

動物学雑誌 ZOOLOGICAL MAGAZINE 73: 136-140. (1964)

## モリアオガエル幼生のアンモニアおよび尿素排出について

有 馬 四 郎

奈良市 奈良女子大学理学部動物学教室

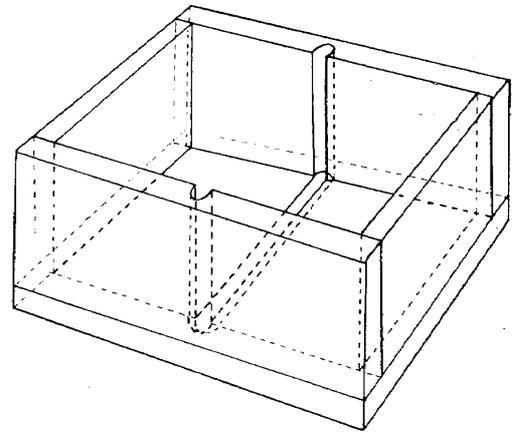
昭和 39 年 2 月 6 日 受領

両生類幼生の発生初期から、変態終了時までの含窒素排出物、特にアンモニアと尿素排出量の変化やアルギナーゼ活性度については、Munro (1939, 1953) Arima (1958, 1961) の報告がある。このアンモニアや尿素が鰓から排出されるのか、あるいは腎臓を通して、肛門から排出されるのかは問題であって、わずかに Munro (1953) の *Axolotl* についての簡単な報告があるに過ぎない。彼によると、初期の幼生では、排出する全アンモニアと尿素総量の和の 35%、後期の幼生では、10%が体の前部から出されるといっただけで、どこからとはいっていない。いっぽう、Smith (1929) によると、魚類の成体では、アンモニアや尿素は鰓からのみ排出される。したがって、両生類の幼生でも鰓から排出される可能性がある。そこで、モリアオガエルを材料とし、孵化後変態終了までのいろいろの发育段階にある幼生について、これを調べてみた。ここにその結果を報告する。

## 材 料 と 方 法

鰓のある体の前部から排出される量と、肛門のある体の後部から排出される量を区別するために、第 1 図に示すような  $5 \times 7 \times 4.5$  cm のガラスの小飼育そうをつくった。両側面の中央および底面には細い溝がつけられていて、この溝に厚さ 0.1 cm の弾力のあるゴム板をはめこみ、飼育そうを前後 2 部屋に区切れるようになっている。パラフィンでゴム板のまわりを封じるので、実験中に両部屋の水は混合しない。ゴム板には、発生段階に応じて、直径 0.15—0.7 cm の穴を 1—3 個あらかじめつめておく。幼生を頭の方からこの穴にさし込む。若い外鰓時期には、外鰓のすぐ後方までを前室に入れ、内鰓時期には、呼吸孔までを入れる。後肢生長期には、後肢の付根まで入れるが、後肢は後室に常に残るようにする。このようにして、体を鰓のある前部と肛門のある後部に分けて保つ。穴に通した後しばらくは、尾部に血流の停滞がみられるが、30 分から 1 時間後には、それがみられなくなる。初期の幼生では、2—3 個体、後期の幼生から変態期までのものでは、1 個体だけを穴に通し、前後の部屋には、それぞれ 5—

10 ml のホルトフレーター液を入れ、10—15°C で、24—48 時間飼育した後、前後の飼育液内に排出されたアンモニア量と尿素量をそれぞれ Conway 法 (Conway, 1950) で定量した。



第 1 図 飼育そう

実験には、便宜上幼生をつぎの 6 段階に分けた。すなわち、孵化後 10 日までの幼生 (St. I), 孵化後 20 日から 30 日までの幼生 (St. II), 後肢に指の分化がはっきりしてきた幼生 (St. III), 後肢の長さが変態完了時の半分位に发育した幼生 (St. IV), 後肢は十分発達し、前肢がまだ皮下にある時期 (St. V), 前後肢ともに出現し、尾の退化が進行中の幼生 (St. VI) の 6 段階である。なお、最後の St. VI のものでは、尾の長さや体長との比較で、変態の進捗を示した。

## 結 果

各発生段階ごとに、前後両部から排出されるアンモニアと尿素の量を測定し、その比およびアンモニア+尿素の総排出量に対するアンモニア排出量の割合を求めたものを、第 1 表に示す。

この表でもわかるように、アンモニア+尿素の総排出量に対するアンモニア排出量の変化をみると、St. IV には 80—90% の高い値を示すが、St. V からやや低下の傾向を示し、St. VI に入るとともに急速に減少し、変態完了直前には、10% に低下する。

つぎに、体の前部と後部から排出されるアンモニ

アの量的変化をみると、St. I の外鰓から内鰓に移る時期には、後部からの排出量がやや多いが、St. III—St. V のあいだでアンモニア排出量が著しく増加する時期には、前部からの排出量が約 60 から 90% と極めて高い値を示す。このことは、この時期の主要な排出場所が、鰓のある前部、恐らくは鰓であることを示している。また、表によると、St. VI になると、主要な含窒素排出物が、アンモニア

から尿素の形に転換することがわかるが、この時期になると、前部から排出されるアンモニア量も著しく減少してくる。

他方、尿素の排出は、St. I, St. II では、微量のために定量できなかったが、St. III—St. IV の排出量の比較的少ない時期には、前部と後部との間に著しい差は認められない。ところが、変態完了直前の St. V になると、後部からの排出量が増加し、

第 1 表 孵化後から変態終了までのモリアオガエル幼生の各発生段階における体の前部および後部から排出されるアンモニア量・尿素量とその割合

発生時期	実験番号	NH <sub>3</sub> -N(mg/100 個体/24時間)		前部排出量 : 後部排出量	尿素-N(mg/100 個体/24時間)		前部排出量 : 後部排出量	NH <sub>3</sub> -N : NH <sub>3</sub> -N+尿素-N (%)
		前室	後室		前室	後室		
St. I 孵化後 4 日 " " 孵化後 7 日 孵化後 10 日	1	0.103	0.184	36 : 64				
	2	0.147	0.219	40 : 60				
	3	0.081	0.096	46 : 54				
	4	0.090	0.218	29 : 71				
	5	0.147	0.362	27 : 73				
St. II	1	0.257	0.273	48 : 52				
	2	0.336	0.207	62 : 38				
	3	0.186	0.172	52 : 48				
	4	0.307	0.293	51 : 49				
	5	0.222	0.182	55 : 45				
	6	0.675	0.479	58 : 42				
St. III	1	2.378	0.221	92 : 8				
	2	0.974	0.267	78 : 22	0.426	0.431	50 : 50	59
	3	1.001	0.628	61 : 39	0.548	0.411	57 : 43	63
	4	0.657	0.426	61 : 39	0.092	0.046	67 : 34	89
	5	2.125	0.642	77 : 23	0.221	0.642	26 : 74	76
	6	2.158	0.526	80 : 20	0.363	0.453	44 : 56	73
St. IV	1	1.942	0.286	87 : 13	0.092	0.095	49 : 51	92
	2	2.763	0.351	89 : 11	0.267	0.285	48 : 52	83
	3	3.294	1.021	76 : 24	0.292	0.560	35 : 65	84
	4	3.639	1.506	71 : 29	0.176	0.063	73 : 27	96
	5	5.932	1.272	82 : 18	0.852	0.718	54 : 46	82
	6	6.592	3.548	65 : 35	0.650	0.831	44 : 56	87
St. V	1	3.164	0.336	90 : 10	0.647	1.200	35 : 65	65
	2	3.179	0.443	88 : 12	0.161	1.424	10 : 90	70
	3	3.479	0.439	89 : 11	0.346	1.601	37 : 63	79
	4	6.017	0.888	87 : 13	0.375	0.980	28 : 72	83
St. VI 尾の長さ/体長(cm) (1.8/3.5) (1.4/3.0) (1.3/3.3) (1.4/3.4) (0.6/2.6) (0.1/2.0)	1	1.078	0.680	61 : 39	0.676	1.313	34 : 67	47
	2	1.712	0.295	85 : 15	1.630	2.184	43 : 57	34
	3	1.708	0.868	66 : 34	0.309	2.224	12 : 88	50
	4	2.126	0.752	74 : 26	1.855	5.351	26 : 74	29
	5	0.660	0.820	45 : 55	5.016	8.469	37 : 63	10
	6	0.783	0.531	60 : 40	3.536	8.441	30 : 70	10
対照 St. I " " St. II St. IV St. VI (1.3/3.0)	1	0.301						
	2	0.475						
	3	0.245			0.178			58
	4	3.335			0.930			78
	5	3.186			5.932			35

第2表 変態中 (St. VI) のモリアオガエル幼生の前部および後部から排出されるアンモニア量・尿素量の変化

個体番号	尾の長さ 体長 (cm)	NH <sub>3</sub> -N(mg/100 個体/24時間)		前部排出量 : 後部排出量	尿素-N(mg/100 個体/24時間)		前部排出量 : 後部排出量	NH <sub>3</sub> -N / NH <sub>3</sub> -N+尿素-N (%)
		前室	後室		前室	後室		
1	1.4/3.0	1.712	0.295	85 : 15	1.630	2.184	43 : 57	34
	1.1/2.8	0.042	0.105	29 : 71	1.683	3.370	33 : 67	3
	0.4/2.4	0.032	0.121	21 : 79	0.265	1.932	12 : 88	7
2	1.8/3.5	1.078	0.680	61 : 39	0.676	1.313	34 : 67	47
	1.2/3.0	0.391	0.184	68 : 32	0.190	0.861	18 : 82	35
3	0.6/2.6	0.660	0.820	45 : 55	5.016	8.469	37 : 63	10
	0.4/2.4	0.681	0.848	45 : 55	3.857	7.654	33 : 67	12
	0.2/2.2	0.070	0.302	19 : 81	2.419	3.501	41 : 59	5

St. VI はさききのべたように、アンモニアから尿素への転換が起こる時期であるが、この時期には尿素の排出量は著しく高まり、とくに後部からの排出量はその 57—88% を占めるようになる。

第2表は St. VI にある個体を 3—5 日間同じように前・後両室に区切った飼育そうに入れ、絶食状態でアンモニアと尿素の排出量の変化を調べた結果を示している。絶食に保っているため、アンモニアや尿素の総排出量は変態の進行とともに著しく減少するが、その減少は体の前部から出されるアンモニアの排出量において、とくに著しいといえよう (個体番号 1, 3)。したがって、変態完了にちかい個体ではアンモニアの総排出量に対する割合も急速に低下している (個体番号 3)。

### 考 察

両生類の幼生が含窒素代謝産物を排出する場所として考えられるのは、鰓、肛門、皮膚の三つである。Smith (1929) は、魚類成体のアンモニアや尿素は鰓から排出され、肛門や皮膚からの排出はみられないのべている。

本実験では、主としてアンモニアの形で排出する変態前の幼生のうち、外鰓時期には、後部からの排出量の割合がやや高い。しかし、発生が進み前後両部ともアンモニア排出量が増加すると、とくに、前部における増加が著しいので、全量の約 60—90% をここから出すようになる。しかし、変態期に入り、排出する含窒素物の形がアンモニアから尿素に変わ

るとともに、アンモニアの排出量は著しく減少する。ことに前部からのアンモニア態での排出の減少は著しいが、しかし、最後まで依然として前部からの排出が高い率を示していることは注目に値する。

変態期前までの幼生では、鰓の働きが極めて活発であるから、この時期に体の前部から多量のアンモニアが排出されるのは、主としてこの器官を通じてであろうことが容易に考えられる。しかし、鰓の退化が進み、その働きが急速に衰えた変態完了時に近いものでも、なお体の前部から排出されている。これは恐らく皮膚を通じて行なわれるものと思われる。

つぎに、変態完了直前からの窒素の排出は主として尿素態で行なわれることがわかるが、この尿素は体の後部から排出される方が多い。この時期には、Munro (1939, 1953), Brown and Cohen (1958), Arima (1961) によれば、肝臓機能が著しく高まることが明らかである。また、Truskovski and Czuperski (1933) は、この時期から中腎機能が活発になるとのべている。したがって、変態完了直前から増加する尿素は肝臓で生成され、中腎を通して主として肛門から排出されるものと思われる。

外鰓期には、技術的にわけ易い外鰓のすぐ後を前後部の境界としているから、前部に比べ、後部の体表面積は著しく広い。それより発生の進んだものでは呼吸孔の後、更に進んだものは後肢の前をそれぞれ境界としているために、前部の体表面積が漸次広がっている。外鰓期に体の後部からのアンモニア

排出量の方が多いのは、鰓の働きがまだ不十分なことと、皮膚より排出されているためであると考えた。このことは、変態完了期に前部からの尿素排出量が全尿素排出量増加とともにやや増加することからも推定される。このように皮膚からアンモニアや尿素が排出されるという点は、Smith (1929) の魚類成体のアンモニアや尿素が鰓からのみ排出され、皮膚や肛門からは排出されないという結果と異なっている。両生類の皮膚からアンモニアや尿素が排出されるという考え方はいまままで極めて少なく、筆者の知る限りでは、ただ Pryzlecki *et al.* (1923) の、蛙の非蛋白性窒素の排出は、大部分皮膚を通して行なわれるらしいという報告があるに過ぎない。

また、Munro (1953) の *Axolotl* を用いた実験結果によると、前部からのアンモニアと尿素の総排出量は、St. IV では 35%、St. VI では 10% であって、本実験の St. IV では、アンモニアにおいては 65—89%、尿素においては 35—73%、St. VI では、アンモニアにおいては、45—85%、尿素においては、12—43% であったのに比べて極めて低い値を示している。これは実験操作の違い、すなわち、彼は 3 日間以上絶食した個体を 3 時間飼育した後に測定していることが原因の一つと思われる。また、種類の違いも原因であるかも知れない。これについてはあとで検討したいと思っている。

いずれにしても本実験でモリアオガエルは、アンモニア排出と尿素排出の主な場所が鰓と肛門とに変態を境にしてわかれていることが明らかとなった。

#### 要 約

1. モリアオガエル幼生を、鰓がある前部と肛門がある後部との二つに区切って、それぞれ排出されるアンモニアと尿素量を測定した。
2. 変態完了までは、窒素代謝の終産物は主としてアンモニア態で排出され、しかも、その大部分は鰓から排出される。
3. 変態完了期から完了後に排出される主要な含窒素物は尿素態で、この大部分は腎臓から肛門を経て排出される。
4. 幼生では、鰓と肛門から排出される以外に、皮膚からも一部排出される。

#### 謝 辞

本研究に対し絶えず御助言、御支援を下された京都大学市川衛教授に厚く御礼申し上げます。

#### 文 献

- ARIMA, S. (1958) Studies on the end-products of metabolism in the early developmental stages of amphibia. IV Ammonia-, and iron-contents in the perivitelline fluid of *Rhacophorus schlegelii* var. *arborea*. *Annot. Zool. Japon.* 31: 136-140.
- (1961) Problems of metabolism of amphibian embryo and larva in relation to organogenesis. *J. Fac. Agr. Tottori Univ.* 4: 58-96.
- BROWN, G.W. AND P.P. COHEN (1958) Biosynthesis of urea in metamorphosing tadpoles. *A Symposium on the Chemical Basis of Development.* (edited by McElroy and Glass) pp. 495-513.
- CONWAY, F.J. (1950) Micro-diffusion analysis and volumetric error. London.
- MUNRO, A.F. (1939) Nitrogen excretion and arginase activity during amphibian development. *Biochem. J.* 33: 1957-1965.
- (1953) The ammonia and urea excretion of different species of amphibia during their development and metamorphosis. *Biochem. J.* 54: 29-36.
- PRYZLECKI, St. J., J. OPIENSKA AND H. GIEDROYE (1923) L'excrétion substances azotées chez les grenouilles, a différentes températures. *Arch. Internat. Physiol.* 20: 207-212.
- SMITH, H.W. (1929) The excretion of ammonia and urea by the gills of fish. *J. Biol. Chem.* 23: 717-742.
- TRUSKOVSKI, R. AND H. CZUPERSKI (1933) Development of uricase in tadpoles of *R. temporaria*. *Biochem. J.* 27: 66-68.
- ABSTRACT** Excretion of Ammonia and Urea in *Rhacophorus* Tadpoles. S. ARIMA (Zoological Institute, Faculty of Science, Nara Women's University, Nara) *Zool. Mag.* 73: 136-140. (1964)
- The quantity of ammonia and urea excreted anteriorly via the gills and posteriorly via the anus of *Rhacophorus* tadpoles were measured respectively from the time of hatching to the

end of metamorphosis.

As is seen in Table 1, the nitrogenous waste substances are mainly excreted in the form of ammonia up to the beginning of metamorphosis, 60-90% of the total ammonia apparently being discharged anteriorly, mainly through the gills.

On the other hand, urea is predominantly excreted from the metamorphosing tadpole, a large amount of it being expelled from the

posterior region, probably through the mesonephros. Furthermore, it seems likely that a small amount of ammonia and urea is excreted through the skin of the tadpoles, because in addition to the excretion of ammonia in small amounts, a moderate increase in the excretion of urea from anterior regions occurs even after the disappearance of gills. (Received February 6, 1964)