

On the Eye Cup–Lens Correlation in some South African Amphibians

During the breeding season of 1949 I had the opportunity of studying the lens development in six South African toads and frogs. To test the ability of the epidermis to produce a lens independently of the eye cup, I excised with a glass needle the eye-forming region of the neural plate. An attempt was made not to remove the roof of the archenteron underlying the neural plate, but this was not always successful. The operated embryos were fixed and sectioned in the early tadpole stage when the normal lens had already been formed. The following table shows the results of the experiments.

Species	No. of operations	Successful (Eyes absent or small and isolated from the skin)	Lens pres. in spite of absence of eye cup
<i>Rana angolensis</i> (Bocage) . .	3	2	2
<i>Pyxicephalus natalensis</i> Smith	15	8	0
<i>Phrynobatrachus natalensis</i> (Smith)	5	3	0
<i>Bufo regularis</i> Reuss	8	8	0
<i>Bufo carens</i> Smith	6	6	0
<i>Xenopus laevis</i> (Daud) . . .	17	9	5

Of the five lenses found in *Xenopus laevis* two have distinct lens fibres (fig. 1). The lenses are large, though smaller than the normal lenses of controls. In the three remaining cases the lenses are less developed, show no traces of fibre differentiation, and resemble early lens rudiments in the stage when they have just been separated from the epidermis and rounded off. The mechanism of lens development in *Xenopus laevis* conforms therefore to that found in *Rana esculenta* which had so far been known as the only example of a far-reaching “independent” lens development (see literature cited in MANGOLD, SPEMANN, NEEDHAM¹).

The two rudiments found in *Rana angolensis* are very small spherical bodies consisting of but a few cells without specific differentiation. This species conforms to the

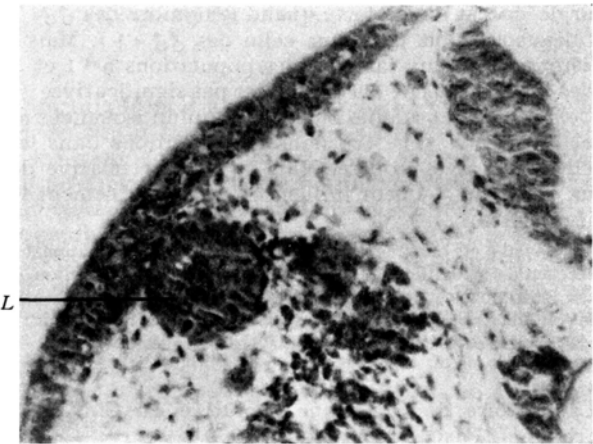


Fig. 1.—*Xenopus laevis*. Lens (L) which developed after complete removal of the eye cup in the neurula stage.

¹ O. MANGOLD, *Ergebn. Biol.* 7, 193 (1931). — J. NEEDHAM, *Biochemistry and Morphogenesis* (Cambridge University Press, 1942). — H. SPEMANN, *Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung* (Julius Springer, Berlin, 1936).

type of development found in *Bombinator pachypus*–*Rana fusca*. The rest of the species investigated belong to the Triton type of lens development.

A further similarity between *Xenopus laevis* and *Rana esculenta* (as investigated by SPEMANN) lies in the size relationships between the eye cup and the lens. In a number of cases the eye rudiments were not totally removed, and small eyes were therefore found to have developed. In *Xenopus laevis* in such cases the lenses are invariably out of proportion to the eye-cup (fig. 2). I have compared the relation in size between the eye cup and lens in two species, *Xenopus laevis* and *Pyxicephalus natalensis*, by drawing every section of the eye cup and lens on cardboard, cutting the drawings out and weighing them. Unoperated as well as operated eyes have been treated in this way, and figures 3 and 4 show the results obtained.

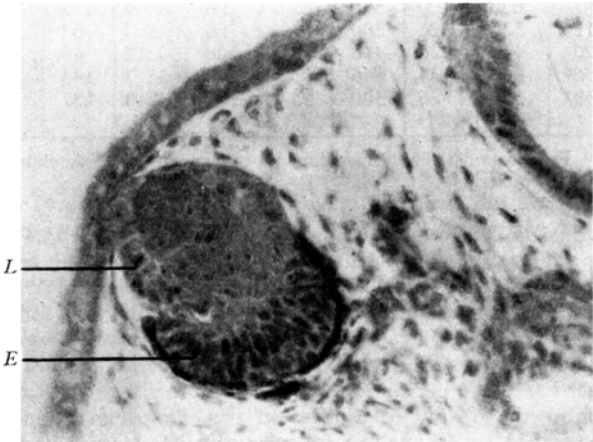


Fig. 2.—*Xenopus laevis*. Disproportionate development of the lens (L) after partial removal of the eye cup rudiment in the neurula stage. E = diminished eye cup.

The graphs clearly show a difference between the two species: whereas in *P. natalensis* there is an approximately rectilinear relationship between the size of the eye and of the lens, in *X. laevis* the curve representing the relation of lens size to eye cup size rises very sharply at first and approaches a horizontal later. To test the data statistically it is not convenient to operate with the volumes of eye cup and lens owing to the curvilinear regression in the case of *X. laevis*. It was found however that the relation of Log. lens volume/Log. eye cup volume is rectilinear in both species. Accordingly the regression of the logarithms of lens and eye cup was calculated. The cases with a zero value for either eye or lens had, of course, to be omitted.

For *X. laevis* the regression coefficient (*b*) was found to be 0.21 with standard deviation (*s_b*) = 0.035, in *P. natalensis* *b* = 0.79 with *s_b* = 0.258. The difference between the regression coefficients is 0.57 with standard deviation of 0.261. As the difference between the two regression coefficients divided by the standard deviation of the difference follows the *t* distribution, we find *t* = 2.186, which for 18 degrees of freedom corresponds to a probability level of approximately 0.05. The difference is therefore significant, and this proves that the dependence of lens size on the eye cup size is of a different type in the two species. Setting the fiducial limits at the probability level of 0.05 in *X. laevis* we obtain the values of 0.14 and 0.29. It is very obvious, therefore, that the regression of lens volume on eye cup volume (without logarithmic transformation) is curvilinear, as a

rectilinear regression of volumes would, in logarithmic transformation, become a regression with a coefficient = 1. A coefficient of 0.79 for the logarithmic regression in *P. natalensis* implies a slight curvilinearity of the volumes' regression. However the sampling errors in this species are rather high, and the fiducial limits set at $P = 0.05$ overlap the unity value. If the true regression coefficient were actually unity, it would signify that the inherent properties of the epidermis from which the lens rudiment is derived play no part in determining the size of the lens in *Pyxicephalus natalensis*.

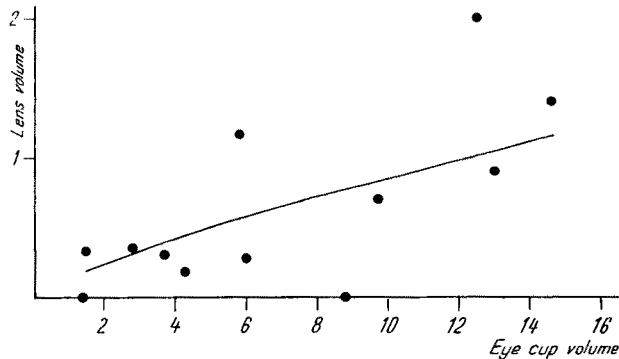


Fig. 3.—Shows regression of lens size on eye cup size in *Pyxicephalus natalensis*. The lens volume (in grams of the cardboard reconstruction) is plotted against eye cup volume. The approximated curve has been derived by fitting the rectilinear regression of Log. lens/Log. eye cup by the method of least squares.

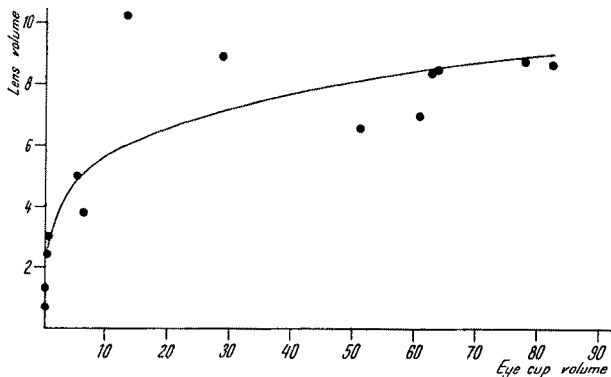


Fig. 4.—Shows regression of lens size on eye cup size in *Xenopus laevis*. The lens volume (in grams of the cardboard reconstruction) is plotted against eye cup volume. The approximated curve has been derived by fitting the rectilinear regression of Log. lens/Log. eye cup by the method of least squares.

My experiments do not give any new indications as to what causes the differences in the comportment of the lens rudiment in the various species of Amphibians. In connection with TEN CATE's paper¹ it must be stated, however, that the eggs of *Xenopus* were not cooled before the operation. A general conclusion which can be drawn from the experiments reported here is that specific differences in the mechanism of lens development do actually exist.

B. I. BALINSKY

Department of Zoology, Witwatersrand University
Johannesburg (South Africa), September 25, 1950.

Zusammenfassung

Das Verhalten des linsenbildenden Materials nach Exstirpation der Augenbecheranlage im Neurulastadium ist bei den sechs untersuchten Arten verschieden. Bei

Pyxicephalus natalensis Smith, *Phrynobatrachus natalensis* (Smith), *Bufo regularis* Reuß und *Bufo carens* Smith wird kein Linsenrudiment gebildet. Bei *Rana angolensis* (Bocage) wurden kleine rundliche, undifferenzierte Zellaufen gefunden. Bei *Xenopus laevis* (Daud) haben sich zweifellos Linsen entwickelt mit Faserndifferenzierung in den besten Fällen. Nach unvollständiger Beseitigung der Augenbecheranlage waren die Linsen bei der letztgenannten Art viel zu groß für den verkleinerten Augenbecher. Bei *Pyxicephalus natalensis* dagegen war die Linsengröße der Augenbechergröße proportional. Eine statistische Behandlung der Angaben hat gezeigt, daß die Regression der Linsengröße zur Augenbechergröße bei diesen zwei Arten eine signifikant verschiedene Form hat. Der Mechanismus der Linsenentwicklung bei *Xenopus laevis* ist demjenigen bei *Rana esculenta* ähnlich.

Veränderungen der Kerngrößen bei Molchlarven nach Amputation und Narkose¹

Gut vergleichbare, wenn auch nur relative Werte der Kerngrößen wurden erhalten, indem an fixierten (Bouin) und gefärbten (saures Hämalaun nach P. MAYER) Schwanzspitzen gleichaltriger und im gleichen Entwicklungsstadium befindlicher Larven von *Triton alpestris* die Epidermiskerne mittels Abbeschem Zeichenapparat herausgezeichnet und anschließend die Fläche der so erhaltenen Kernprojektionen planimetrisch ausgemessen wurde. Da alle verwendeten Einrichtungen dauernd dieselben waren, die Molchhaut ein einschichtiges Epithel darstellt und nur an Totalpräparaten gearbeitet wurde, sind die möglichen Fehler sehr stark reduziert.

Zur Bestimmung der Normalgrößen wurden 5 Tieren (Kontrolle), die als ganze direkt fixiert worden waren, nach etwa 15 Minuten noch in der Fixierlösung die Schwanzspitzen abgeschnitten. Zur Kerngrößenbestimmung kamen hier, wie auch bei den weiteren Versuchen, nur Kerne zur Verwendung, die mindestens ein bis zwei Zellreihen von der Schnittfläche entfernt waren. Bei jedem Tier wurden 100 nebeneinanderliegende Kerne ausgewertet, und zwar je 50 von der dorsalen und 50 von der ventralen Seite.

In einem ersten Versuch wurden weitere 5 Tiere lebend in Holfreterische Lösung gebracht und ihnen nach einigen Minuten die Schwanzspitzen amputiert. Diese überlebenden Spitzen blieben 20 Minuten in Holfreterischer Lösung und wurden dann fixiert. Die Kerngrößenbestimmung erfolgte wie oben.

In einem zweiten Versuch wurden die amputierten Schwanzspitzen 16 Stunden in Holfreterlösung gehalten und dann fixiert.

Im dritten Versuch wurden die amputierten Schwanzspitzen 25 Minuten überleben gelassen. Die Versuchsanordnung war hier insofern verändert, als der Holfreterlösung noch 0,5 Vol. % Äther zugesetzt war.

Da bei allen Versuchen Mitosen angetroffen wurden und nur in der unmittelbaren Wundzone pyknotische Kerne auftraten, kann eine stärkere Schädigung der untersuchten Gewebe ausgeschlossen werden. Osmotische Effekte waren nicht zu erwarten, da die Holfreterische Lösung ein weitgehend isotonisches Medium darstellt. Ebenso können direkte Wirkungen des Nervensystems bei der angewendeten Versuchsanordnung vernachlässigt werden, da nur die Schwanzspitzen Verwendung fanden und diese keine direkte Verbindung

¹ G. TEN CATE, Ned. Tijdschr. Geneesk. 90 (1946).

¹ Vorläufige Mitteilung.