Wie messen Organismen lunare Zyklen?

Von ERWIN BÜNNING und DIETER MÜLLER

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen
(Z. Naturforschg. 16 b, 391—395 [1961]; eingegangen am 6. April 1961)

Eggs of *Dictyota dichotoma* were liberated in a rhythm with periods of about 16 days under laboratory conditions (light-dark cycles of 14 : 10 hr). An "artificial moon", i. e. replacement of the 10 hr dark period by light, controls the phases of the rhythm, even if this "moonlight" is of low intensity (3 lux) and lasts for one night only. The next maximum appears 9 days after this "moon".

Lowering the temperature from 20° to 14° or 16° has no strong effect on the normal length of these cycles.

Exposure to "wrong" days (light + dark period 23,5 hr instead of 24 hr) causes a shortening of the periods to 13—14 days.

The results can be explained by assuming the cooperation of two rhythms, giving beats with distances of a little more than 2 weeks. One of these two rhythms should correspond approximately to the periods of the tidal cycles (about 12,4 hr), the other one to the diurnal periodicity. Entrainment of the diurnal component to 23,5 instead of 24 hr explains the decreased distance of the beats.

For *Carcinus maenas* it can be shown that in the periodicity of the running activity 2 rhythms with the postulated properties are participating.

Es ist bekannt, daß viele pflanzliche und tierische Meeresorganismen ihren Entwicklungsgang den lunaren Zyklen bzw. dem von diesen abhängigen Eintreten von Spring- und Nipptiden anpassen können. In vielen Fällen sind bestimmte Fortpflanzungsvorgänge auf wenige Stdn. eines lunaren Zyklus, z. B. auf die Zeiten der Springtiden oder die der Nipptiden beschränkt. Ebenfalls ist bekannt, daß sich diese lunaren Zyklen unter Laboratoriumsbedingungen, d. h. ohne den unmittelbaren Einfluß der Gezeiten und des Mondlichtes mehrere Monate hindurch fortsetzen können. Die Phasenlage dieser „endogen-lunaren Rhythmen“ kann, wie namentlich aus Untersuchungen HAUENSCHILDS^{1,3} hervorgeht, durch das Mondlicht determiniert werden. Aber die Zyklen können sich eben auch ohne Mondlicht, mit der einmal eingesteuerten Phasenlage, über mehrere Monate fortsetzen.

Für diese autonome, d. h. nicht erneut in jedem Folgezyklus vom Mond gesteuerte Fortsetzung könnte man 3 verschiedene Erklärungsmöglichkeiten erwägen:

1. Es handelt sich um eine selbständige Eigenschwingung mit *ungefähr* 14—15 bzw. (in anderen Fällen) 29 Tagen Periodenlänge, vergleichbar der *ungefähr* tagesperiodischen Eigenschwingung, die ja bei Pflanzen und Tieren weit verbreitet ist^{2,3}. Der Mond würde die Phasenlage determinieren und für

die Einsteuerung auf die genaue Periodenlänge des lunaren bzw. semilunaren Zyklus sorgen.

2. Die Organismen zählen gleichsam die Tage, d. h. die Anzahl von Licht-Dunkel-Zyklen.

3. Es handelt sich um ein Zusammenwirken der diurnalen physiologischen Periodik mit einer endogenen Gezeitenperiodik, indem die Differenz der Periodenlänge (einerseits 24 Stdn., andererseits 12,4 oder $2 \cdot 12,4 = 24,8$ Stdn.) dazu führt, daß in etwa 14—15- oder 29-tägigen Abständen eine „Schwebung“ eintritt, oder doch, vorsichtiger formuliert, zwei bestimmte Phasen der beiden Rhythmen zeitlich zusammenfallen. Und diese Schwebung bzw. dieses Koinzidieren zweier bestimmter Phasen ist Voraussetzung für den zu steuernden physiologischen Vorgang.

Für die unter 3 genannte Möglichkeit sprechen einige Befunde. Daß Pflanzen und Tiere der Meere neben einer endogenen Tagesrhythmik auch eine endogene Gezeitenrhythmik haben, ist in zahlreichen Untersuchungen festgestellt worden²⁻⁵. Grundsätzlich bestehen gegen eine solche Deutung also keine Bedenken.

Die endogene Gezeitenrhythmik (d. h. die Rhythmik mit einer Periodenlänge von *ungefähr* 12,4 Stdn.) zeigt viele Ähnlichkeiten mit der endogenen Tagesrhythmik, z. B. auch hinsichtlich einer weitgehenden Temperatur-Unabhängigkeit. Daher lag

¹ C. HAUENSCHILD, Z. Naturforschg. 10 b, 658 [1955] sowie in l. c.³.

² E. BÜNNING, Die physiologische Uhr, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1958.

³ In: Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Vol. 25: Biological Clocks, New York 1960.

⁴ M. FINGERMAN, in l. c.³.

⁵ E. NAYLOR, J. exp. Biol. 35, 602 [1958]; 37, 481 [1960].

die Vermutung nahe, daß es sich bei ihr nur um einen Spezialfall der endogenen Tagesrhythmik handelt (mit dem Unterschied jedoch, daß sie nicht vom Licht-Dunkel-Wechsel, sondern vom Gezeitenwechsel „mitgenommen“ wird und dadurch genau die Periodenlänge der Außenrhythmik erhält). So entstand unsere Vermutung, daß die lunare (ca. 14–15-tägige) physiologische Rhythmik durch ein Zusammenwirken einer vom Licht-Dunkel-Wechsel nicht gesteuerten (nicht „mitgenommenen“) ca. 12,4 (bzw. $2 \cdot 12,4 = 24,8$)-Std.-Periodik mit einer vom Licht-Dunkel-Wechsel in üblicher Weise mitgenommen und so genau 24-stdg. werdenden Periodik resultiert. Ein Teil unserer Versuche zu dieser Frage bezieht sich auf die Braunalge *Dictyota dichotoma*. Vor allem darüber soll hier in gedrängter Form berichtet werden.

Schon aus älteren Untersuchungen⁶ ist bekannt, daß bei *Dictyota* die Oogonien und Antheridien in Abständen von etwa 14–15 Tagen (an einigen Küsten in Abständen von 29 Tagen) entleert werden. Die Zeit der Entleerung fällt mit den Springtiden zusammen oder steht doch zu diesen in fester zeitlicher Beziehung. Auch die Fortsetzung der Periodik im Laboratorium ist für dieses Objekt schon beschrieben worden.

Daß dieser und zahlreiche andere ähnliche Fälle bisher nicht weiter untersucht worden sind, erklärt sich nur aus dem Fehlen geeigneter Laboratoriumsbedingungen in früheren Jahren. Interessant und biologisch wichtig ist das Phänomen gewiß. Wenn wir berücksichtigen, daß die Gametenentleerung bei *Dictyota* nicht nur auf wenige Tage innerhalb des lunaren Zyklus, sondern dabei noch auf eng begrenzte Tageszeiten und zudem auf wenige Monate des Jahres beschränkt ist⁶, ergibt sich, daß die Freisetzung auf wenige Std. innerhalb des Jahres zusammengedrängt wird. Der Selektionswert liegt auf der Hand: Die Wahrscheinlichkeit einer Befruchtung wird hierdurch sehr stark vergrößert. Diese Zusammendrängung ist um so beachtenswerter, als sie bei der Entleerung der Tetrasporen aus den Sporangien, wo sie keinen Selektionswert hat, völlig fehlt⁶.

1. Material und Methodik

Das Material, *Dictyota dichotoma*, wurde im November 1959 bei Helgoland von Prof. KORNMANN, dem wir für die Hilfe danken, eingesammelt. Dabei handelte es sich um Exemplare der Tetrastrophiten-Generation. Aus diesen Pflanzen wurden von Prof. KORNMANN die Gametophyten gezogen, mit denen wir arbeiteten. Die Kultur erfolgte in Erdschreiberlösung, bei der statt der normalen Menge von 50 ml nur 20 ml Erddekokt genom-

men wurden. Kultiviert wurden die Algen bei 20° und künstlichem Licht von Leuchtstoffröhren (normalerweise 14 Std. Licht, 10 Std. Dunkelheit, 1200 Lux). Als Kulturgefäße dienten 50-ml-Glasdosen. Das Wasser wurde täglich erneuert.

2. Das Verhalten ohne „Mondlicht“

Bei den angegebenen Kulturbedingungen, d. h. im 14 : 10-Std.-Licht-Dunkel-Wechsel, trat, sofern vorher (am Fenster des Laboratoriums) der natürliche oder (bei Kultur im Kunstlicht) der experimentelle Mond (Nachlicht) eingewirkt hatte, immer eine Periodik der Oogon-Entleerung auf wie sie in Abb. 1 dargestellt ist. Die Gipfel waren 16–17, im Durch-

Abb. 1. *Dictyota dichotoma*. Entleerung der Oogonien unter den im Text angegebenen Laboratoriumsbedingungen ohne Einwirkung von „Mondlicht“. Abszisse: Tage, Ordinate: Anzahl der an den betr. Tagen gezählten freigesetzten Eier.

schnitt nicht ganz 16,5 Tage voneinander entfernt. Die Periodik setzt sich auch ohne natürlichen oder experimentellen Mond mehrere Monate hindurch fort. Nach 2–3 Monaten wird die Periodik, wenn kein neuer „Mond“ einwirkt, allmählich unklar und sie löst sich auf. In den beobachteten 11 Fällen, in denen die Gipfel *eindeutig* (d. h. wie in Abb. 1) erkennbar waren, also jene Auflösung noch nicht begonnen hatte, betrug die Periodenlänge:

- 2-mal 15,5 Tage,
- 5-mal 16 Tage,
- 2-mal 16,5 Tage,
- 2-mal 17 Tage.

3. Die Wirkung von „Mondlicht“

Wurde ein- oder zweimal (hintereinander) auch in der Nacht Licht geboten (um den Effekt des Mond-

⁶ W. D. HOYT, Amer. J. Bot. 14, 592 [1927].

Abb. 2. *Dictyota dichotoma*. In den beiden durch Pfeil gekennzeichneten Nächten wurde künstlicher Mond (1200 Lux) geboten. Der nächste Gipfel wird jeweils deutlich vorverlegt, von diesem bis zum übernächsten aber wird wieder der gleiche Abstand eingehalten, der aus Abb. 1 erkennbar ist.

lichtes zu ermitteln), so wurde das nächste Maximum der Oogon-Entleerung vorverlegt. Es trat dann 9 Tage nach dieser „Mondnacht“ ein. Wirkten danach weiterhin wieder nur dunkle Nächte ohne solches „Mondlicht“, so trat gleich wieder der Abstand von 16–17 Tagen in Erscheinung (Abb. 2). Als Mondlicht übten nicht nur 1200 Lux, sondern auch schon 3 Lux jenen Effekt aus.

4. Periodenlänge bei erniedrigter Temperatur

Betrug die Temperatur nicht 20° , sondern nur 14 oder 16° , so wurde trotzdem die Periodenlänge von 16–17 Tagen annähernd beibehalten (Abb. 3). Das

Abb. 3. *Dictyota dichotoma*. Unmittelbar nach dem Erreichen des ersten Gipfels wurde die Temperatur von 20 auf 14° herabgesetzt. Der nächste Gipfel tritt trotzdem ungefähr zu der Zeit ein, wo er bei 20° (Balken) zu erwarten gewesen wäre.

ist ein wichtiger Hinweis für die in der Einleitung genannte Deutungsmöglichkeit, weil die endogene Tagesrhythmik und die endogene Gezeitenrhythmik ja weitgehend temperatur-unabhängig sind.

Bei 14° war die Oogon-Entleerung im ganzen schon stark gehemmt und hörte bald auf; bei 16° lief sie über

längere Zeit fort. Dieser Temperatureinfluß dürfte dafür verantwortlich sein, daß die Entleerung im Meer auf wenige Monate beschränkt ist.

5. Periodenlänge bei Darbietung „falscher Tage“

Wenn die in der Einleitung genannte Erklärungsmöglichkeit richtig ist, also ein Zusammenwirken einer vom Licht-Dunkel-Wechsel nicht gesteuerten Periodik und einer vom Licht-Dunkel-Wechsel mitgenommenen vorliegt, so muß die sich ergebende Periodenlänge von jenen 16–17 Tagen abweichen, sobald der Licht-Dunkel-Wechsel nicht der 24-Stdn.-Periodik folgt, sondern z. B. einer kürzeren. Dabei müßte jetzt eine Periodenlänge auftreten, die kleiner als 16–17 Tage ist; denn je größer die Differenz der Periodenlänge ist, um so häufiger müssen jene „Schwebungen“, jene Koinzidenzen physiologisch zueinander gehörender Phasen eintreten.

Geboten wurden 23,5-Stdn.-Tage, bei denen das Längenverhältnis von Licht- und Dunkelperiode ebenso war wie beim 24-Stdn.-Tag. Der Versuch wurde in 2 verschiedenen Varianten durchgeführt. Entweder es wurde unmittelbar nach dem Erreichen eines Gipfels unter Normalbedingungen (24-Stdn.-Tag, d. h. Licht : Dunkel = 14 : 10 Stdn.) zum 23,5-Stdn.-Tag (Licht : Dunkel = $13\frac{3}{4} : 9\frac{3}{4}$ Stdn.) übergegangen. Dann zeigte sich das in Abb. 4 dargestellte Ergebnis: Die Periodenlänge ist auf etwa 13 Tage verkürzt. Dieser Versuch wurde mit gleichem Resultat wiederholt. Bei einer anderen Anordnung wurde eine Kultur genommen, die mehrere Monate lang keinen „Mond“ (d. h. kein Nachtlicht) mehr bekommen hatte. Die periodische Freisetzung der Eier war ganz abgeklungen (und es wurden überhaupt nur noch sehr wenige Eier entleert). Dieser Kultur mit ausgeklungener Rhythmik wurde jetzt eine Mondnacht geboten. Der erste Gipfel trat

Abb. 4. *Dictyota dichotoma*. Unmittelbar nach dem Erreichen des ersten Gipfels (es handelt sich um eine Abtrennung von Material, von dem zum gleichen Zeitpunkt auch das Material zu Abb. 3 abgetrennt wurde) wurde statt des normalen 24-Stdn.-Tages ein 23,5-Stdn.-Tag geboten. Der nächste Gipfel ist deutlich vorverlegt gegenüber dem Zeitpunkt, zu dem er bei 20° (Balken) zu erwarten gewesen wäre.

9 Tage nach diesem Mond auf, der anschließende 14 Tage später (Abb. 5).

Die Ergebnisse entsprachen also der Erwartung. Die Periodenlänge ist deutlich, und zwar um 2 bis 3 Tage abgekürzt.

Abb. 5. *Dictyota dichotoma*. Einer Kultur, die infolge mehrmonatigen Fehlens von „Mondlicht“ keine periodische Freisetzung der Eier mehr zeigte, wurde zu der angegebenen Zeit eine Mondnacht geboten. Die Gipfel treten in Abständen von 14 Tagen auf. Die Normalabstände sind durch Balken gekennzeichnet.

Leider konnten wir aus technischen Gründen bisher nur 3 solche Versuche mit „falschen Tagen“ durchführen. Deren Ergebnis hier mit allem Vorbehalt mitzuteilen, erscheint uns aber doch nicht sinnlos angesichts der Tatsache, daß alle 3 Versuche Periodenlängen ergaben, die eindeutig nicht nur unter dem Mittelwert, sondern auch unter den niedrigsten Werten liegen, welche im Normaltag auftreten (vgl. Abschnitt 4).

6. Schlußfolgerungen

Gehen wir von der in der Einleitung genannten Hypothese Nr. 3 aus, so ergibt sich folgende Deutung: Die im Laboratorium auftretende 16,5-Tage-Periodik ist als Folge der Koinzidenz von zwei physiologisch aufeinander abgestimmten Phasen zweier verschiedener physiologischer Schwingungen zu verstehen. Dabei wirkt die infolge des tagesperiodischen Licht-Dunkel-Wechsels genau 24-stdg. werdende Periodik mit einer anderen zusammen, bei der die Doppelperiode (vgl. Einleitung) etwas mehr als 24 Stdn. beträgt. Die tägliche Phasenverschiebung auf Grund der Längendifferenz in den Perioden muß dabei so sein, daß in 16,5 Tagen eine Differenz um eine volle Periode eintritt, d. h. gleiche Phasen beider Rhythmen erneut zusammenfallen.

Wenn durch Darbietung eines 23,5-Stdn.-Tages die vom Licht-Dunkel-Wechsel steuerbare Periodik auf diese Periodenlänge eingesteuert wird, ergibt sich eine noch größere Differenz in den Periodenlängen. Die Koinzidenz gleicher Phasen muß dann häufiger als innerhalb von 16,5 Tagen eintreten. Eben das hat sich ja durch die Versuche, wenn auch noch nicht in dem gewünschten größeren Umfang, bestätigt.

Die steuernde Wirkung des Mondlichtes müßte so verstanden werden, daß es eine bestimmte Phasenrelation zwischen der frei schwingenden (jedenfalls nicht vom Licht-Dunkel-Wechsel gesteuerten) und der vom Licht-Dunkel-Wechsel gesteuerten (24-stdg.) Periodik herstellt.

7. Nachweis der diurnalen und der Gezeitenrhythmik

Wir sind mit dem Nachweis dieser beiden sich überlagernden Rhythmen seit einigen Jahren beschäftigt. Besonders zahlreiche Versuche haben wir 1959 und 1960 mit der Strandkrabbe, *Carcinus maenas* L., durchgeführt. NAYLOR⁵ hat ebenfalls über das Verhalten dieses Objekts berichtet. Bevor wir unsere eigenen, noch nicht abgeschlossenen, Untersuchungen an *Carcinus* ausführlich veröffentlichen, mag es im Zusammenhang dieser Arbeit nützlich sein, wenigstens für dieses Objekt als Bestätigung und Ergänzung der Versuche NAYLORS, zu zeigen, daß Rhythmen der genannten Art vorkommen.

Abb. 6 a zeigt die Rhythmik der Bewegungsaktivität von *Carcinus maenas* im schwachen Dauerlicht

Abb. 6. Bewegungsaktivität von *Carcinus maenas*. a und b: im schwachen Dauerlicht, c: im Licht-Dunkel-Wechsel, jedoch bei einem um 30 min, also auf 23,5 Stdn. verkürzten Tag. Die Länge der Lichtperiode betrug dabei etwa 16 Stunden. d: in einem entsprechend auf 24,8 Stdn. verlängerten Tag. In c und d sind die Tagesabstände angegeben, und zwar einerseits die Normaltage (24), andererseits die tatsächlich gebotenen verkürzten (23,5) bzw. verlängerten (24,8) Tage. Die Einfügung der ungefähr diurnalen Komponente der Bewegungsaktivität in die gebotene Tageslänge ist deutlich.

Man erkennt eine Periodik mit *ungefähr* halbtagslangen Zyklen. Diese darf als Überlagerung von 2 Rhythmen aufgefaßt werden. Die Analyse einer im Dauerlicht registrierten Kurve nach der Methode von Prof. BLUME ergab die Beteiligung einer Periode von 24,6 und einer zweiten von 12,3 Stdn. Schwingungsdauer⁷.

In manchen Fällen (im Laboratorium sogar relativ häufig) fällt die kurzperiodige Komponente ganz

aus; es verbleibt dann eine Rhythmik mit *ungefähr* Ganztags-Perioden (Abb. 6 b). Und weiterhin läßt sich zeigen, daß die verbleibenden Komponente vom Licht-Dunkel-Wechsel gesteuert werden kann; sie folgt z. B. dem 23,5-Stdn.-Tag (Abb. 6 c) oder dem 24,8-Stdn.-Tag (Abb. 6 d). Mit diesen Hinweisen wollen wir uns bis zur späteren ausführlichen Veröffentlichung begnügen.

8. Diskussion

Die eingangs genannte Hypothese Nr. 3 enthält also keine gewagt erscheinenden Annahmen; ihre Konsequenz konnte namentlich durch den Versuch mit dem 23,5-Stdn.-Tag bestätigt werden. Die Richtigkeit der Hypothese soll durch weitere Versuche erprobt werden. Es wird darauf ankommen, die genannten beiden Rhythmen *auch* für *Dictyota* nachzuweisen und zu zeigen, daß sie vom Licht-Dunkel-Wechsel bzw. vom Mond in der angenommenen Weise gesteuert werden.

Unwahrscheinlich ist, daß *Dictyota* den lunaren Zyklus nach den in der Einleitung genannten Möglichkeiten 1 und 2 mißt. Wäre die Möglichkeit 1 gegeben, so müßte der ungefähr semilunare Zyklus unabhängig von der Länge des täglichen Licht-Dunkel-Zyklus eingehalten werden. Wäre die Möglichkeit 2 verwirklicht, so würde eine Verkürzung des Tages von 24 auf 23,5 Stdn. nur eine Verkürzung des Abstandes der Gipfel von 16,5 Tagen auf 16 Tage bedingen können; denn in 16 Normaltagen sind 16,5 Tage zu je 23,5 Stdn. erreicht. Sowohl die Ausschließung dieser Möglichkeiten 1 und 2, als auch die positiven Befunde mit dem 23,5-Stdn.-Tag sprechen also sehr eindringlich für die in der Einleitung unter 3 gekennzeichnete Möglichkeit.

Einige der Ergebnisse HAUENSCHILDS³ an *Platynereis* sprechen für eine andere Deutung. An Stelle einer ausführlichen Diskussion sei hier nur darauf hingewiesen, daß sich *Dictyota* viel eindeutiger verhält als *Platynereis*.

ungefähr $\pm 0,2$ Stdn. nicht ausschließt. Auch ist zu beachten, daß wir im Dauerlicht natürlich die freilaufenden Rhythmen messen, also schon aus diesem Grunde keine genaue Übereinstimmung mit der Gezeitenrhythmik von 12,4 bzw. der diurnalen Rhythmik von 24,0 Stdn. erwarten dürfen.

⁷ Herrn Prof. Dr. J. BLUME, Köln, mit dem zusammen die Ergebnisse der *Carcinus*-Versuche später ausführlich veröffentlicht werden sollen, danken wir für die mühsame Arbeit dieser Analyse. — Bei den genannten Werten ist zu berücksichtigen, daß unsere Registriermethode Fehler von un-