

Eine weitere Kontrolle der Methode wurde vorgenommen, indem als Enzym das Präparat Saccharase (Fa. SERVA - Nr. 26357) verwendet wurde. Die Figur zeigt, dass die Abhängigkeit der Aktivität von der Enzymmenge bis zu einem Titrationswert von etwa 5 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ nahezu identisch mit den nach der Aktivitätsangabe des Enzympräparates errechneten Werten ist. Daraus geht hervor, dass die hier beschriebene Methode in diesem Bereich zur Bestimmung der Saccharaseaktivität geeignet ist.

Um zu verhindern, dass während der Inkubationszeit durch die in der Probe vorhandenen Mikroorganismen noch weiterhin Enzym produziert wird, empfehlen einige Autoren^{3,4} die Zugabe von Toluol zum Ansatz. Die Wir-

kung des Toluols ist jedoch durchaus umstritten⁵. Um zu untersuchen, wie sich der Zusatz von Toluol zum Versuchsansatz bei einer Inkubationszeit von 2 h auswirkt, wurden die Proben mit 5%, 15% und 25% Toluol versetzt. Die erzielten Ergebnisse liessen keinerlei Einfluss des Toluols erkennen, alle Ansätze zeigten die gleichen Saccharaseaktivität wie der Ansatz ohne Toluol. Da so die schon oben aufgestellte Behauptung, dass während einer nur 2stündigen Inkubation keine nennenswerte Produktion an Saccharase erfolgen kann noch unterstützt wird, kann somit auf den Einsatz von Toluol verzichtet werden.

Es ist bekannt, dass Tannin Enzyme zu inhibieren vermag^{6,7}. Dieser Effekt konnte auch für Saccharase beobachtet werden (Tabelle II). Durch eine Zugabe von Boden zum Versuchsansatz sollte untersucht werden, inwieweit der Boden der Inhibierung der Saccharase durch das Tannin entgegenwirken kann. An anderer Stelle⁸ ist bereits darüber berichtet worden, dass diese Schutzfunktion für Katalase zu beobachten ist. Wie aus Tabelle II hervorgeht, ist im Falle der Saccharase durch Boden keine Reduzierung der durch Tannin hervorgerufenen Hemmung festzustellen.

Summary. A method, qualified for determination of saccharase activity in soil samples, is described.

CH. KUNZE UND H. RICKART

*Botanisches Institut der Universität
Senckenbergstrasse 17-21, D-63 Giessen (Germany),
15 November 1972.*

Tabelle I. Saccharaseaktivität in Abhängigkeit von der Bodeneinwaage

Bodeneinwaage	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml)	ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ pro g Boden
1 g	0,49	0,49
2 g	0,98	0,49
3 g	1,37	0,46
4 g	1,82	0,46

Tabelle II. Hemmung der Saccharaseaktivität durch Tannin

Tannin im Ansatz (%)	Saccharaseaktivität	
	Reine Enzymlösung (%)	Enzymlösung und Boden (%)
0	100	100
0,5	27	30
1,0	20	16
2,0	0	0

³ E. HOFMANN, in *Methoden der enzymatischen Analyse* (Ed. H. U. BERGMAYER; Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1962), p. 904.

⁴ T. BECK und H. POSCHENRIEDER, *Pl. Soil* 18, 346 (1963).

⁵ D. CLAUS und K. MECHSNER, *Pl. Soil* 12, 195 (1960).

⁶ W. L. PORTER und J. SCHWARZ, *Fd Res.* 27, 416 (1962).

⁷ V. SCHNEIDER und U. W. HALLER, *Planta* 94, 134 (1970).

⁸ C. KUNZE, *Ecol. Plant.* 6, 197 (1971).

An underwater Food Dispenser for Conditioning Fish

Recently a two-alternatives reward conditioning on directional hearing in cod was carried out under a moored raft in a fjord. The cod was kept in a triangular netting cage (Figure 1) about 4 m down the surface.

Two food dispensers were required, that met the following conditions: a) remote operation; b) instant appearance of the food on activation without appreciable mechanical perturbation or the occurrence of other spurious stimuli; c) being not too bulky and not too dense or incompressible as compared to water, to reduce acoustic scattering; d) containing about 15 pieces of food per magazine; e) reliable operation and, if necessary, a simple trouble-shooting; f) possibility to refill the magazines without lifting the cage with the fish, in order to avoid disturbance of the fish.

The system shown in the Figures 1-3 works successfully. The food dispensers are mounted on a rectangular perspex frame (a) that can slide as an elevator along 2 (parallel) of the 3 paired nylon lines suspending the netting cage (Figure 1), by means of the pulling line (b). Both basic corners at the upper side of the cage have a perspex covering with a hole (c), to allow the entrance of the food (actually the frame (a) rests on the cage).

The food dispenser consists of a turnable, disc-shaped feeding magazine (d) in a housing (e) shaped as a pill-box (both made of perspex; Figures 2 and 3). The disc contains 18 radially drilled holes (\varnothing 8 mm; length 12.5 mm): the chambers (f) for the pieces of food. Each chamber has a lateral hole (g). In any of 18 distinct angular positions of the disc, the lateral hole of the downwards directed chamber communicates with the hose connection (h). To activate the food dispenser, the piece of food is blown out of the chamber by means of a shortlasting water current (this principle has been applied previously by Dr. K. OLSEN, Havforskninginstituttet, Bergen, Norway, with a tubular type of magazine). To direct the water downwards from the raft to the dispenser via a PVC hose (i), a 12V D.C. solenoid valve (Lucifer, Geneva, type 121 A 52; not shown in the figures) is opened shortly. The water comes from a container (a 5 l bottle with bottom outlet) hanging about 2 m above the surface (for sufficient excess pressure). The adequate current strength in the hose is adjusted by means of a tap at the bottom outlet.

A mechanical stepping device allows turning of the magazine until the next chamber with food is just over

the hole (j) in the housing, ensuring that the food can drop into the cage via the hole in the cage. 18 radial slots (Figure 2, k; depth: 1 mm) in the surface of the disc have a pitch corresponding with that of the chambers. By pulling gently line 1 (Figure 1) the lever (m) with the stainless steel catch (Figure 2, n) rotates the disc over an arc until a locking cantilever spring (o) snaps in the next slot. By that time the lever touches the stop (Figure 1, p). The lever returns to its resting position by means of the weight (q) leaving the dispenser ready to drop another piece of food. Shortly after feeding the fish, the magazine was turned so that the click of the returning lever was not

correlated with the moment of food dropping (training requirement; variable waiting times were used.)

We used the dispensers with pieces of food consisting of periwinkles (*Littorina spec.*) of which the opercula had been removed (after crushing of the shell and removing of the visceral mass). To fill the system the frame was lifted to the surface and unhooked from the lines. The dispensers were filled via the holes (j) by pushing the prepared pieces into the chambers by means of a chip of wood. Large airbubbles in the hose and hose connection had to be avoided. The periwinkles had to be selected on size obtain pieces that fitted fairly firmly in the chambers. Any enclosed air in the chambers after filling was released under water by turning the frame with the dispensers in an upside down position before attaching it again to the suspending lines of the cage.

The dispensers and the frame were made of perspex because it is rather transparent for underwater sounds (little scattering). An additional advantage of a clear disc is that inspection, as to whether the food pieces are set well while filling, is easy. Perspex has the disadvantage that it bends after a long submersion. To prevent the necessity of large torques the contact surface between disc and housing is minimal due to the circular rim (r); it also reduces friction by adhesion effects.

In the field, responses of the cods on the odour spreading from the food have not been noticed. Probably the system will equally well function with e.g. pieces of spleen, if suitable cut, but this was not tried. The reliability during calm weather (high surface waves may result in some pieces going lost) can be estimated from the fact that as a rule only one out of 15 pieces of food got stuck.

Zusammenfassung. Futtergerät für Belohnungsdressur beim Kabeljau. Der Fisch befindet sich einige Meter unter der Wasseroberfläche in einem Netzstoffkäfig. Von der Oberfläche wird aus kreisförmigem Futterbehälter jeweils ein Futterbrocken (Schneckenfuss-Stückchen) losgelöst, das in den Käfig hinunterfällt (Gehöruntersuchungen an Kabeljau in einem norwegischen Fjord).

M. A. VAN ARKEL, W. MAASSE and
A. SCHUIJF

*Laboratory of Comparative Physiology,
Jan van Galenstraat 40, Utrecht (The Netherlands),
24 April 1972.*

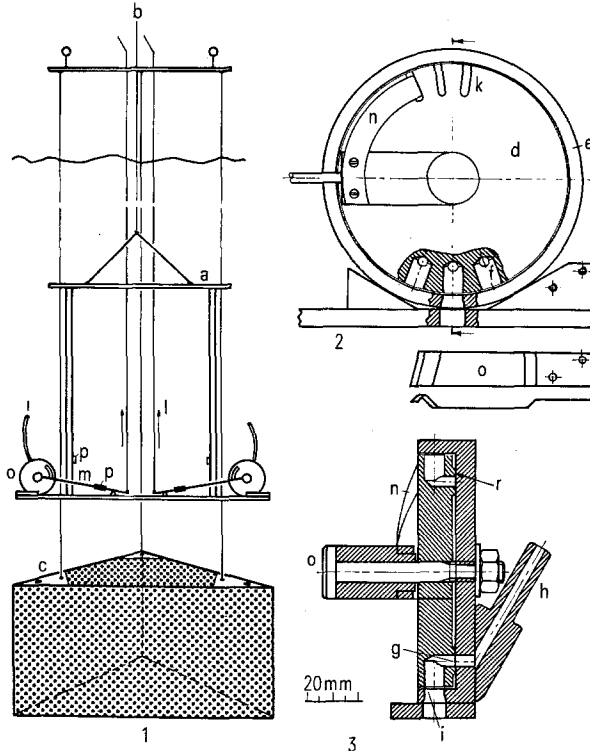


Fig. 1. Sketch of the choice-conditioning setup in the fjord showing the cage and both feeding dispensers glued on a frame.

Fig. 2 and 3. The right food dispenser. Further explanation in the text.

Zur Bestimmung der Lymphozytotoxizität

PAPPENHEIMER¹ stellte 1917 fest, dass tote Zellen in vitro mit Farbstoffen anfärbbar sind, die von lebenden Zellen nicht aufgenommen werden. GORER und GORMAN² entwickelten 1950 auf Grund dieser Beobachtung den Zytotoxizitätstest. Er beruht auf der Tatsache, dass der Farbstoff in Zellen eindringt, deren Membranen bei der Inkubation in zytotoxischen Antisera geschädigt werden, wodurch die Zellen absterben. Der komplementverfordernde Test wird zur Bestimmung des Antikörpertiters von homologen und heterologen Antisera, z.B. Antilymphocytensera (ALS) verwendet³⁻⁹. Da Ausföhrung und Ergebnisse starken Schwankungen unterliegen, wurden zur Feststellung der Zahl toter Zellen in einer Population auch andere Methoden entwickelt, z.B. die Markierung mit ⁵¹Cr¹⁰ oder die Zählung mit dem Coulter-counter¹¹. Der Farbstofftest wird aber als Vergleichsmethode und wegen

seines geringen technischen Aufwandes häufig angewandt. Eine Standardisierung erschien daher zweckmässig.

Material und Methoden. Als Testzellen dienen Lymphocyten und Thymocyten¹², die in TC 199 (Difco) oder Ringerlösung suspendiert wurden, die mit 1,9M HEPES (Calbiochem) gepuffert und auf pH 7,3 eingestellt war. Die Suspensionen enthielten 10×10^6 Zellen/ml. Makrophagen, die sich im lebenden Zustand mit Trypanblau anfärben und daher die Zahlen verändern, wurden durch ein Glaswattefilter weitgehend entfernt. Der Prozentsatz lebender lymphatischer Zellen betrug 97-98%. Als Komplement wurde Meerschweinchenserum, für Thymocyten 1:10, für Lymphocyten 1:5 verdünnt, verwendet¹³. ALS stammte von Kaninchen, die mit Maus- oder Rattenzellen nach der Methode von LEVEY und MEDAWAR¹⁴ immunisiert waren. Als Farbstoff diente Trypanblau