

A similar study has been carried out using *in vitro* incubations of 10, 20, 30, 60 and 90 min. Figure 4 shows that *in vitro* the time course of the response is similar to that of the *in situ* response; the difference being that the response curves are steeper *in situ* than *in vitro*.

Table II. Comparison of the total ILA (as $\mu\text{U}/\text{ml}$) determined in whole human serum by the *in situ* and *in vitro* diaphragm assays

Serum number	<i>in situ</i> ILA	<i>in vitro</i> ILA
1	5 ^a	2 ^a
	10	0
2	30 ^a	28 ^a
	20	20
3	25 ^a	25 ^a
	15	15
4	20	15
5	10	10
6	10	5
7	25	15
8	20	25
9	30	25
10	5	20

Pairs of results marked ^a were carried out on the same day. All other determinations were carried out on different days. The values for the ILA were allocated by comparing the mean value for the serum with a standard curve of glycogen loading against a linear plot of standard insulin concentration.

The total ILAs of a series of serum samples has been determined by these two assays. The results are presented in Table II.

Discussion and conclusions. The glycogen content of the *in situ* diaphragm of the mouse increases in response to intraperitoneal injections of either insulin or human serum. The response is proportional to the amount of insulin injected and is linear within certain limits of concentration. The system is extremely sensitive, 1 $\mu\text{U}/\text{ml}$ of insulin being the minimum detectable concentration. The kinetics and steepness of the response are comparable with those of the MOODY and FELBER *in vitro* diaphragm assay. Serum total ILAs determined by either bioassay are similar.

The assay presented here, using the *in situ* mouse diaphragm as insulin sensitive tissue, provides a valuable proof of the validity of serum ILA determinations carried out with the isolated mouse diaphragm. The isolation of the mouse diaphragm does not, to any marked degree, alter the sensitivity of the tissue to insulin.

There seems to be little interference in the *in situ* assay from endogenous insulin; it is possible that the mouse pancreas is relatively insensitive to glucose administered by peritoneal injection.

Résumé. Description d'une méthode de détermination de l'insuline utilisant le diaphragme de souris *in situ*. Les résultats concordent avec un essai similaire *in vitro*.

A. J. MOODY and J.-P. FELBER

Clinique Médicale Universitaire Lausanne (Switzerland),
April 23, 1964.

Influence des stimulations auditives sur le comportement sexuel du taureau

Les taureaux utilisés dans les centres d'insémination artificielle manifestent souvent, après un certain temps, un négativisme croissant à l'égard de la vache lors de la récolte du sperme. Diverses méthodes ont été préconisées pour remédier à cette situation¹. Un des procédés les plus courants consiste à faire monter par le taureau, un congénère mâle au lieu de la vache. Dans une série d'essais préliminaires, nous avons tenté de faire accepter à nouveau la vache par des taureaux rétifs en faisant entendre à ceux-ci au moyen d'un magnétophone, des beuglements de vache enregistrés en étable. La stimulation auditive était continue pendant toute la durée de présence des animaux dans le local de récolte, jusqu'à l'éjaculation éventuelle².

Ces expériences s'étalèrent, selon l'animal considéré, sur une période de 7 à 9 jours et faisaient suite à une période de contrôle préalable de 15 à 35 jours, au cours de laquelle la récolte du sperme avait eu lieu dans les conditions ordinaires, c'est-à-dire sans intervention de la stimulation auditive. Quatre taureaux furent observés systématiquement au cours de ces deux périodes, la monte sur congénère mâle restant prévue en cas de refus de la vache après 15 min environ.

Les résultats des observations pratiquées au cours de la période de contrôle préalable, au sujet de l'acceptation de la vache par les taureaux, figurent au Tableau I.

Bien que les exigences de la récolte nous aient obligés, sauf dans un cas, à tenir compte des habitudes des animaux en les faisant monter assez fréquemment un congénère mâle, la proportion d'essais concluants lors de l'utilisation de la vache est très faible. Elle n'atteint que 28% pour les quatre animaux. Par contre, les essais avec taureau sont concluants à 100%.

Les résultats correspondants obtenus au cours des essais comportant la stimulation auditive, on été consignés au Tableau II.

On notera que le nombre total d'essais est moitié moindre qu'au cours de la période de contrôle préalable. Cette différence doit rester présente à l'esprit si l'on veut apprécier correctement les proportions de montes concluantes figurant au Tableau II. Toutefois, le nombre total d'essais avec vache n'est inférieur que de 4 unités au nombre total de ces mêmes essais au cours de la première période, ce qui rend les résultats comparables sous ce rapport.

Ceci dit, il est indéniable que les résultats obtenus pour les trois premiers taureaux sont nettement plus favorables.

¹ B. M. KERRISH, Brit. J. anim. Behav. 3, 125 (1955). — J. J. M. L. CROMBACH, Z. Tierzücht. Züchtungsbiol. 75, 331 (1961).

² L'utilisation de grognements caractéristiques d'un verrat sexuellement motivé, émis par un magnétophone, entraîne immédiatement l'immobilisation de la truite en oestrus, en l'absence de stimuli visuels et olfactifs (J. P. SIGNORET, F. DU MESNIL DU BUISSON et R. G. BUSNEL, C. R. Acad. Sci. 250, 1355 (1960)).

Tab. I. Nombre de montes concluantes observées au cours de la période de contrôle préalable (valeurs absolues)

Animal	Durée de la période (jours)	Nombre total d'essais	Nombre d'essais avec vache	Nombre d'essais avec taureau	Essais concluants avec vache	Essais concluants avec taureau	Refus avec vache	Refus avec taureau
David	15	7	1	6	0	6	1	0
Dirk	28	8	8	-	2	-	6	-
Luron	35	14	4	10	1	10	3	0
Ovide	35	12	5	7	2	7	3	0
Totaux		41	18	23	5	23	13	0

Tab. II. Nombre de montes concluantes observées au cours de la période expérimentale (valeurs absolues)

Animal	Durée de la période (jours)	Nombre total d'essais	Nombre d'essais avec vache	Nombre d'essais avec taureau	Essais concluants avec vache	Essais concluants avec taureau	Refus avec vache	Refus avec taureau
David	9	4	4	-	4	-	0	-
Dirk	7	4	4	-	3	-	1	-
Luron	7	4	4	-	4	-	0	-
Ovide	7	5	2	3	0	3	2	0
Totaux		17	14	3	11	3	3	0

Sur 12 essais avec vache totalisés par ces trois animaux, 11 sont concluants, ce qui signifie que l'intervention de la stimulation auditive a pour effet de faire accepter à nouveau la vache. La monte sur taureau (toujours avec stimulation auditive) n'a du être mise à profit que pour le quatrième taureau, lequel maintient sa performance dans ces conditions, au niveau maximum antérieurement observé et manifeste même proportionnellement, un négativisme accru à l'égard de la vache. Cependant, considérés globalement, les essais concluants avec vache atteignent ici 79%, ce qui représente un gain proportionnel de 51% par rapport à la période antérieure.

Il y a lieu d'examiner à présent si l'utilisation de ce type de stimulation a exercé un effet sur le temps de réaction des taureaux. Ce temps représente la durée séparant le moment où le taureau voyait le partenaire, du moment de l'éjaculation. Les temps de réaction moyens des quatre taureaux utilisés ont été calculés en tenant compte uniquement des montes concluantes observées, soit sur vache, soit sur taureau, au cours des deux périodes. Ces données figurent au Tableau III.

En ce qui concerne la période de contrôle préalable, les temps obtenus sont du même ordre de grandeur tant avec la vache qu'avec le taureau, le temps le plus long étant toutefois observé pour le taureau David dans le second cas. Lorsque l'on compare les temps obtenus pour un même animal au cours des deux périodes successives, on note une accélération nette de la durée de réaction dans des conditions identiques, la stimulation auditive mise à part.

Les deux cas intéressants sont ici le deuxième et le troisième taureau (Dirk, Luron), qui réduisent leur temps avec vache, respectivement dans les rapports de 1,76 à 1 et de 6,36 à 1. Fait assez curieux, cette diminution du temps de réaction se manifeste également chez le quatrième taureau (Ovide) qui, tout en restant rétif à la

vache au cours de la seconde période, semble stimulé par les beuglements de vache, même lorsqu'il monte un taureau. Son temps de réaction diminue en effet, dans ces conditions, dans le rapport de 4,38 à 1. Les données recueillies semblent donc indiquer, compte tenu des restrictions imposées par l'inégalité des échantillons comparés, que la stimulation auditive spécifique agit dans le sens d'une vitesse de performance accrue, dans des conditions de monte qui peuvent être assez différentes. Ce type de stimulation pourrait donc être utilisé également, en principe, pour accélérer les réactions dans d'autres circonstances, entre autres lorsque l'on utilise un mannequin.

Envisageons brièvement à présent, les quantités moyennes de sperme éjaculées au cours des deux périodes. Les résultats obtenus figurent au Tableau IV.

Aucune différence notable n'apparaît ici au cours de la période expérimentale, les quantités éjaculées se situant à l'intérieur des limites normales de variation des animaux utilisés. Les valeurs observées indiquent également que

Tab. III. Temps de réaction moyens des 4 taureaux utilisés au cours des deux périodes (valeurs en secondes). E.C. = Essai concluant

Animal	Période de contrôle préalable		Période expérimentale	
	Avec vache	Avec taureau	Avec vache	Avec taureau
David	-	530 (6 E.C.)	319 (4 E.C.)	-
Dirk	210 (2 E.C.)	-	119 (3 E.C.)	-
Luron	420 (1 E.C.)	158 (10 E.C.)	66 (4 E.C.)	-
Ovide	120 (2 E.C.)	171 (7 E.C.)	-	39 (3 E.C.)

le procédé de stimulation utilisé n'exerce, sous ce rapport, aucun effet inhibiteur.

Du point de vue théorique, nous pensons que l'émission de beuglements de vache contribue d'une certaine façon, à replacer l'objet sexuel dans un cadre éthologique plus naturel, mais nous ne sommes pas encore en mesure de décider si l'accroissement de motivation sexuelle manifesté par le comportement du taureau, est lié à la vache

elle-même, ou s'il est référé à un cadre mésologique plus large. Quelques indications recueillies au cours de la période expérimentale semblent, à première vue, être en faveur de la seconde hypothèse. Il est évident que si cette dernière était vérifiée, le champ d'application du procédé préconisé n'en serait que plus étendu. Des recherches actuellement en cours tentent de clarifier ces divers problèmes.

Tab. IV. Quantités moyennes de sperme éjaculées par les 4 taureaux utilisés au cours des deux périodes. (Valeurs en CC calculées à partir du nombre d'essais concluants, comme au Tableau III)

Animal	Période de contrôle préalable		Période expérimentale	
	Avec vache	Avec taureau	Avec vache	Avec taureau
David	–	5,16	4,25	–
Dirk	3,50	–	4,66	–
Luron	7,00	4,75	4,12	–
Ovide	4,00	4,15	–	6,00

Summary. In a preliminary series of experiments, it was noted that dairy bulls who refused to mount the cow for a long time, could be induced to mount it again when acoustically stimulated by specific calls of cows emitted by a magnetophone. In these conditions, the reaction time of the bulls was also shorter, while ejaculated quantities did not differ from those obtained before the experiments. It is suggested that this rather simple procedure could be helpful when the use of bulls as teasers raises difficulties.

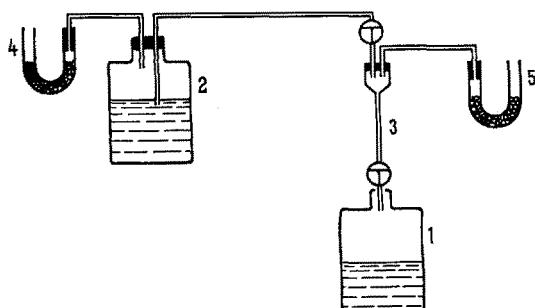
A. DE VUYST, G. THINÈS,
L. HENRIET et M. SOFFIÉ

Centre Zootechnique et Laboratoire de Psychologie Animale de l'Université de Louvain (Belgique), le 3 juillet 1964.

Ein Beitrag über die Art der Wirkung einiger Antituberkulotika

Die Arbeit untersucht die Beziehung zwischen Antituberkulotika und Pankreas-Lipase *in vitro*.

Apparatur. Im Versuch wurde eine Modifikation der Titrationsmethode nach WILLSTÄTTER benutzt. Die Titrationsapparatur besteht aus: (1) Gefäß mit zu titrierender Lösung, (2) Gefäß mit Titrationslösung, (3) Bürette, (4) zwei Luftfiltern mit KOH.



Technische Durchführung. Die Pankreaslipase wird durch Extraktion aus Schweinepankreas nach der Willstätter-Methode gewonnen^{1,2}. Der Extrakt wird in Form seiner Glycerinlösung benutzt (10 ml Glycerin: 0,5 g des Extraktes). Das zu titrierende Gemisch besteht aus: 0,5 ml 10prozentigem Antituberkulotikum; 0,25 ml 2prozentigem CaCl_2 ; 1,0 Pufferlösung (1 Teil $n\text{-NH}_4\text{OH}$ + 2 Teile $n\text{-NH}_4\text{Cl}$: pH = 8,9); 5,0 ml redestilliertem Wasser; 1,0 ml Olivenöl (zuletzt zugesetzt).

Zum Gemisch wird 0,1 ml Glycerinlösung der Pankreaslipase zugegeben. Der ganze Inhalt wird 4–5 min in einer

Schüttelmaschine geschüttelt. Als Titrationsgemisch wird $n/10 \text{ KOH}$ in Alkohol und als Indikator 1% Thymolphthalein ebenfalls in Alkohol (2 Tropfen) benutzt.

Die Pankreaslipase wird bei 130°C während 10 min stets unmittelbar vor jeder Titration inaktiviert. Titriert wird in folgenden Zeitabschnitten: 0, 30, 60, 120 min. Die Antituberkulotika werden in 10 prozentiger Wasserlösung zu je 0,5 ml verwendet. STM-Dihydrostreptomycin (Merck Corp.); PAS-Natrium-*para*-aminosalicylicum (Spofa); INH-Nidrazid (chem. Isonicotin-hydracidum) (Spofa); Sulfon-4,4'-di-NH₂-diphenylsulfon (Cilag); SHX-Salicylyhydroxamsäure. (Das Präparat wird nicht klinisch, sondern nur vergleichsweise im Versuch verwendet.)

$\text{Ca}^{++}\text{-Ion}$ (in Form von Calciumchlorid) hat eine wichtige Bedeutung für die Aktivierung der Pankreaslipase, weil es in der Titrationslösung die frei werdenden Fettsäuren zu unlöslichen Ca-Seifen bindet³.

Prinzip des Experiments beruht auf der Titration der Fettsäuren, die durch Pankreaslipase aus Olivenöl abgespalten werden^{1,2,4}. Die Titration wurde mit $n/10 \text{ KOH}$ in Gegenwart von Thymolphthalein durchgeführt. Die Pankreaslipaseaktivität wird durch die Anzahl der ml $n/10 \text{ KOH}$, die zur Titration der Fettsäuren benötigt wurden, ausgedrückt.

Ergebnisse. Wie die Figur zeigt, wird die Aktivität der Pankreaslipase durch PAS, INH, STM, SHX und Sulfon *in vitro* erhöht. Es handelt sich um Mittelwerte aus jeweils

¹ R. WILLSTÄTTER, E. WALDSCHMIDT-LEITZ und F. MEMMEN, Z. physiol. Chem. 125, 93 (1923).

² R. WILLSTÄTTER und E. WALDSCHMIDT-LEITZ, Z. physiol. Chem. 125, 132 (1923).

³ P. DESNUELLE, M. NAUDET und M. J. CONSTANTIN, Biochim. biophys. Acta 5, 561 (1950).

⁴ J. B. SUMNER und G. F. SOMERS, *Chemistry and Methods of Enzymes* (Academic Press Inc., New York 1953), p. 80.