

Vergleichende elektrophysiologische Untersuchungen an den Sinnesepithelien des Jacobsonschen Organs und der Nase von Amphibien (*Rana*), Reptilien (*Lacerta*) und Säugetieren (*Mus*)

WOLFGANG MÜLLER*

Zoologisches Institut der Universität München und Fachbereich Biologie der
Universität Regensburg

Eingegangen am 22. Februar 1971

A Comparative Electrophysiological Study of Sensory Epithelia in the Nose and Vomeronasal Organ of Amphibians (*Rana*), Reptiles (*Lacerta*) and Mammals (*Mus*)

Summary. 1. The problem of whether or not the electro-olfactogram (EOG) is a physiological response of the receptor to a given olfactory stimulus was investigated. It turned out that EOGs recorded with KCl-electrodes are biological potentials when their polarity is negative. Potentials with positive polarity are electrode potentials. Their polarity depends on the position of the electrodes in the contact series.

2. EOGs were successfully recorded from the sensory epithelia of the vomeronasal organ in amphibians (*Rana*) and mammals (*Mus*). They show the typical characteristics of the EOGs from the nasal mucosa of these animals.

3. The nose and the vomeronasal organ in lizards (*Lacerta*) manifest different olfactory spectra. Only 71% of those substances eliciting EOGs in the nose also caused a reaction in the vomeronasal organ. Lower members of homologous series of alcohols, aldehydes and fatty acids were especially effective.

4. The vomeronasal organs of two different orders of vertebrates differ in their reaction spectra.

5. Significant differences in relative EOG amplitudes were found between the nose and vomeronasal organ in lizards and between the vomeronasal organs of lizards and mice.

Zusammenfassung. 1. Es wurde geprüft, ob das Elektroolfaktogramm als physiologische Antwort der Rezeptoren auf einen Duftreiz hin gelten kann: Es ergab sich, daß mit KCl-Elektroden abgeleitete negative Elektroolfaktogramme biologische Potentiale sind. Positive Potentiale sind Elektrodenpotentiale, da ihre Polarität vom Elektrodenmaterial entsprechend der elektrochemischen Spannungsreihe abhängt.

2. Von den Sinnesepithelien der Jacobsonschen Organe der Amphibien (*Rana*) und Säugetiere (*Mus*) lassen sich Elektroolfaktogramme ableiten. Sie stimmen mit denen vom Riechepithel der Nase im wesentlichen überein.

* Herrn Prof. Dr. H. Altner danke ich für das Thema und sein ständiges Interesse am Fortgang der Arbeit; Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. H. Autrum danke ich für den Arbeitsplatz im Zoologischen Institut der Universität München.

3. Nase und Jacobsonsches Organ von Eidechsen (*Lacerta*) unterscheiden sich in ihrem Reaktionsspektrum. Im Jacobsonschen Organ wurden nur 71% der Stoffe beantwortet, die in der Nase Elektroolfaktogramme hervorriefen. Besonders wirksam sind in den J.O.s die niederen Glieder homologer Reihen (Alkohole, Aldehyde, Fettsäuren).

4. Die Jacobsonschen Organe von Tieren zweier verschiedener Ordnungen (*Lacerta*, *Mus*) unterscheiden sich in ihren Reaktionsspektren.

5. Die Vergleiche zwischen Nase und Jacobsonischem Organ von Eidechsen und zwischen den Jacobsonschen Organen von Eidechsen und Mäusen ergaben signifikante Unterschiede in der Größe relativer Amplituden.

Einleitung und Problemstellung

Das Vomeronasal- oder Jacobsonsche-Organ (J.O.) ist bei Amphibien, Reptilien und Säugetieren bekannt (Cuvier, 1811; Zuckerkanal, 1910). Bisher wurde eine olfaktorische Funktion nur bei Reptilien nachgewiesen. Kahmann (1932, 1934, 1939) und Abel (1951) konnten bei Schlangen und Eidechsen in Verhaltensexperimenten wahrscheinlich machen, daß das J.O. ein Geruchsorgan ist. Tucker (1963) registrierte Aktionspotentiale im Nervus vomeronasalis bei der Riesenschildkröte *Gopherus polyphemus*. Er fand reizabhängige Nervenentladungen für niedere Glieder von homologen Reihen der Alkohole, Fettsäuren und Acetatesterne. 1968 beschrieben Altner und Müller Elektroolfaktogramme (EOGs) vom J.O. der Eidechsen *Lacerta agilis* und *sicula*.

Allerdings ist es noch problematisch, ob EOGs für den Nachweis einer olfaktorischen Funktion verwendet werden können, da aus der Literatur bisher nicht eindeutig hervorgeht, ob das EOG als physiologische Antwort der Riechzellen auf einen gegebenen Duftreiz gelten kann (vgl. zusammenfassende Diskussion Takagi, 1967, 1969). Es werden im wesentlichen zwei Meinungen über die Herkunft der EOGs vertreten: Eine Reihe von Autoren hält die negativen EOGs für summierte Generatorpotentiale und Aktionspotentiale, und die positiven EOGs für eine Folge von Hemmung in den Rezeptoren (Hosoya und Yoshida, 1937; Ottoson, 1954; 1956, 1959; Gesteland, 1964, 1965; Takagi und Shibuya, 1960; Shibuya und Takagi, 1962; Takagi und Yajima, 1964, 1965).

Andere Autoren jedoch vertreten die Ansicht, daß es sich bei den EOGs um Potentialänderungen handle, die unabhängig von der Reaktion der Sinneszellen auf der Oberfläche der Riechschleimhaut bei Überblasen mit Duftstoff entstehen (Mozell, 1962; Shibuya, 1964). In diesem Fall sollten bei gleichen Versuchsbedingungen auch an Epithelien ohne Chemorezeptoren, jedoch mit gleicher oder ähnlicher Schleimoberfläche, ähnliche Potentialänderungen auftreten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war daher, die Frage zu beantworten, ob 1. das EOG eine Rezeptorantwort darstellt, um damit 2. auch einen Nachweis für die olfaktorische Funktion der J.O.s von Amphibien und

Säugetieren zu erbringen. Darüber hinaus sollte erstmals entschieden werden, ob sich Nase und J. O. einer Art und die J. O.s zweier Arten verschiedener Ordnungen hinsichtlich ihrer Reaktionsspektren unterscheiden.

Material und Methode

Die Untersuchungen zum „EOG-Problem“ wurden an adulten ♂♂ und ♀♀ von *Rana esculenta* L., *temporaria* L. und *ridibunda* Pallas durchgeführt. Für den Nachweis der olfaktorischen Funktion des J.O.s bei Amphibien und Säugetieren dienen adulte ♂♂ und ♀♀ von *Rana esculenta* L. und weißen Mäusen. Der Vergleich zwischen den Reaktionsspektren von Nase und J.O., sowie der J.O.s von Tieren aus zwei Ordnungen wurde an adulten ♂♂ und ♀♀ von *Lacerta agilis* L., *muralis* Laur. und *sicula* Rafin., bzw. zwischen diesen Eidechsen und den weißen Mäusen durchgeführt. Die Tiere stammten bis auf wenige eigene Wildfänge aus dem Handel. Nach Immobilisieren der Frösche und Eidechsen durch Ausbohren des Rückenmarks und der Mäuse durch eine Gabe von 0,2 g Nembutal pro 10 g Körpergewicht intraperitoneal wurden die Sinnesepithelien der Nase bzw. des J.O. freipräpariert. Zur Reizung wurden 5 mm³ Duftsubstanz auf einen Filterpapierstreifen (4 × 18 mm) in einer Glaskartusche aufpipettiert und mit einem auf das Präparat gerichteten Luftstrom (1,6—2 cm³/sec) überblasen (Kartuschenmethode: Schneider, Lacher und Kaissling, 1964). Die durchschnittliche Reizdauer betrug 1 Sekunde. Während des Reizes war die Kartusche etwa 2 cm von der Riechschleimhautoberfläche entfernt. Die EOGs wurden mit Agar/KCl/AgCl/Ag-Elektroden (KCl 3-molar) mit einem Spitzendurchmesser von 5—10 µm und einem Widerstand von ca. 500 k Ohm abgeleitet. Die Elektroden waren mit einem Eingang eines Oscillographen vom Typ Tectronix 565 mit Verstärkereinschub 3A9 direkt gekoppelt. Die Referenzelektrode (Ag/AgCl) wurde bei Fröschen und Eidechsen in der Rückenmarkswunde, bei Mäusen in Hautgewebe am Hinterbein eingestochen.

Als Duftstoffe dienen die homologen Reihen der einwertigen, primären, gesättigten Alkohole von Methanol (C₁) bis Decanol (C₁₀), die der Aldehyde von Formaldehyd (C₁) bis Decanal (C₁₀) außer Acetaldehyd (C₂) und die der einfachen gesättigten Fettsäuren von Propionsäure (C₃) bis Decansäure (C₁₀). Darüber hinaus wurden noch Capron-, Capryl-, Pelargon- und Caprinsäureäthylester, Pyrrol, Anethol, Nitrobenzol, Benzylacetat und Amylacetat getestet, sowie in einigen Präparaten Preßsaft von Futtertieren und Urin von Mäusen.

Ergebnisse

I. Ist das EOG eine Rezeptorantwort?

Die als Antworten auf dieselben Reizstoffe an der Eminentia olfactoria des Frosches abgeleiteten Potentiale sind nicht einheitlich; sie unterscheiden sich in ihrer Form. Auf Reize mit Amylacetat ($n = 248$) und Heptanal ($n = 73$) ließen sich 61% bzw. 95% diphasische und 39% bzw. 5% monophasische negative Potentiale registrieren. Reize mit Pyrrol ($n = 81$) ergaben 86% diphasische und 14% monophasische negative Potentiale. Auf Reize mit Methanol ($n = 160$) schließen, waren alle Übergänge von monophasischen positiven (30%) über 53% diphasischen zu 17% monophasischen negativen Potentialen zu beobachten (Abb. 1a).

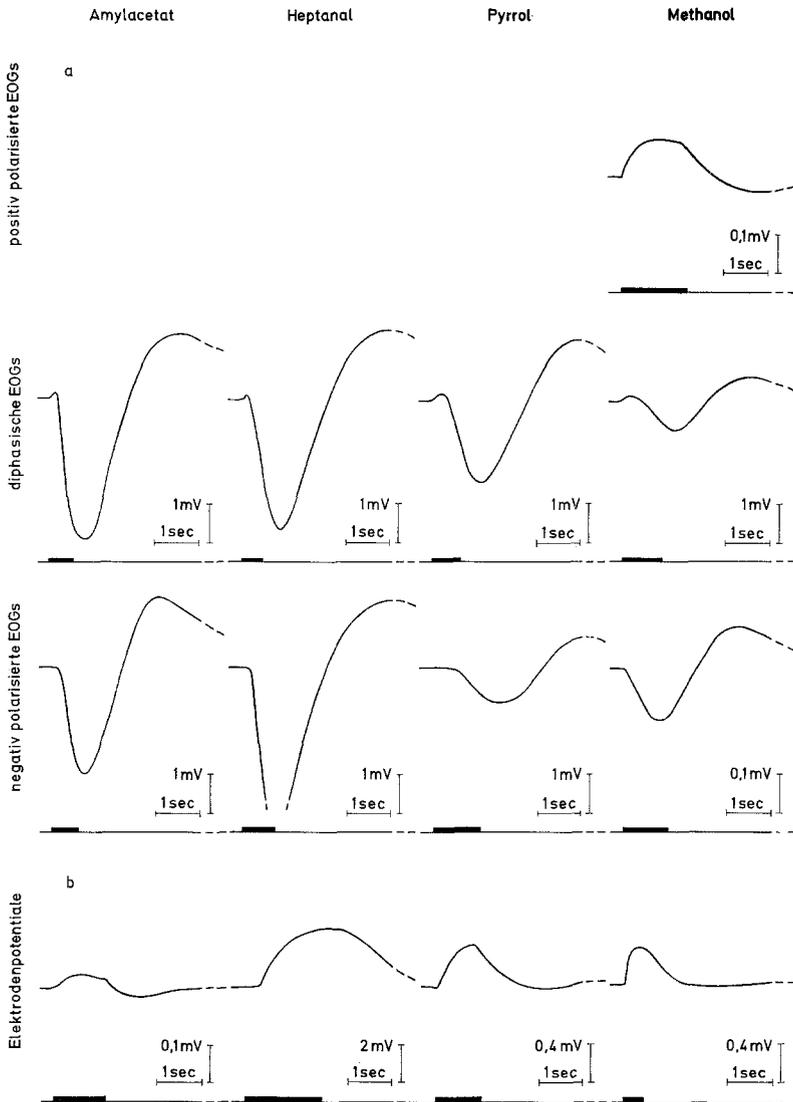


Abb. 1 a u. b. EOGs von der Riechschleimhaut von Fröschen (a) und mit gleicher Ableittechnik gewonnene Potentiale von Präparaten ohne Chemorezeptoren von Fröschen (b) (isolierter Nasenschleim; außer Antwort auf Heptanal: Ableitung vom Munddach) auf Reize mit Amylacetat, Heptanal, Pyrrol und Methanol. Positiv polarisierte Potentiale sind nach oben, negativ polarisierte nach unten aufgetragen. Unter den Potentialen ist die Reizdauer angegeben (entsprechendes gilt für die Abb. 2—5)

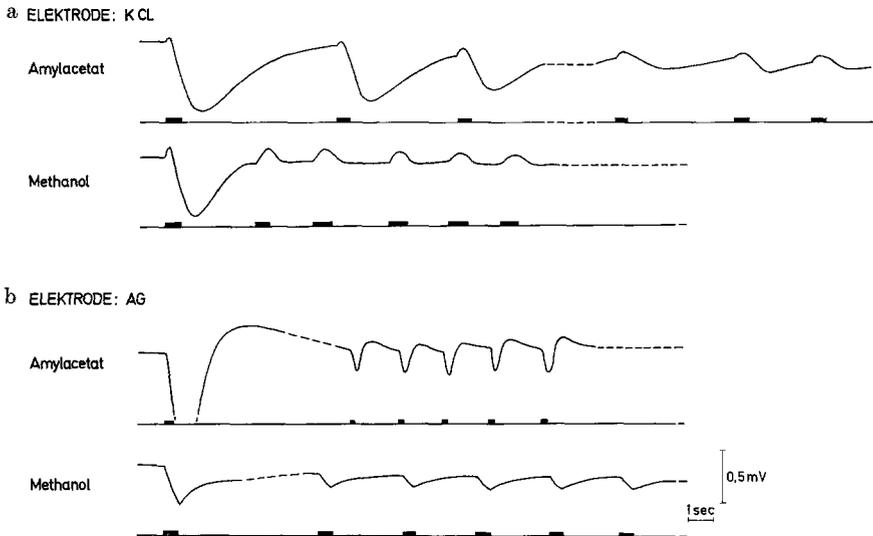


Abb. 2 a u. b. Potentiale von der Riechschleimhaut des Frosches auf Reizserien mit Amylacetat (oben) und Methanol (unten), registriert mit Agar-KCl-Elektroden (a) und Ag-Elektroden (b)

Gibt man mehrere Reize mit demselben Duftstoff im Abstand von wenigen Sekunden, so wird der negative Potentialanteil kleiner, bis er schließlich ganz verschwindet. Der positive Anteil jedoch wird zunächst um wenigens größer und bleibt dann über beliebige Reize hin konstant (Abb. 2a).

Bei einigen Froschnasenpräparaten war die Schleimsekretion stark angeregt, so daß sich im Extremfall die ganze Nasenhöhle mit Schleim füllte (s. S. 374). Von dessen Oberfläche konnten nur positive Potentiale abgeleitet werden. Wurde der Schleimüberschuß abgesaugt und die Elektrode erneut aufgesetzt, so traten wieder typische negative Potentiale auf.

Diese Befunde legen die Vermutung nahe, daß neben den biologischen Entstehungsmechanismen für die EOGs auch nicht biologische denkbar sind. Trifft dies zu, so sollten unter gleichen Versuchsbedingungen auch an Präparaten ohne Chemorezeptoren ähnliche Potentiale entstehen (s. S. 371). Deshalb wurden Ableitversuche am Munddach, an der Innenseite der dorsalen Lymphsackhaut und an isoliertem Nasenschleim von Fröschen durchgeführt. Sie ergaben nur positive Potentiale (Abb. 1b und 3a), deren Amplituden etwa in derselben Größenordnung von 0,1—0,5 mV lagen, wie die positiven EOGs und EOG-Anteile (vgl. Altner und Müller, 1968). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die

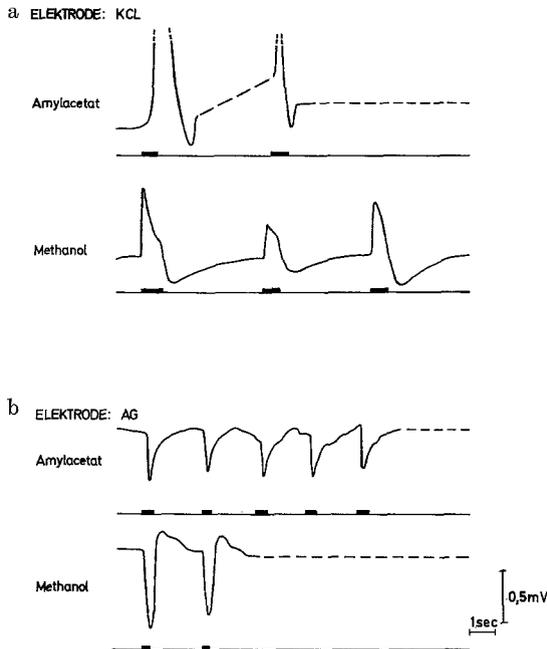


Abb. 3 a u. b. Potentiale von der Oberfläche isolierten Nasenschleims des Frosches auf „Reize“ mit Amylacetat und Methanol, registriert mit Agar-KCl-Elektroden (a) und Ag-Elektroden (b)

positiven Potentiale aus diesen Versuchen und die positiven EOGs bzw. EOG-Anteile möglicherweise Elektrodenpotentiale sind. Sollten es Elektrodenpotentiale sein, so ist zu fordern, daß ihre Polarität von der Polarität der Elektroden gegenüber Wasserstoff abhängt. Aus diesem Grund wurden unter sonst gleichen Bedingungen Versuche mit Silber- und Wolfram-Elektroden sowohl an Präparaten ohne Chemorezeptoren als auch an der intakten Riechschleimhaut durchgeführt. Anstelle der positiven Potentiale treten bei Ableitungen mit Ag-Elektroden an Präparaten ohne Chemorezeptoren negative Potentiale auf, die wiederum in derselben Größenordnung von 0,1—0,5 mV liegen (Abb. 3 b). Entsprechend ist bei der Ableitung von EOGs von der Riechschleimhaut kein positiver Potentialanteil zu beobachten. Das negative Potential stimmt mit dem der EOGs, die mit KCl-Elektroden abgeleitet wurden, überein. Serienreize, deren Reizabstände wie in dem auf S. 374 beschriebenen Versuchen zu einem Verschwinden des negativen EOG-Anteiles geführt haben, ergaben in diesem Fall eine Verminderung des negativen Potentials. Es blieben kleine Restpotentiale übrig, deren Amplituden in dem für die positiven

Potentiale gefundenen durchschnittlichen Größenbereich liegen (Abb. 2b und 3 b). Bei Wolframelektroden ergaben sich ähnliche Potentialverläufe wie bei KCl-Elektroden. Dieser Versuch zeigt also, daß nur die Polarität der unter Standardbedingungen positiven EOGs bzw. EOG-Anteile von der Elektrodenart abhängt. Zugleich wird deutlich, daß mit KCl-Elektroden negative Potentiale nur bei Anwesenheit von Geruchsrezeptoren zu beobachten sind.

II. EOGs aus dem J.O. der Amphibien, Reptilien und Säugetiere

Über EOGs vom J.O. der Reptilien wurde in einer früheren Arbeit berichtet (Altner und Müller, 1968). Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden erstmals auch von den Sinnesepithelien des J.O. von *Rana esculenta* und von weißen Mäusen auf Reize mit verschiedenen Duftstoffen EOGs abgeleitet. Sie stimmen mit den EOGs von den Sinnesepithelien der Nasen dieser Tiere und auch denen der Reptilien im wesentlichen überein. Abb. 4 zeigt EOGs auf Reize mit Amylacetat von diesen entsprechenden Organen. In Abb. 5 sind EOGs vom J.O. des Frosches und der Maus für die Duftstoffe Propional, Propionsäure und Heptanal dargestellt. Darüber hinaus wurden biologisch interessante Duftstoffe getestet: bei Reptilien Düfte von zerquetschten Futtertieren, bei Mäusen Urin. In beiden Fällen wurden nur EOGs mit geringer Amplitude registriert.

III. Unterschiede im Reaktionsspektrum zwischen Nase und J.O. bei Eidechsen sowie zwischen den J.O.s von Eidechsen und Mäusen

Um die Antworten von J.O. und Nase bzw. von den J.O.s verschiedener Tierarten vergleichen zu können, wurden die Ableitungen von den drei Organen unter gleichen Versuchsbedingungen durchgeführt. Für alle Reize wurden 5 cm³ unverdünnte Testsubstanz auf das Filterpapier in der Kartusche aufpipettiert. Unterschiede in der Reizkonzentration, die durch unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften der Stoffe zustande kommen, können im Folgenden unberücksichtigt bleiben (siehe S. 382).

Insgesamt wurden 36 Duftsubstanzen getestet. Von diesen konnten vom Nasensinnesepithel der Eidechsen auf Reize mit 35 Duftsubstanzen EOGs abgeleitet werden. Nur Methanol rief ausschließlich positive Potentiale, aber keine EOGs hervor (s. Diskussion). Im J.O. der Eidechsen hingegen konnten auf Reize mit Methanol EOGs registriert werden, während 10 der Testsubstanzen immer unbeantwortet bleiben. Weitere 8 Testsubstanzen wurden nur gelegentlich beantwortet. Die Amplituden dieser Antworten waren wesentlich kleiner als die der Stoffe, die immer eine Antwort auslösten. Mit Ausnahme von Anethol und Benzylacetat

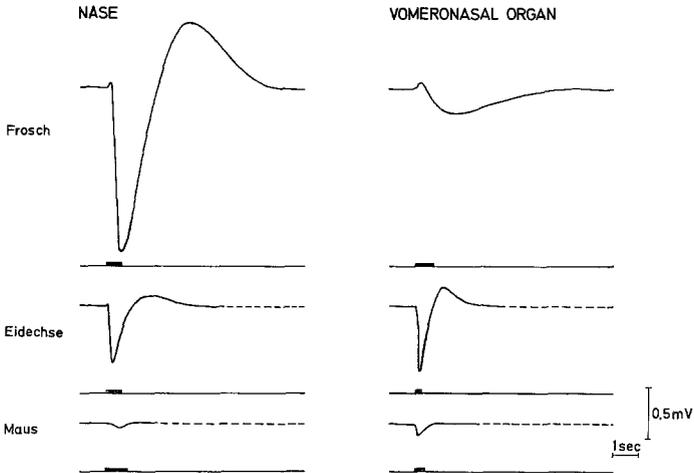


Abb. 4. EOGs von den Sinnesepithelien der Nase (links) und des J. O. (rechts) des Frosches (oben), der Eidechse (mitte) und der Maus (unten) auf Reize mit Amylacetat

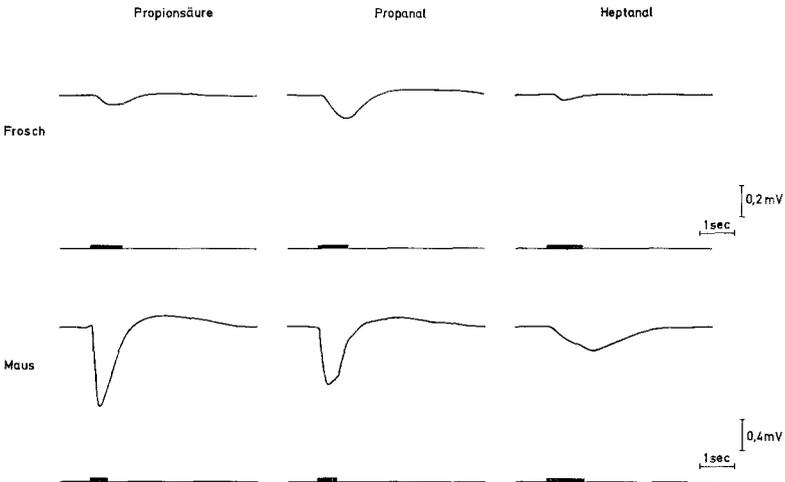


Abb. 5. EOGs von den Sinnesepithelien des J. O. von Fröschen (oben) und Mäusen (unten) auf Reize mit Propionsäure, Propanal und Heptanal

handelt es sich dabei durchweg um die höheren Glieder der homologen Reihen. Allerdings fällt auf, daß innerhalb der homologen Reihe der Übergang von Substanzen, die ein EOG hervorrufen und solchen, die unbeantwortet bleiben, immer an anderer Stelle erfolgt: Bei Alkoholen zwischen C_8 und C_9 , bei Aldehyden zwischen C_9 und C_{10} und bei Säuren

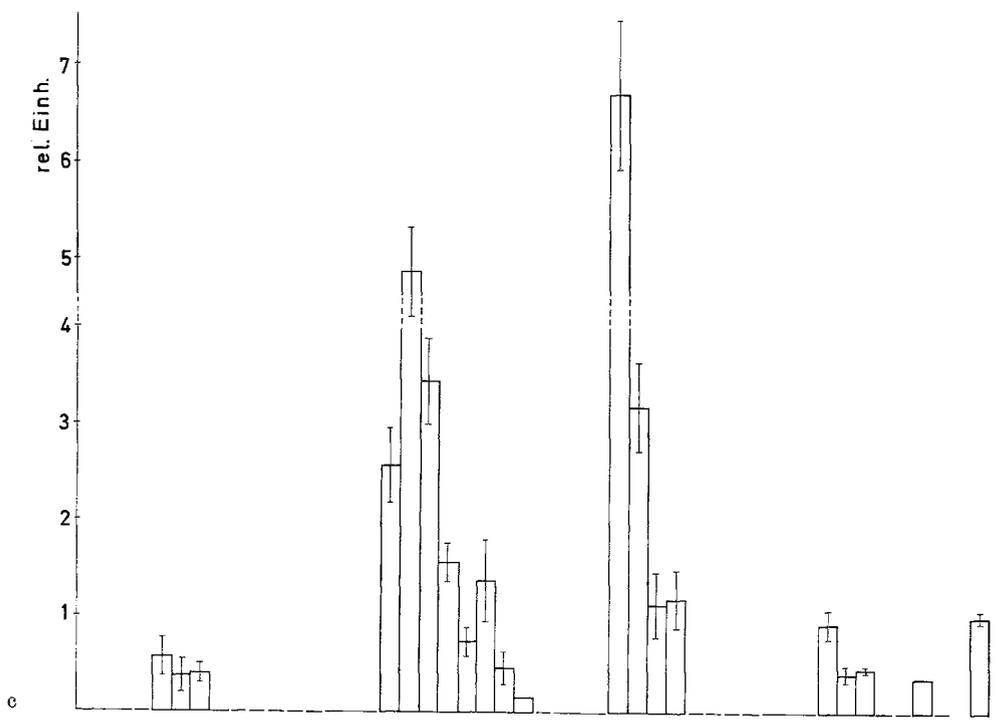
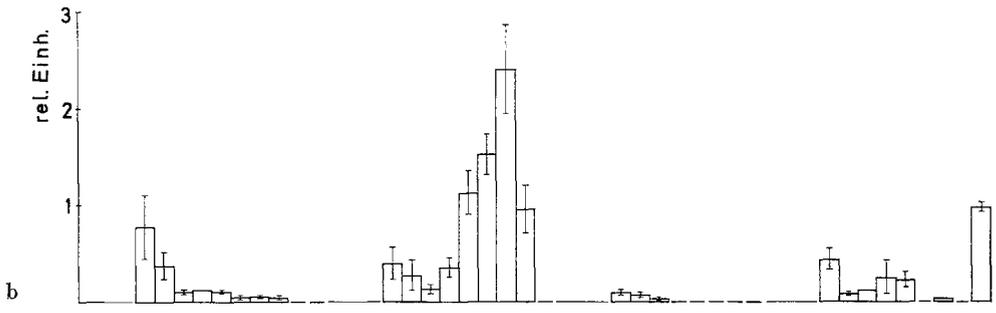
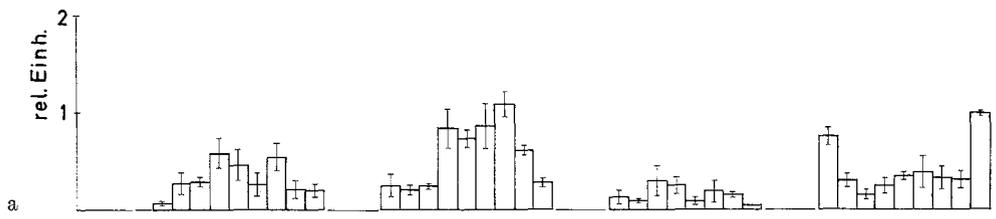


Abb. 6a—c. Reaktionsspektren aus der Nase (a) und dem J. O. (b) von Eidechsen, sowie dem J. O. der Maus (c). Ausgefüllte Quadrate bedeuten, daß auf Reize mit den entsprechenden Duftstoffen immer, halb ausgefüllte Quadrate, daß gelegentlich, und leere Quadrate, daß nie ein negativ polarisiertes EOG abgeleitet werden konnte (s. Text)

zwischen C₅ und C₆ (vgl. Higashino, Takagi, Yajima, 1961). Nur bei den Aldehyden vollzieht sich dieser Übergang abrupt: C₉ verursacht immer, C₁₀ nie eine Reaktion. Bei Alkoholen, Säuren und Äthylestern konnten für die letzten beantworteten Glieder der homologen Reihen nicht auf jeden Reiz EOGs registriert werden. Von den 35 Duftsubstanzen, die in der Nase EOGs hervorriefen, waren im J.O. nur 25, das sind 71 % wirksam (Abb. 6a, b).

Für das J.O. von Mäusen ergab sich im Vergleich zum J.O. der Eidechsen ein noch engeres Spektrum. Von den 36 getesteten Substanzen wurden nur 20 beantwortet. Von diesen wiederum waren 7 Substanzen nicht bei jedem Präparat wirksam (s. o.): die 3 Alkohole Äthanol, Propanol und Butanol, die Aldehyde Formaldehyd und Nonanal, sowie Hexansäure und Anethol. Während das Spektrum für die Aldehyde im J.O. von Eidechsen und Mäusen nahezu gleich ist, unterscheiden sich die Spektren für Alkohole, Säuren und Äthylester. Im J.O. von Eidechsen konnten auf Reize mit 8 Alkoholen (C₁—C₈) und 3 Säuren (C₃—C₅) und allen Äthylestern EOGs registriert werden; im J.O. der Maus auf 4 Säuren (C₃—C₆) aber nur auf 3 Alkohole (C₂—C₄) und 3 Äthylester (Capron-, Capryl- und Pelargonsäureäthylester). Die Antworten auf die

Abb. 7a—c Relative Amplituden von EOGs aus der Nase (a) und dem J. O. von Eidechsen (b), sowie dem J. O. der Maus (c), bezogen auf die Antworten auf Amylacetat (ganz rechts). Diese wurden gleich 1 gesetzt (s. Text). An den Säulen ist bei $n > 5$ der mittlere Fehler des Mittelwertes angegeben



C₁ C₂ C₃ C₄ C₅ C₆ C₇ C₈ C₉ C₁₀

Alkohole

C₁ C₂ C₃ C₄ C₅ C₆ C₇ C₈ C₉ C₁₀

Aldehyde

C₃ C₄ C₅ C₆ C₇ C₈ C₉ C₁₀

Säuren

Capronsäureäthylester
 Capryl-
 Pelargon-
 Caprin-
 Pyrrrol
 Anethol
 Nitrobenzol
 Benzylacetat
 Amylacetat

Abb. 7 a-c

Substanzen Pyrrol, Nitrobenzol und Anethol waren in beiden Organen umgekehrt: Auf Reize mit Pyrrol und Nitrobenzol konnten EOGs im J.O. der Eidechsen, auf Anethol im J.O. der Maus registriert werden (Abb. 6 b, c).

EOGs, die an einem Präparat bei gleicher Elektrodenlage, gleicher Duftsubstanz und gleicher Substanzmenge als Antworten auf zeitlich, in einem Abstand von nicht weniger als 5 sec (s. S. 374) aufeinanderfolgende Reize registriert wurden, sind in ihrer Amplitude nahezu gleich. Reize mit verschiedenen Duftsubstanzen bei gleichen Versuchsbedingungen ergaben unterschiedliche Amplituden. Vergleicht man die EOGs von verschiedenen Präparaten, so können die Amplituden für einen Duftstoff sehr variieren, jedoch bleibt das Amplitudenverhältnis für verschiedene Substanzen weitgehend konstant (vgl. Takagi et al., 1969). Setzt man nun die Amplitude der EOGs für einen Duftstoff gleich 1 und bezieht alle anderen im selben Präparat gewonnenen auf diese Basis, so erhält man ein Verteilungsmuster relativer Amplituden. Als derartige Bezugsgröße wurde jeweils die mittlere Antwort auf Reize mit Amylacetat gewählt, da diese Substanz in den untersuchten Organen immer ein Potential verursacht, dessen Amplitude mittelgroß war, so daß sich große und kleine Potentiale zusammen in einem einheitlichen Säulendiagramm (Abb. 7 a bis c) darstellen lassen. Die statistischen Sicherungswerte, die bei den nachstehenden Vergleichen angegeben sind, wurden nach dem *t*-Test errechnet. Es wurden jeweils für Nase und J.O.s die Amplituden von entsprechenden Duftstoffpaaren verglichen. Mit sehr guter statistischer Sicherung unterscheiden sich die Antworten auf Glieder der homologen Reihe der Alkohole in Nase und J.O. der Eidechsen: In der Eidechsen-nase riefen Pentanol und Oktanol die höchsten Antworten hervor. Sie sind beide gegen die sehr kleinen Antworten auf Äthanol mit $p < 0,001$ gesichert. Demgegenüber ergaben sich im J.O. der Eidechsen die höchsten Antworten auf Methanol und Äthanol, während alle Antworten auf die Alkohole C_3 — C_9 mit $p < 0,001$ wesentlich niedriger lagen. Offensichtlich werden also im J.O. der Eidechsen niedrige Alkohole mit größeren EOG-Amplituden beantwortet als höhere, während in der Eidechsen-nase die Verhältnisse umgekehrt sind.

In gleicher Weise lassen sich die Reizantworten auf verschiedene Aldehyde und Säuren im J.O. von Eidechsen und Mäusen vergleichen: Im J.O. der Eidechsen ist die Antwort auf Oktanol am höchsten und mit $p < 0,001$ gegen die wesentlich niedrigere von Propanal gesichert. Im J.O. der Maus liegen für diese beiden Stoffe mit derselben Sicherheit umgekehrte Verhältnisse vor. Ein Vergleich der Ergebnisse, die mit Säuren gewonnen wurden, kann nicht durchgeführt werden, da sich im Eidechsen-J.O. keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Homologen ergaben. Auffallend ist jedoch, daß im J.O. der Eidechsen

die Antworten auf Amylacetat viel größer als die auf Säuren sind ($p < 0,001$), während im J. O. der Maus auf Amylacetat eine signifikant kleinere Reaktion als auf die Säurehomologen auftritt ($p < 0,001$).

Diskussion

I. „EOG-Problem“

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuche und Ergebnisse, die das „EOG-Problem“ (Takagi 1969) betreffen, beziehen sich nur auf den elektronegativen und elektropositiven „on“ Typ nach der Klassifizierung der EOGs von Takagi (1969). Die Befunde über die negativen EOGs bestätigen die Interpretation dieser Potentiale durch Hosoya und Yoshida (1937), Ottoson (1954, 1956, 1959), Gesteland (1964, 1965), Takagi und Shibuya (1960), Shibuya und Takagi (1962), Takagi und Yajima (1964, 1965): *Negative EOGs sind* unter den beschriebenen Versuchsbedingungen *physiologische Antworten* des Sinnesepithels.

Die Möglichkeit, daß andere Entstehungsmechanismen (z. B. Diffusionspotentiale, Strömungspotentiale, Elektrodenpotentiale etc.) zugrunde liegen, läßt sich durch die dargestellten Versuchsergebnisse ausschließen: Bei Serienreizen verkleinert sich nur der negative Potentialanteil (s. S. 374). Wenn es sich bei den EOGs um nicht biologische Potentiale handeln würde, wäre zu erwarten, daß sich beide Potentialanteile gleichsinnig ändern. Es läßt sich ausschließen, daß die Reduktion des negativen Potentials als Abnahme der Reizkonzentration oder als Sensibilisierung der Oberfläche angesehen werden kann, da die positiven Potentiale unabhängig von den Reizintervallen konstant blieben. Ferner wurde gezeigt, daß sich an Präparaten ohne Chemorezeptoren unter gleichen Versuchsbedingungen mit KCl-Elektroden keine negativen Potentiale ableiten lassen. Das müßte aber der Fall sein, wenn diese Potentiale und die EOGs auf die gleiche Weise entstünden. Die Ergebnisse über die positiven EOGs widersprechen der Interpretation dieser Potentiale durch Gesteland (1964), Gesteland, Lettvin und Pitts (1965), Takagi und Shibuya (1960), Shibuya und Takagi (1962), Takagi und Yajima (1964, 1965), Takagi, Aoki, Iino und Yajima (1969): *Positive EOGs sind Elektrodenpotentiale*.

Bei Ableitungen mit KCl-, Wolfram- und Ag-Elektroden hat sich gezeigt, daß nur die Polarität des „positiven“ Potentialanteils von der Polarität der Elektrode gegenüber Wasserstoff abhängt: Wären die negativen EOGs Elektrodenpotentiale, so müßte sich ihre Polarität bei der Ableitung mit Ag-Elektroden umkehren, und wären hingegen die positiven EOGs physiologische Antworten, so dürfte sich ihre Polarität *nicht* ändern. Ähnliche Elektrodenpotentiale fand Kafka (1970) bei Ableitungen von der Antenne von Heuschrecken. Die Interpretation, daß

positive EOGs nichtbiologische Potentiale darstellen, wird weiter dadurch unterstützt, daß sich der positive Potentialanteil vergrößerte, wenn die Schleimmenge über die Normalverhältnisse hinaus vergrößert war (s. S. 374). Entsprechende Beobachtungen machte H. Mustaparta bei Ableitungen von EOGs an der Reichschleimhaut von Grasfröschen, *Rana temporaria* (persönl. Mitteilung).

II. Nachweis der olfaktorischen Funktion der J.O.s

Negative EOGs sind also physiologische Antworten des Sinnesepithels. Damit können die in den J. O. s gefundenen negativen EOGs als Beweis für eine olfaktorische Funktion der Organe gewertet werden. Dies ist besonders interessant, da die Sinneszellen in den J. O.s der Eidechsen und Mäuse keine Cilien, sondern nur Microvilli tragen (Altner und Müller, 1968; Kolnberger in Vorbereitung). Es stellt sich somit die Frage, ob die Cilien der Riechrezeptoren aus der Nase für die Erregungsbildung unbedingt notwendig sind. Tucker hat bereits (1967) Befunde veröffentlicht, die die Bedeutung der Cilien in Frage stellen. Er konnte vom olfaktorischen Sinnesepithel nach Deciliierung EOGs ableiten.

III. Unterschiede der Reaktionsspektren

Die Ergebnisse (Abb. 6) aus den Versuchen, Reaktionsspektren nahe verwandter Arten (*Lacerta sicula* und *muralis*) zu ermitteln, zeigen, daß Nase und J.O. sowie die J.O.s von verschiedenen Arten (Eidechse und Maus) deutlich unterschiedliche Reaktionsspektren auf gleiche Reihen von Duftreizen aufweisen. Darüber hinaus ergab die Betrachtung der Amplituden der Reizantworten weitere interessante Abweichungen der Organe voneinander. In diesem Zusammenhang ist es interessant, daß Tucker (1963) bei Ableitungen vom Nervus vomeronasalis bei der Riesenschildkröte *Gopherus polyphemus* in Übereinstimmung mit den hier beschriebenen Spektren der J.O.s eine besondere Wirksamkeit niederer Glieder von homologen Reihen fand.

Man kann nun fragen, ob die Unterschiede der Reaktionsspektren sowie der relativen Amplituden, auf physikalisch-chemische Eigenschaften der Stoffe, wie z. B. Dampfdruck, Diffusionsgeschwindigkeit und Löslichkeit beruhen. Sicher spielen diese Parameter eine Rolle, jedoch treten sie in jedem Versuch als „systematische Fehler“ auf. Beim Vergleich zwischen 2 Organen fallen sie deshalb nicht ins Gewicht. Aus diesem Grund kann als sicher angenommen werden, daß die gefundenen Unterschiede Organeigenschaften widerspiegeln. Diese können entweder in unterschiedlicher Reaktion der Rezeptoren auf Duftstoffe, also verschiedenen Rezeptortypen, oder in verschiedener Verteilung von gleich spezialisierten Rezeptortypen gesucht werden. Daneben ist an verschie-

dene Eigenschaften des Schleims als Lösungsmittel zu denken. Es ist zwar nicht sehr wahrscheinlich, daß ein solcher Mechanismus vorliegt; es würde aber bedeuten, daß der Schleim einen Filter darstellt. Es bleibt offen, ob nur eine dieser Interpretationen zutrifft, oder ob mehrere Möglichkeiten zur Erklärung der Phänomene herangezogen werden müssen.

Die bisher gewonnenen Ergebnisse an Einzelrezeptoren von Wirbeltieren weisen daraufhin, daß verschiedene Rezeptortypen angenommen werden können. Die Befunde weichen stark voneinander ab, wie aus den folgenden Zitaten hervorgeht; jedoch zeigen sie deutlich, daß in einem olfaktorischen Sinnesepithel verschiedene Rezeptortypen erwartet werden dürfen: Takagi und Omura (1963) berichteten aufgrund ihrer Untersuchungen an der Kröte *Bufo vulgaris japonicus*: "... it was shown that there are at least seven or eight types of discharges in the olfactory epithelium." Mozell (1964) schreibt als Ergebnis der Ableitungen von zwei entfernt liegenden Ästen des Nervus olfactorius bei Fröschen: "... these data strongly suggest that the input to the central nervous system from the olfactory peripheral system differs in temporal and spatial discharge pattern for different chemicals." Lettvin und Gesteland (1965) stellen für Frösche fest: "... that every receptor differs in its ordering of odors from each other." Altner und Boeckh (1967) fanden in der Eminentia olfactoria von Wasserfröschen Rezeptoren mit konstantem Grund- und variablem Beispektrum.

Hinsichtlich einer verschiedenen Verteilung von Rezeptortypen können aufgrund der vorliegenden Befunde nur begrenzte Aussagen gemacht werden, da die Elektrodenlage nicht systematisch variiert wurde. Derartige Versuche wurden von Mustaparta durchgeführt. Ihre Ableitungen von EOGs von der Riechschleimhaut des Frosches mit zwei Elektroden machen wahrscheinlich, daß verschiedene Rezeptortypen inhomogen verteilt vorliegen (persönl. Mitteilung). Somit liegt es nahe, die hier beschriebenen Unterschiede in den Reaktionsspektren sowie im Verteilungsmuster der relativen Amplituden dahingehend zu deuten, daß in der Nase und in den J.O.s verschiedene Rezeptortypen mit unterschiedlicher Häufigkeit vorkommen. Zumindest könnte die Beobachtung, daß einige Duftsubstanzen gelegentlich unbeantwortet bleiben, dadurch erklärt werden, daß die Rezeptortypen innerhalb des Sinnesepithels nicht homogen verteilt sind.

Das, im Vergleich zur Nase, enge Spektrum des J.O.s bei Eidechsen und das der Mäuse weisen darauf hin, daß es für bestimmte Orientierungsleistungen spezialisiert ist. Kahmann (1932, 1934, 1939) und Abel (1951) konnten in Verhaltensexperimenten bei ausgeschalteter Nase wahrscheinlich machen, daß Schlangen und Eidechsen allein mit dem J.O. Beute finden. Neben diesen Eigenschaften als Fernwitterungsorgan

soll es noch als „Mundgeruchsorgan“ (Kahmann, 1939) zur geruchlichen Prüfung der Beute beim Fressen dienen. Deshalb wäre zu erwarten, daß der Duft von Beutetieren als Reiz sehr wirksam wäre. Es zeigte sich jedoch, daß die hier getesteten biologischen Düfte nur sehr niedere EOGs hervorrufen (s. S. 376). Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, daß die Konzentration wesentlich geringer war, als die der anderen Testsubstanzen, die höhere EOG-Amplituden verursachten. Somit bleibt unklar, welche biologischen Düfte für das J. O. relevant sind. Das gleiche kann über die Ergebnisse mit biologischen Düften beim J. O. der Mäuse gesagt werden.

Literatur

- Abel, E.: Über das Geruchsvermögen der Eidechsen. *Öst. zool. Z.* **3**, 83—125 (1951).
- Altner, H., Boeckh, J.: Über das Reaktionsspektrum von Rezeptoren aus der Riechschleimhaut von Wasserfröschen (*Rana esculenta*). *Z. vergl. Physiol.* **55**, 299—306 (1967).
- Müller, W.: Elektrophysiologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Riechschleimhaut des Jacobsonschen Organs von Eidechsen (*Lacerta*). *Z. vergl. Physiol.* **60**, 151—155 (1968).
- Cuvier, M.: Rapport fait à l'Institut, sur un mémoire de M. Jacobson, intitulé: Description anatomique d'un organe observé dans les mammifères. *Ann. du Muséum* **412—424** (1811).
- Gesteland, R. C.: Initial events of the electro-olfactogram. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **116**, 440—447 (1964).
- Lettvin, J. Y., Pitts, W. H.: Chemical transmission in the nose of the frog. *J. Physiol. (Lond.)* **181**, 525—559 (1965).
- Higashino, S., Takagi, S. F., Yajima, M.: The olfactory stimulating effectiveness of homologous series of substances studied in the frog. *Jap. J. Physiol.* **11**, 530—544 (1961).
- Hosoya, Y., Yoshida, H.: Über die bioelektrische Erscheinung an der Riechschleimhaut. *Jap. J. med. Sci. III Biophys.* **5**, 22—23 (1937).
- Kafka, W. A.: Molekulare Wechselwirkung bei der Erregung einzelner Riechzellen. *Z. vergl. Physiol.* **70**, 105—143 (1970).
- Kahmann, H.: Sinnesphysiologische Studien an Reptilien. *Zool. Jb. Physiol.* **51**, 173—238 (1932).
- Zur Chemorezeption der Schlangen. *Zool. Anz.* **107**, 249—263 (1934).
- Über das Jacobsonsche Organ der Echsen. *Z. vergl. Physiol.* **26**, 669—695 (1939).
- Lettvin, J. Y., Gesteland, R. C.: Speculation on smell. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **30**, 217—225 (1965).
- Mozell, M. M.: Olfactory mucosal and neural responses in the frog. *Amer. J. Physiol.* **203**, 353—358 (1962).
- Olfactory discrimination: Electrophysiological spatiotemporal basis. *Science* **143**, 1336—1337 (1964).
- Ottoson, D.: Sustained potentials evoked by olfactory stimulation. *Acta physiol. scand.* **32**, 384—386 (1954).
- Analysis of the electrical activity of the olfactory epithelium. *Acta physiol. scand.* **35**, Suppl. 122, 1—83 (1956).
- Comparison of slow potentials evoked in the frog's nasal mucosa and olfactory bulb by natural stimulation. *Acta physiol. scand.* **47**, 149—159 (1959).

- Schneider, D., Lacher, V., Kaissling, K. E.: Die Reaktionsweise und das Reaktionsspektrum von Riechzellen bei *Antheraea pernyi*. Z. vergl. Physiol. **48**, 632—662 (1964).
- Shibuya, T.: Dissociation of olfactory neural response and mucosal potential. Science **143**, 1338—1340 (1964).
- Takagi, S. F.: A note on the on- and off- responses observed in the olfactory epithelium of a newt. Gunma J. med. Sci. **11**, 63—68 (1962).
- Takagi, S. F.: Are EOGs generator potentials? In: olfaction and taste, vol. II (T. Hayashi, ed.), p. 167—179. Oxford: Pergamon Press 1967.
- EOG problems. In: Olfaction and taste, vol. III (C. Pfaffmann, ed.), p. 71—91. New York: Rockefeller University Press 1969.
- Aoki, K., Iino, M., Yajima, T.: The electropositive potential in the normal and degenerating olfactory epithelium. In: Olfaction and taste, vol. III (C. Pfaffmann, ed.) p. 92—108. New York: Rockefeller University Press 1969.
- Omura, K.: Responses of the olfactory receptor cells to odours. Proc. Jap. Acad. **39**, 253—255 (1963).
- Shibuya, T.: The “on”- and “off”-responses observed in the lower olfactory pathway. Jap. J. Physiol. **10**, 99—105 (1960).
- Yajima, T.: Electrical responses to odours of degenerating olfactory epithelium. Nature (Lond.) **202**, 1220 (1964).
- — Electrical activity and histological change in the degenerating olfactory epithelium. J. gen. Physiol. **48**, 559—569 (1965).
- Tucker, D.: Olfactory, vomeronasal and trigeminal receptor responses to odorants. In: Olfaction and taste, vol. I (Y. Zottermann, ed.) p. 45—69. Oxford-London-New York-Paris: Pergamon Press 1963.
- Olfactory cilia are not requested for receptor function. Fed. Proc. **26**, 544 (Abstr. 1609) (1967).
- Zuckerkindl, E.: Das Jacobsonsche Organ. Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch. **18**, 801—843 (1910).

Dr. Wolfgang Müller
Fachbereich Biologie
der Universität
BRD-8400 Regensburg
Universitätsstr. 31
Deutschland