekürzt LD) hält, so fallen die Schlüpfzeiten der Imagines jeweils auf eine eng begrenzte Tageszeit (Abb. 3A). Der hieraus resultierende Schlüpfrythmus der *Clunio*-Population ist eine bei Insektenarten weitverbreitete tagesperiodische Leistung. Würde man eine solche Kultur in einen inversen LD überführen, so würden sich innerhalb weniger Tage die Schlüpfipfel so verschieben, daß die frühere Phasenbeziehung zum LD wiederhergestellt ist.

Der LD ist also offensichtlich der äußere Zeitgeber für die Festlegung der Schlüpfzeit. Gleichzeitig muß ein endogenes Zeitmeßsystem vorhanden sein, das im LD die spezifische Phasenlage des Schlüpfipfels

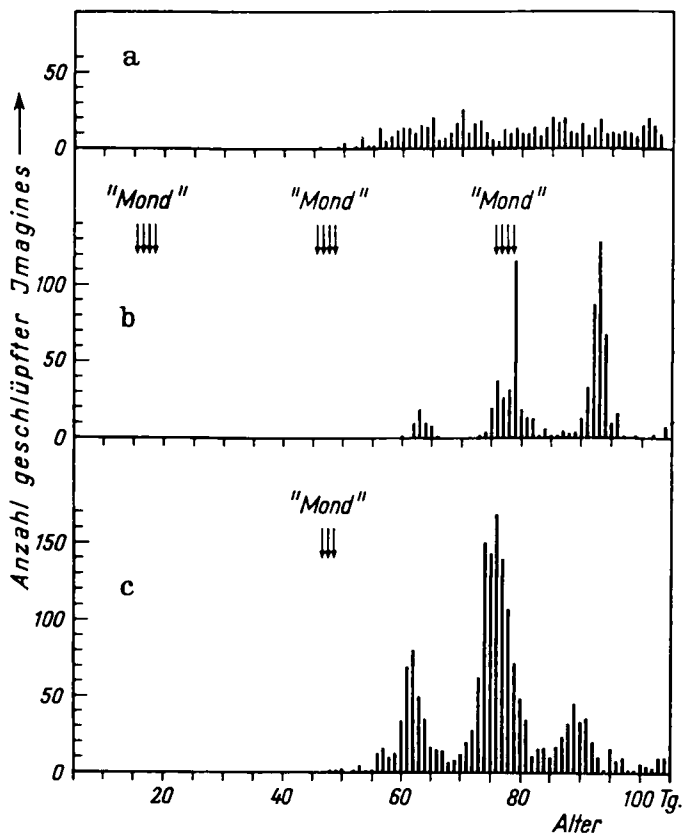


Abb. 2. Die semilunare Verpuppungsrhythmik der *Clunio*-Population. Experimente zum Nachweis der photoperiodischen Steuerung durch einen Wechsel zwischen mond hellen und dunklen Nächten (b) und zum Nachweis des circa-semilunaren Zeitmeßsystems der Larve (c). a: Kontrolle; eine im 24stündigen Licht-Dunkel-Zyklus gehaltene Kultur ohne mond helle Nächte

(Nach NEUMANN [4])

festlegt. Eine wichtige Eigenschaft dieses Systems lernt man kennen, wenn eine Kultur aus dem LD in Dauerlichtbedingungen überführt wird (Abb. 3B): auch ohne den äußeren Zeitgeber tritt über viele Tage alle

24 Stunden ein Schlüpfhöhepunkt auf, wenigstens solange schlüpffähige Puppen in der Kultur vorhanden sind. Auch dieses Zeitmeßsystem arbeitet also rhythmisch; es führt eine Puppe alle 24 Stunden in eine Schlüpfbereitschaft. Da die freilaufende Periodendauer des Rhythmus

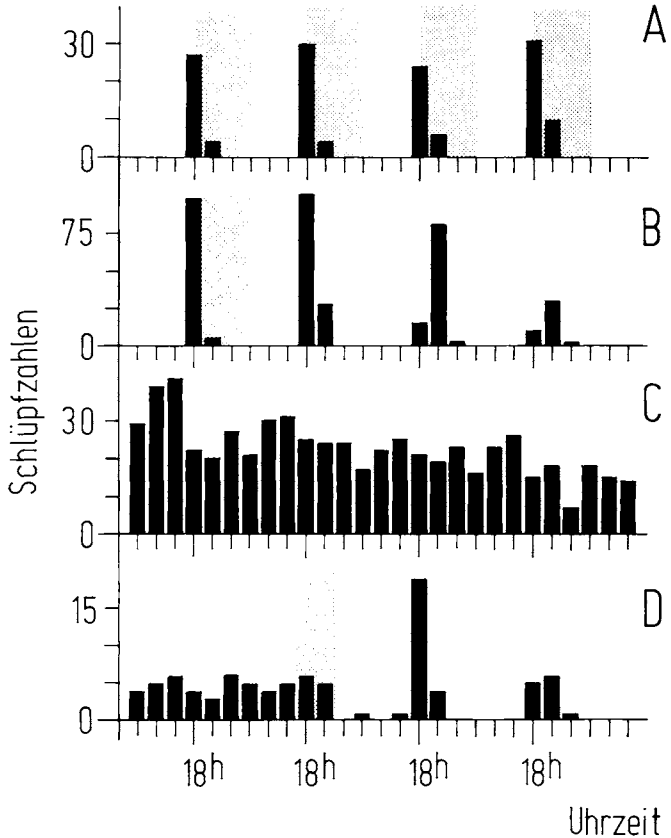


Abb. 3. Die tägliche Schlüpfrythmik der *Clunio*-Population (demonstriert am Stamm St. Jean-de-Luz). Experimente zum Nachweis des circadianen Zeitmeßsystems: Schlüpfverlauf jeweils einer Kultur im 24stündigen Licht-Dunkel-Zyklus (A), mit Übergang vom LD in Dauerlicht (B), im Dauerlicht (C, nach einer 14 Tage langen Dauerlichtvorbehandlung), nach mehrwöchiger Dauerlichtvorbehandlung und einer einmal dargebotenen Dunkelphase von 8 Stunden (D)

in den zeitgeberfreien Bedingungen nur ungefähr 24 Stunden beträgt, hat sich der Begriff circadianes Zeitmeßsystem eingebürgert (lat.: circadianem). Wenn man eine *Clunio*-Kultur von Anbeginn in Dauerlicht aufzieht (Abb. 3C), so erhält man eine aperiodische Schlüpfverteilung in der Population, da die circadianen Zeitmeßsysteme der Einzeltiere entweder nicht miteinander synchronisiert sind oder unter den ständig zeitgeberfreien Bedingungen überhaupt nicht funktionieren. Ein einmaliger Dunkelreiz (Abb. 3D) reicht allerdings aus, um in der Kultur einen circadianen Schlüpfrythmus auszulösen. Wie dieser Versuch belegt, ist die Periodendauer des circadianen Zeitmeßsystems offensichtlich angeboren. Tagesperiodische Leistungen, die von einem endogenen Rhythmus kontrolliert werden, sind in großer Zahl im Organismenbereich untersucht worden (vgl. BÜNNING [1], NEUMANN [7]).

Spezielle *Clunio*-Probleme

Das im Film dargestellte *Clunio*-Beispiel bezieht sich auf eine Population der französischen Nordküste (Bretagne). Vergleicht man verschiedene *Clunio*-Populationen zwischen Biskaya und Nordsee miteinander, so ergeben sich interessante intraspezifische Unterschiede in den Schlüpfzeiten und den Kontrollmechanismen. Hierauf sei kurz hingewiesen, um falschen Verallgemeinerungen vorzubeugen.

Das circa-semilunare Zeitmeßsystem. Mondlicht dürfte bei mittel- und südeuropäischen Populationen während der Sommermonate zweifellos auch im Freiland ein hinreichend zuverlässiger Zeitgeber sein. Am Nordrand der gemäßigten Zone ist das Mondlicht in den Sommernächten dagegen kein zuverlässiger Außenfaktor (die Nächte sind kürzer und heller, außerdem ist die Höhe des Vollmondes über dem Horizont recht gering). Nordeuropäische Populationen, wie z. B. die Helgoland-Population, können tatsächlich andere Zeitgeber nutzen, und zwar eine bestimmte, alle 15 Tage auftretende Phasenbeziehung von Tag-Nacht-Zyklus und Gezeitenzyklus (NEUMANN [6]).

Die tägliche Schlüpfzeit. Da an den verschiedenen Küstenorten die Tageszeit des Springniedrigwassers auf verschiedene Ortszeiten fällt (z. B. Normandie 15 Uhr, Baskenküste 20 Uhr), schlüpfen auch die örtlichen Populationen entsprechend zu verschiedenen Tageszeiten. Da für alle Populationen der LD Zeitgeber ist, muß die jeweils zum örtlichen Springniedrigwasser passende Phasenlage der täglichen Schlüpfzeit (vgl. Abb. 4) bei der Anpassung der Population an die örtlichen Umweltbedingungen herausselektioniert worden sein. Kreuzungsversuche haben zeigen können, daß die Phasenlage der Schlüpfzeit ein genkontrolliertes Merkmal des circadianen Zeitmeßsystems ist (NEUMANN [5]).

Bei einem Vergleich der Küstenpopulationen von *Clunio marinus* läßt sich damit eine erstaunliche intraspezifische, genkontrollierte Variabilität in

zahlreichen physiologischen Leistungen fassen. Dieses ist von weiterführendem Interesse, da hierdurch die Parameter biologischer Zeitmeßsysteme und die physiologischen Leistungsanpassungen bei einer geographischen Rassenbildung faßbar werden.

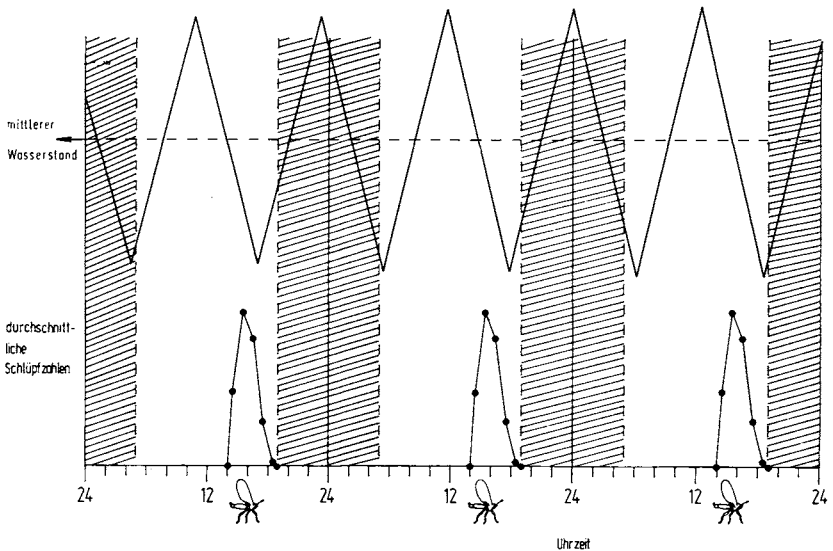


Abb. 4. Die zeitliche Korrelation zwischen 24stündigem Licht-Dunkel-Zyklus (helle und schraffierte Bereiche), der Gezeitenkurve (obere Kurve) und den Schlüpfzeiten von *Clunio* an einem Standort der französischen Atlantikküste. Schematisch

Erläuterungen zum Film¹

Schlüpfen und Fortpflanzung bei Niedrigwasser

Der Grenzraum zwischen Meer und Land wird von den Gezeiten Ebbe und Flut geprägt. Er fällt zweimal täglich trocken und wird zweimal überflutet. Alle hier lebenden Organismen müssen an diesen krassen Wechsel der Lebensbedingungen angepaßt sein.

Die meisten Tierarten sind während der Überflutung aktiv und ruhen während der Trockenzeit. Wenige Arten werden gerade zur Niedrigwasserzeit aktiv.

Die nur 2 mm große Mücke *Clunio* gehört zu den letzteren. Sie schlüpft kurz vor Niedrigwasser und schwärmt auf verbliebenen Wasserflächen und

¹ Wortlaut des im Film gesprochenen Kommentars. Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

trockengefallenen Klippen. Die Flut beendet ihren kurzen Lebenslauf, der im folgenden gezeigt wird.

Die schlüpfreife Puppe befreit sich aus der larvalen Wohnröhre, die an den Klippen zwischen Sand und Algenfäden liegt. Noch ist dieses Substrat nicht trocken gefallen.

Die Puppen besitzen einen Auftrieb und gelangen zur Wasseroberfläche, wo die Mücken schlüpfen.

Hier eine Männchenpuppe. Die Häutungsnaht auf der dorsalen Thoraxseite platzt auf. Kontraktionswellen, von hinten nach vorn verlaufend, schieben die Imago heraus.

Die Antennen werden aufgestellt, Flügel und Beine strecken sich noch während des Schlüpfens bis zu ihrer vollen Größe. Im Freiland schlüpfen die Mücken in der Regel auf der Wasseroberfläche. Bei diesen Laboraufnahmen mußte ein fester Untergrund mit einem Wasserfilm die freie Wasseroberfläche ersetzen. Sobald die Mücke ganz frei ist, kann ihr Schwärmflug auf dem Wasser beginnen.

Das Schlüpfen des Weibchens verläuft völlig anders, da es sich nicht selbständig von der Puppenhaut befreien kann. Das Männchen sucht die Weibchenpuppe auf dem Wasser, ergreift sie, streift ihr die Puppenhülle ab und beginnt mit der Kopulation.

Die Weibchen sind ungefügelt und haben nur kurze Beine.

Nun wird das Weibchen vom Männchen in die eigentliche Kopulationsstellung hineingeschwenkt, so daß die Partner schließlich mit ihren Körperenden gegeneinander stehen.

Einzelheiten dieses Geschehens sind nur in Zeitdehnung zu erkennen. Wenn ein Männchen eine Weibchenpuppe ergriffen hat, betastet es sie mit den beiden vorderen Beinpaaren, um zunächst das Vorderende zu finden und dann die dort aufplatzende Häutungsnaht.

Das Abdomen des Männchens endet in einem mächtigen Kopulationsapparat, dem Hypopyg. Bei der Kopulationseinleitung werden die beiden spatelförmigen Anhänge, die Telomeren, durch die Häutungsnaht des Weibchens unter ihre Puppenhaut geführt.

Hier sieht man ein Männchen, wie es sein Hypopyg an das Vorderende des Weibchens führt. Die Telomeren treffen die Naht und rücken dann alternierend längs des Weibchen-Abdomens vor.

Die Puppenhaut wird hierbei zusammengeschoben. Am Ende umschließt das Hypopyg mit den Telomeren das Weibchen am Genitalsegment. Die Puppenhaut fällt dann zur Seite.

Das gleiche aus einem anderen Blickwinkel. Das Weibchen wird von der Puppenhülle befreit, dann dreht sich das Männchen seitlich ab, und die Kopulationspartner nehmen die Endposition ein.

Nach kurzem Schwärmflug erreichen die Pärchen die aufgetauchten Klippen. Dort werden die Weibchen auf feuchtem Sand zwischen Algenpolstern abgesetzt.

Es folgt die Eiablage. Die Eier liegen in einem Gallertschlauch, der am Substrat festklebt und von der folgenden Flut nicht weggeschwemmt werden kann.

Wie an dem Tier in Bildmitte zu sehen ist, schrumpft der Hinterleib der Weibchen während der Eiablage völlig zusammen. Ein Gelege enthält etwa 100 Eier.

Die zurückkehrende Flut bedeckt den Lebensraum von *Clunio* aufs neue. Die ermatteten Mücken werden von den Wellen verspült, keine hat eine Überlebenschance. Mit der erfolgreichen Fortpflanzung während der kurzen Trockenzeit ist jedoch der Fortbestand der Population gesichert.

Die zeitliche Kontrolle von Verpuppung und Schlüpfen

Der Fortpflanzungsablauf von *Clunio* ist nur dann erfolgreich, wenn die Eiablageplätze tatsächlich trockenliegen. Die Entwicklung mit Verpuppung und Schlüpfen muß daher genau auf die Gezeiten abgestimmt sein. Dieses wird durch ein Schema erläutert:

In ein Koordinatensystem werden der Wasserstand und seine Änderungen in der Zeit eingetragen. Die steigende Gezeit, die Flut, und die fallende Gezeit, die Ebbe, durchlaufen pro Tag nahezu zwei Zyklen. Die aufeinanderfolgenden Gezeitenzyklen unterscheiden sich in ihrer Amplitude.

Der *Clunio*-Lebensraum liegt an gezeitenstarken Meeresküsten so weit unterhalb der Linie des mittleren Wasserstandes, daß die bevorzugten Eiablageplätze regelmäßig nur an wenigen Tagen freiliegen. An diesen Tagen haben die Gezeiten einen besonders großen Tidenhub und Tidenfall. Es sind die Springtiden, die jeweils nach Vollmond und nach Neumond, also etwa alle 15 Tage, auftreten.

Die Marken bezeichnen die tatsächlichen Schlüpf- und Fortpflanzungstermine einer Population. Sie treffen das extreme Niedrigwasser alle 15 Tage. Wegen der Parallelität zum Mondphasenzyklus wird diese Fortpflanzungsperiodik semilunarperiodisch genannt. Der Entwicklungsgang eines Tieres sei nun genauer geschildert:

Eine ausgewachsene Larve muß mit ihrem Verpuppungsbeginn so liegen, daß die Imago nach der Puppenruhe — sie währt durchschnittlich vier Tage — tatsächlich im richtigen Moment schlüpfreif ist. Eine Larve, die diesen Verpuppungstermin verpaßt, kann frühestens den 15 Tage später folgenden Termin wahrnehmen. Wie wird die Entwicklung von *Clunio* derartig genau vorprogrammiert? Zwei Entwicklungsmomente werden kontrolliert: zuerst die Verpuppung der Larve und dann das Schlüpfen der Imago.

Die zeitliche Kontrolle der Verpuppung kann nur im Labor unter streng kontrollierten Kulturbedingungen geprüft werden.

Die Larven lassen sich in 6 bis 10 Wochen großziehen. Wenn sie ausgewachsen sind, verpuppen sie sich in ihren Röhren. Die Mücken schlüpfen durchschnittlich 4 Tage später.

Die kurzlebigen und hier bereits toten Imagines werden täglich abgesammelt und gezählt. Man gewinnt so ein zuverlässiges Maß für die Anzahl der jeweils 4 Tage vorher eingetretenen Verpuppungen. Die Versuchsergebnisse werden im folgenden graphisch dargestellt:

Wenn die *Clunio*-Kulturen über Monate in einem künstlichen Tag-Nacht-Zyklus gehalten und die pro Tag geschlüpften Mücken registriert werden, so ergibt sich erwartungsgemäß keine semilunarperiodische Schlüpfverteilung wie im Freiland, sondern eine zufällige Folge von Schlüpfzahlen und indirekt damit von Verpuppungen.

In einem Parallelversuch wird zusätzlich zu dem Tag-Nacht-Zyklus eine weitere Bedingung eingeführt, und zwar entsprechend dem Mondlicht im

Freiland eine schwache Beleuchtung von 0,4 Lux, die alle 30 Tage in wenigen aufeinanderfolgenden Nächten eingeschaltet wird. Dann stellt sich auch im Labor eine semilunarperiodische Schlüpfverteilung ein.

Die dazugehörigen Verpuppungstermine würden jeweils etwa 4 Tage früher liegen, also meist an Tagen ohne nächtliche Beleuchtung. Auch das Mondlicht kann also kein unmittelbarer Auslöser für die Verpuppung sein; es ist nur der äußere Zeitgeber für ein endogenes, semilunarperiodisches Zeitmeßsystem der Larve.

Hier nochmals die Darstellung der Fortpflanzungstermine im Freiland. Es gilt nun die zeitliche Kontrolle für den zweiten Entwicklungsschritt, das Schlüpfen der Imago, zu erfassen.

Die Imago hat beim Schlüpfen nicht nur den richtigen Tag mit Springtiden, sondern zusätzlich die richtige Tageszeit mit Niedrigwasser zu treffen. Wenn man die Nachtzeiten berücksichtigt, so wird deutlich, daß das von *Clunio* ausgewählte Springniedrigwasser bei der hier betrachteten Küstenpopulation in den späten Nachmittagsstunden liegt und die Mücken jeweils um die gleiche Tageszeit schlüpfen.

Für die Schlüpfzeit der Imago muß ein weiteres endogenes Meßsystem vorhanden sein. Welcher Außenfaktor kontrolliert es? — Diese Frage führt wiederum ins Labor.

Mit dieser Apparatur läßt sich die Schlüpfzeit der Imagines kontinuierlich messen.

Eine längliche Zuchtwanne, links mit einem ständigen Zulauf, rechts mit einem Ablauf. Die auf der Wasseroberfläche schlüpfenden Mücken werden rasch nach rechts abgetrieben und in einem kleinen Siebbecher unter dem Ablauf aufgefangen. Die Drehscheibe besitzt 24 Siebbecher, für jede Tagesstunde einen.

Ein Uhrwerk sorgt dafür, daß jede Stunde ein neuer Siebbecher vorrückt und die in einer Stunde schlüpfenden Mücken auffängt.

Dieses ist das Schlüpfresultat eines Tages, wenn die Kultur wenigstens über mehrere Tage in einem künstlichen Tag-Nacht-Zyklus gestanden hat: nur in den Stunden 15 bis 18 Uhr wurden Mücken aufgefangen, alle übrigen Becher blieben leer. Die graphische Darstellung zeigt die durchschnittliche Schlüpfverteilung. Der Zeitgeber für das tagesperiodische Schlüpfen ist, wie auch Umstimmungsversuche gezeigt haben, der 24stündige Tag-Nacht-Zyklus.

Überträgt man diese Schlüpfkurve in das Freilandschema, so wird augenfällig: die Mücken schlüpfen nach dem Tag-Nacht-Zyklus kurz vor der Tageszeit, in der im Freiland die *Clunio*-Substrate zur Eiablage trockenfallen. Auch bei diesem zweiten Zeitmeßproblem nutzen die Tiere nicht die Gezeiten, sondern den viel zuverlässigeren Lichtzyklus für die Kontrolle ihres Entwicklungsprogramms.

Die Gezeiten haben auf die hier betrachtete *Clunio*-Population offensichtlich nur einen indirekten Einfluß gehabt, indem sie während der Evolution diesen Zeitmeßmechanismus erzwingen. Zusammenfassend läßt sich feststellen:

Clunio besitzt zwei physiologische Zeitmeßsysteme, eines für den Verpuppungstermin in der Larve — der Zeitgeber ist das Mondlicht —, ein zweites für den Schlüpfzeitpunkt der Imago — hier ist der Zeitgeber der Tag-Nacht-Zyklus.

Die Kombination beider Meßsysteme ermöglicht die zuverlässige Vorprogrammierung der Entwicklung auf ein Springniedrigwasser, das alle 15 Tage um die gleiche Tageszeit eintritt.

English Version of the Spoken Commentary¹

(Semilunar reproduction of *Clunio marinus*. Biological timing in the intertidale zone.)

Schlüpfen und Fortpflanzung bei Niedrigwasser

(Ecdlosion and reproduction at Low tide)

The interface between the land and the sea is strongly influenced by the tides. Twice every day this region is left dry, only to be covered again by the sea. All the organisms which live here must be adapted to this extreme change in environmental conditions.

Most intertidal animals are active during high tide, and remain inactive when their habitat is left dry. Only a few species are active exclusively at low tide.

The tiny marine midge, *Clunio*, belongs to this latter group. The adults of this 2 mm long insect emerge from their pupal cases shortly before low tide, and swarm upon the surface of the residual water and onto the drying rocks. The next high tide ends the insect's short adult life, which will be shown in the following scenes.

While the substrate is still under water, the mature pupa, still in its pupal skin, works its way free from the larval dwelling tube, which is attached to the rock face, among sand and algal threads.

The pupae are positively buoyant, and rise to the water surface, where the adult midges emerge from their puparia, a process called eclosion.

Here is a male pupa. The ecdysal line, on the dorsal side of the thorax, where the cuticle is thin, breaks open. Waves of contraction, passing from rear to front, push the adult insect out of the pupal skin.

The antennae are erected; wings and legs are stretched out to their full length during the eclosion. In the field, the midges eclose on the water surface, as a rule. In these laboratory films, however, the free surface of the water has been replaced by a solid surface covered with a thin film of water. As soon as the midge is completely free, its mating flight upon the water can begin.

The eclosion of the female is markedly different, since she cannot free herself from her pupal skin. The male searches for the female pupa on the water surface, seizes her, strips off her pupal skin and initiates copulation.

The females have no wings, and very short legs.

Now the male swings the female around into the proper copulation position, so that the partners will ultimately mate with their posterior ends together.

Individual details of this process can only be distinguished by means of slow-motion photography. When a male has seized a female pupa, he explores

¹ The headlines in *italics* correspond with the subtitles in the film.

it carefully with both front pairs of legs. in order to find the front end and then to find the ecdysal line through which the female must emerge.

The abdomen of the male terminates in a massive copulation tool. called the hypopygium. At the start of copulation. the two spatula-shaped appendages. called telomeres, are pressed through the ecdysal line of the female and under her pupal skin.

Here is a male. in the process of guiding his hypopygium toward the front end of the female. The telomeres encounter the ecdysal line. and then push forward alternately along the female's abdomen.

The pupal skin is pushed together in the process. Finally, the hypopygium wraps around the genital segment of the female with its telomeres, and her pupal skin falls off.

The same process is shown here from another viewpoint. The female is freed from her pupal skin. and then the male turns around to the side. and the copulating pair assumes the end-to-end position.

After a short swarming flight. the insect pair reaches the emergent rocks.

There the female is deposited on moist sand between clumps of algae.

The deposition of eggs follows immediately. The eggs are contained in a tube of jelly which sticks tightly to the substrate and cannot be washed away by the next high tide.

As can be seen of the animal in the middle of the picture, the abdomen of the female collapses completely during egg laying. A single egg mass contains about 100 eggs.

The returning tide covers the habitat of *Clunio* again. The exhausted adult midges are washed away by the waves, and none can survive. Nevertheless, the continuity of the population has been assured by the successful reproduction during the short interval of low tide.

Die zeitliche Kontrolle von Verpuppung und Schlüpfen

(The temporal control of pupation and eclosion.)

The reproductive processes of *Clunio* can only be successful if the places where the eggs are laid are actually dry. The developmental cycle with pupation and eclosion must, therefore, be accurately synchronized with the tides. This is explained schematically in the following sequences:

Sea level and its changes with time are indicated in this graph. The tide rises and falls in a cycle with a period of about 12.4 hours; thus there are nearly two complete cycles each day. Successive tidal cycles change gradually in their amplitude. The habitat of *Clunio* is located so far below the mid-tide level, that the preferred area for egg deposition is exposed only for a few days out of the month. On these days, the tides have very large amplitudes, with extreme highs and extreme lows: days of so-called "spring tides", which recur just after full moon and just after new moon, that is, at intervals of about 15 days. The markers in the graph indicate actual hatching and reproductive times of a population, which coincide with low tide every 15 days. Because the tide cycle parallels that of the moon phases. this re-

productive cycle is called a semi-lunar periodicity. The developmental stages of the individual insect will now be shown in more detail:

A fully developed larva must time the onset of its pupation so that the adult insect is fully ready to eclose at the right moment, after the pupal stage, which averages about 4 days in duration. If a larva should miss this deadline for pupation, it must put off development until the next deadline, 15 days later. How is the development of *Clunio* programmed in advance so very accurately? Two phases of development are controlled: the pupation of the larva, and, thereafter, the eclosion of the adult.

The temporal control of pupation can only be studied experimentally in the laboratory under carefully regulated culture conditions.

The larvae can be raised to maturity in 6 to 10 weeks. When they are fully grown, they construct their tubes and then they pupate. The adult midges eclose, on the average, four days later.

The short-lived adult insects (which are here already dead) are collected and counted every day. From these counts, one obtains a reliable estimate of the number of pupations which began 4 days earlier. The experimental results are presented in the following graphs:

When *Clunio* cultures are kept for several months in an artificial day-night cycle, and the numbers of eclosions per day are tabulated, the result is not a semi-lunar periodicity of eclosion, as one finds in nature, but instead a random sequence of numbers of insects eclosing, and thus, indirectly, a random distribution of pupation. In a similar experiment, one additional factor has been added to the treatment: a weak light, with an intensity of 4/100 foot candles, comparable to moonlight on the shoreline, was added to the light regime at night once a month for a sequence of a few days. Thereafter, a semilunar periodicity of eclosion occurs also in the laboratory. The pupations which preceded these eclosions would have occurred about four days earlier, and thus mostly on nights without nocturnal illumination. The artificial moonlight is therefore not the cause of eclosion, but only serves the larva as the external synchronizing stimulus for the endogenous timing system with a semi-lunar period.

Once again, a schematic presentation of the developmental schedule in the field. This presentation shows the temporal control of the second step in development, the eclosion of the adult insects.

The adult insect must eclose not only on the correct day of the month, when spring tides occur, but must also choose the right time of day, corresponding with ebb tide. When we look at the nights on the graph, it becomes clear that the extreme low spring tides chosen by *Clunio* occur during the hours of late afternoon for populations from this particular region of the coast, and the midges eclose, therefore, at about the same time of day. A second endogenous timing system must be available to the insect for the regulation of timing of eclosion. Which environmental factor controls that system? This question leads us again to the laboratory.

This equipment permits us to monitor the time of day at which the insects eclose.

This is an elongate culture tray, with a continuous water input on the left and an outflow on the right. The floating midges which have eclosed on the water surface are carried rapidly off to the right, and are collected in a small

seive holder beneath the drain. The collection disc has 24 seive holders, one for each hour of the day.

A clock mechanism assures that a new seive holder advances every hour, to collect the insects which will hatch in the next hour.

Here are the eclosion data from one day, after the culture had been kept for at least several days previously in an artificial light-dark cycle: midges were collected only between 1500 and 1800 hours. All other screen holders were empty.

The graph shows the average distribution of times of eclosion. The synchronizing agent for the daily rhythm of eclosion is the 24-hour day-night light cycle, as has been demonstrated in other experiments with shifted times of daily lighting.

When we transpose this eclosion curve onto the natural sequence of tides and daylight, we can see clearly that the midges eclose just before the time of day at which the substrate, which is appropriate for egg deposition, is exposed by the low tide. The animals again do not use the tides for this second timing problem, but instead rely upon the much more dependable light cycle for the control of their developmental program.

The tides have had only an indirect influence upon the *Clunio* population which we have examined here, in that the tides have given rise, through evolution, to these timing mechanisms. In summary, the following points have been demonstrated:

Clunio has two physiological time measuring systems, one for setting the time of pupation of the larva; this system has moonlight for its synchronizing agent.

The second system determines the time of eclosion of the adult insect, and here, the day-night cycle is the synchronizing agent.

The combination of both systems permits the reliable advance programming of the development, leading to synchrony with the extreme low water of the spring tides, which recurs every 15 days at the same time of day.

Literatur und Filmveröffentlichungen

- [1] BÜNNING, E.: Die physiologische Uhr. 2. Aufl. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963. (Erweiterte englische Aufl. 1967.)
- [2] HAUENSCHILD, C.: Neue experimentelle Untersuchungen zum Problem der Lunarperiodizität. *Naturwissenschaften* **43** (1956), 361—363.
- [3] HAUENSCHILD, C., A. FISCHER und D. K. HOFFMANN: Untersuchungen am pazifischen Palolowurm *Eunice viridis* (Polychaeta) in Samoa. *Helgol. wiss. Meeresunters.* **18** (1968), 254—295.
- [4] NEUMANN, D.: Photoperiodische Steuerung der 15tägigen lunaren Metamorphose-Periodik von *Clunio*-Populationen (Diptera: Chironomidae). *Z. Naturforschg.* **20b** (1965), 818—819.
- [5] NEUMANN, D.: Die lunare und tägliche Schlüpfperiodik der Mücke *Clunio*. Steuerung und Abstimmung auf die Gezeitenperiodik. *Z. vgl. Physiol.* **53** (1966), 1—61.
- [6] NEUMANN, D.: Die Steuerung einer semilunaren Schlüpfperiodik mit Hilfe eines künstlichen Gezeitenzyklus. *Z. vgl. Physiol.* **60** (1968), 63—78.

- [7] NEUMANN, D.: Biologische Rhythmen und Biologische Zeitmessung. In: Czihak-Lange-Ziegler: Biologie. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1973.
-
- [8] NEUMANN, D., und H. J. DORDEL: *Clunio marinus* (Chironomidae) — Schlüpfen und Kopulation. Film E 1798 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1971.
- [9] WALKER, B. W.: Fish, Moon and Tides — The Grunion Story. Film W 791 im Sonderarchiv des Inst. Wiss. Film, Göttingen.
-

Angaben zum Film

Der Film wurde 1972 veröffentlicht und ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt. Tonfilm, 16 mm. schwarzweiß, 155 m, 14 1/2 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden in den Jahren 1970 und 1971, die Laboraufnahmen am Zoologischen Institut der Universität Köln und am Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, die Freilandaufnahmen an der Insel Helgoland. Hierbei wirkten mit Herr Dr. H. J. DORDEL, Herr Dr. G. RÜPPELL und Frau G. WELBERS-HAPPERSCHOSS. Veröffentlichung aus dem Zoologischen Institut der Universität Köln (Lehrstuhl für Physiologische Ökologie), Prof. Dr. D. NEUMANN, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H. KUCZKA; Aufnahmen: R. DRÖSCHER und H. WITTMANN; Schnitt: R. DRÖSCHER; Zeichenfilmherstellung: J. G. WOLF, Bielefeld.

Inhalt des Films

Die Fortpflanzung der in der Gezeitenzone lebenden Mücke *Clunio marinus* ist an gezeitenstarken europäischen Küsten auf die alle 15 Tage (semilunarperiodisch) auftretende Springniedrigwasserzeit abgestimmt. Der Film zeigt (1.) das Verhalten der Mücken beim Schlüpfen und bei der unmittelbar anschließenden Fortpflanzung, (2.) Experimente zu dem Problem der zeitlichen Kontrolle von Entwicklung und Fortpflanzung.

Summary of the Film

On European coasts with a high tidal range the reproduction of the intertidal midge *Clunio marinus* is correlated with the low water of spring tides occurring every 15 days (semilunar). The film demonstrates (1.) the behavior of the imago during emergence and reproduction, (2.) experiments on the problem of temporal programming of development and reproduction.

Résumé du Film

Sur les côtes européennes à forte marée, la reproduction du moustique *Clunio marinus* est en corrélation avec la basse mer de vives eaux se produisant tous les 15 jours (rythme semilunair). Le film montre: (1.) le comportement des imagos au moment de leur éclosion et de la reproduction qui la suit immédiatement; (2.) des expériences sur le système de contrôle du calendrier de développement et de reproduction.