

Variation of V' with pH (Fig. 2) is reasonably in accord with the results of POLLOCK *et al.*⁹, who found the greatest zero order velocity to occur in the region of pH 6, but differs considerably from that found by earlier workers. It should be noted that failure to take account of singly ionised penicilloic acid (pK_A 5.35⁵) may introduce considerable error at pH values below 7 when an alkalimetric or manometric method is employed. For example, the uncorrected results of the present investigation led to a spurious flat topped maximum for V' between pH values 6.6 and 7.6. This may account in part for some discrepancies in the literature; maxima have been variously reported at pH 7.8¹, and 6.9–7.6¹⁰, for example. In the latter case (manometric method) the flat topped curve described appears little different from the plot of uncorrected V' values obtained in the present investigation.

J. E. BANFIELD

Chemistry Department, University of New England, Armidale, N.S.W. (Australia), February 19, 1957.

Zusammenfassung

Die Kinetik der Penicillinhydrolyse durch Penicillinase aus *B. subtilis* ist mittels einer titrimetrischen Methode verfolgt und in Übereinstimmung mit der Gleichung von MICHAELIS und MENTEN befunden worden. Die pH-Abhängigkeit wird diskutiert.

⁹ E. MANSON, M. R. POLLOCK, and E. J. TRIDGELL, J. gen. Microbiol. 11, 493 (1954).

¹⁰ R. J. HENRY and R. D. HOUSEWRIGHT, J. biol. Chem. 167, 559 (1947).

Biochemical Predetermination in *Drosophila*

In their paper chromatographic study of the development of *Drosophila melanogaster*, HADORN and MITCHELL¹ demonstrated that the eggs contained a blue fluorescent substance referred to as Fl 6. The material disappeared at the beginning of larval stages and did not reappear until the end of larval life. In young adults Fl 6 was clearly demonstrated only in females. No other fluorescent materials were found in the *Drosophila* eggs. In *Ephestia kühniella* the eggs have been shown to contain several fluorescent compounds². DANNEEL and ZIMMERMANN found that the Fl 6 of HADORN and MITCHELL is kynurenine³. As would be expected, kynurenine was not found in *vermilion* (*v*) flies, since this mutant is unable to carry out the synthesis of kynurenine from tryptophane⁴.

The classical example of predetermination in *Ephestia* is believed to be due to the deposition of kynurenine or is some related compound in the eggs of kynurenine-containing females⁵. Thus the offspring of these females can form the ommochrome pigments derived from

Kynurenine in 200 eggs of various matings. The amount of kynurenine is expressed in terms of arbitrary units of fluorescence.

Mating	n	Fluorescence
+ + × +	6	120 ± 3,0
+ v × v	6	110 ± 5,0
v v × +	6	3,3 ± 1,1
v v × v	6	1,5 ± 1,2

kynurenine regardless of their genotypically induced inability to synthesize kynurenine. Maternal inheritance has also been demonstrated with regard to the egg pigments of the silkworm, *Bombyx mori*⁶. By means of paper chromatography and fluorescence measurements, kynurenine metabolism can readily be studied quantitatively despite the absence of visible pigments in *Drosophila* eggs. Therefore it appeared to be of some interest to investigate possible maternal effects in *Drosophila melanogaster*.

Eggs from a *vermilion* strain clearly lacked kynurenine even when 400 eggs were used for a single chromatogram. With wild type flies of the strain Sevelen, a spot corresponding in R_f and fluorescence with kynurenine could readily be demonstrated with 50 eggs. The eggs were collected, from standard food containing yeast, with a needle and squashed with a glass rod directly on the paper for chromatography. No special steps were taken to free the eggs from the yeast with which they were contaminated since chromatography of yeast alone showed no fluorescent spots which would interfere with measurements of kynurenine. Ascending chromatograms were prepared using propanol–1% aqueous ammonia (2:1) as the developing solvent. In experiments involving fluorescent measurements, 200 eggs 1 ± 1 h old were used. After the solvent front had moved ca. 22 cm the chromatograms were removed and dried at room temperature. Chromatograms were examined for fluorescence with a long wave length UV lamp. Measurements were made directly on the paper using the method of HADORN and KÜHN⁷. Eggs produced by the matings +v × v and vv × + were compared with each other and with homozygous + and v eggs. Both the above-mentioned matings are expected to produce 50% + containing eggs although obviously different with regard to sex and heterozygosity.

The results of the fluorescence measurements are shown in the Table. The data indicate that the kynurenine content of the eggs is determined by the genotype of the mother. No kynurenine could be detected in the eggs of a v female crossed with a + male, regardless of the fact that all female eggs were now heterozygous for +. This was also found to be true within the limits of the technique with 200 eggs from the same cross 7 ± 1 h old. The kynurenine which is present in 1 h eggs from + mothers gradually disappears and by 17 h can barely be detected on the chromatograms. The values for the crosses vv × + and vv × v in the Table are probably due to background fluorescence and do not demonstrate the presence of any kynurenine.

These investigations seem to indicate that kynurenine accumulates in the ovaries of *Drosophila* and is deposited in the eggs. Chromatograms of the ovaries from mature females reveal large amounts of this substance. It is not

⁶ H. KIKKAWA, Adv. in Genetics 5, 107 (1953).

⁷ E. HADORN and A. KÜHN, Z. Naturf. 8b, 582 (1953).

¹ E. HADORN and H. K. MITCHELL, Proc. nat. Acad. Sci. 37, 650 (1951).

² A. EGELHAAF, Naturwissenschaften 43, 165 (1956).

³ R. DANNEEL and B. ZIMMERMANN, Z. Naturf. 9b, 789 (1954).

⁴ G. W. BEADLE, Chem. Rev. 37, 15 (1945). – A. BUTENANDT, Naturwissenschaften 40, 91 (1953).

⁵ E. CASPARI, Z. Vererbungslehre 71, 546 (1936). – A. KÜHN and E. PLAGGE, Biol. Zbl. 57, 113 (1937). – A. KÜHN, Abh. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, Math.-naturw. Kl. 9, 1 (1943). – E. CASPARI, Quart. Rev. Biol. 24, 185 (1948).

known whether the kynurenine is synthesized predominantly in the ovaries themselves, or elsewhere and only accumulated in the ovaries. Most of the kynurenine in the eggs must be metabolized during embryonic development since it has virtually disappeared at the time of hatching. It would not seem to be essential since there is almost certainly none present in the fully viable eggs of vermilion mothers. The kynurenine actually formed by + embryos, if any, must be much less than that ordinarily deposited in the eggs.

This work would appear to demonstrate a clear case of maternal predetermination. The phenotype of the egg is determined solely by the mother. In some respects it resembles rather closely the classical example of predetermination in *Ephestia*. In addition it demonstrates, as does the work on the mutant biochemica of *Ephestia*⁷, how simple biochemical techniques reveal striking differences that are not detectable by classical morphological methods.

The author is very grateful to Professor ERNST HADORN for his advice and assistance.
The work was aided by a postdoctoral fellowship grant of the American Cancer Society.

G. E. GRAF

Institute of Zoology and Comparative Anatomy, University of Zürich (Switzerland), June 6, 1957.

Zusammenfassung

Der Gehalt an Kynurenin in Eiern von *Drosophila melanogaster* wurde papierchromatographisch untersucht. Ein Vergleich verschiedener Kreuzungen zwischen dem Wildtyp und der Mutante *vermilion* (*v*) zeigt, dass die Kynureninmenge mütterlich bestimmt wird und vom Genotypus der Eier unabhängig ist.

Vegetative Entwicklung und Fertilität einiger annueller Pflanzenarten unter dem Einfluss verschiedener konstanter Temperaturen

Der Einfluss konstanter Temperaturen unter gleichzeitigen konstanten Verhältnissen des Lichtes (Dauerlicht von 3500 ± 150 Lux) auf vegetative Entwicklung und Fertilität einiger annueller Pflanzenarten wurde im

Earhart Plant Research Laboratory¹ untersucht. Die Arten waren nach dem Gesichtspunkt verschiedenen Verhaltens gegenüber der Temperatur in ihrem spontanen Vorkommen ausgewählt worden. Sie wurden in Vermiculite, der mit einer Nährlösung gleichmässig feucht gehalten war, herangezogen². Die Messungen und Bestimmungen, deren Ergebnisse hier dargestellt sind, erfolgten, wenn ein bestimmter gut kenntlicher Entwicklungszustand erreicht war². Die Variabilität der untersuchten Eigenschaften geht aus der Tabelle hervor, in der neben den aus den einzelnen Wiederholungen (12) errechneten Mittelwerten die mittleren Fehler (*m*) angegeben sind. Bevor die Pflanzen den oben und in den Abbildungen gekennzeichneten Bedingungen ausgesetzt waren, wuchsen sie in Gewächshäusern mit kontrollierten Temperaturen (23° von 8 bis 16 Uhr, 17° von 16 bis 8 Uhr) im natürlichen Licht, bis *Setaria pumila* 3, die anderen Arten 4 Blätter entwickelt hatten.

Die einzelnen Arten zeigen in konstanten Temperaturen teilweise ein sehr gegensätzliches Verhalten. *Setaria pumila* besitzt zum Beispiel in einer hohen Temperatur (26°C) optimale Höhe; bei dieser hohen Wärme vermag dagegen *Senecio vulgaris* unter den Versuchsbedingungen nicht auf die Dauer zu leben. Bei *Senecio vulgaris* sind die Pflanzen bei tiefen Temperaturen (7°C) am höchsten, bei denen *Setaria pumila* sich nicht entwickeln kann. Die Optima für verschiedene Eigenschaften der gleichen Art können aber auch an unterschiedlichen Stellen liegen³. Es ergibt sich namentlich, dass die günstigen Verhältnisse für die Fertilität meist auf einen viel engeren Temperaturbereich beschränkt sind als diejenigen für das vegetative Wachstum. Zum Beispiel zeigt *Agrostemma githago* bei 7°C noch ein ausgezeichnetes, allerdings langsames Wachstum und zahlreiche grosse Blüten. Jedoch besitzen die Früchte bei diesen Temperaturen unter den Versuchsbedingungen keine fertilen Samen mehr. *Galinsoga parviflora* besitzt bei 26°C noch ein gutes Höhenwachstum. In den Körbchen erscheinen noch zahlreiche Blüten, die jedoch durchwegs steril sind. Die Optima für die Anzahl der fertilen Samen und Früchte liegen meist mehr in mittleren Temperaturbereichen als diejenigen der an-

¹ F. W. WENT, *Chronica Botanica* 12, 89 (1950).
² Weiteres hierüber in: R. KNAPP, *Ber. dtsch. bot. Ges.* 69, 399 (1956).
³ Hierüber auch in: A. H. BLAAUW *et al.*, zit. in F. W. WENT, *Ann. Rev. Plant Phys.* 4, 347 (1953). Ferner in R. KNAPP, *Angew. Botanik* 29, 125 (1955).

Tabelle

	<i>Agrostemma githago</i> bei 14°C	<i>Galinsoga parviflora</i> bei 14°C	<i>Setaria pumila</i> bei 23°C	<i>Senecio vulgaris</i> bei 10°C
Höhe des Sproßsystems (cm) . . .	99,6 ± 3,73	112,1 ± 2,02	93,9 ± 2,55	77,5 ± 3,18
Trockengewicht (Sproßsystem, g). Anzahl der Früchte bzw. Fruchtstände pro Pflanze ⁴	3,19 ± 0,165 3,4 ± 0,21	7,40 ± 0,528 620,5 ± 10,4	2,14 ± 0,149 3,17 ± 0,23	1,45 ± 0,086 42,3 ± 2,0
Anzahl der fertilen Samen bzw. Früchte pro Frucht bzw. Fruchtstand ⁵	31,8 ± 1,36	24,9 ± 1,12	—	37,0 ± 2,1
Gesamtzahl der Samen bzw. Blüten oder Ährchen pro Frucht oder Blütenstand ⁶	32,7 ± 1,37	32,3 ± 4,55	129,4 ± 4,55	52,3 ± 2,6

⁴ Bei *Agrostemma* Früchte, bei den anderen Arten Fruchtstände pro Pflanze.
⁵ Bei *Agrostemma* fertile Samen pro Frucht, bei *Galinsoga* und *Senecio* fertile Früchte pro Körbchen.
⁶ Fertile und sterile Samen bzw. Blüten. Bei *Agrostemma* Samen pro Frucht. Bei *Galinsoga* und *Senecio* Blüten pro Körbchen. Bei *Setaria* Ährchen pro Blütenstand.