

■原 著■ 2023 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

両生類幼生を用いたマイクロプラスチックの誤食による 環境汚染の研究

吉本茉歩^{1,3} 内藤 凱¹ 深野 元¹ 神山風鳴¹ 薩摩 透¹ 原 和也¹
秋永 薫² 茂木和枝² 藤田深里^{1,2} 藤原 研^{1,2} 豊泉龍児^{1,2}

Study on Accidental Ingestion of Microplastics by Anuran Larvae

Maho Yoshimoto^{1,3}, Gai Naito¹, Hajime Fukano¹, Kazenaru Kouyama¹,
Toru Satsuma¹, Kazuya Hara¹, Kaoru Akinaga², Kazue Mogi², Misato Fujita^{1,2},
Ken Fujiwara^{1,2} and Ryuji Toyoizumi^{1,2}

¹ Department of Science, Faculty of Science, Kanagawa University, Yokohama City, Kanagawa 221-8686, Japan

² Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Yokohama City, Kanagawa 221-8686, Japan

³ To whom correspondence should be addressed. yoshi023913@gmail.com

Abstract: Environmental pollution by numerous microplastics is one of the serious problems for all living things. We are apt to regard microplastic pollution as a matter of oceanography, but many of the difficulties may also be common to freshwater environments. Aquatic amphibian larvae may be exposed to microplastics. Based on this standpoint, we aim to create a model system to evaluate the microplastic problem under laboratory conditions. First, we applied polystyrene microbeads to *Xenopus laevis* larvae, amphibian model organisms. *Xenopus* larvae earnestly ingested the microbeads and the developing guts were filled by the beads, and the larvae of other anuran species (*Xenopus borealis* and Japanese *Dryophytes japonica*, *Microhyla okinavensis*) also frequently ingested the polystyrene microbeads. *Xenopus* larvae fed on polypropylene beads, polyethylene beads, and glass beads, suggesting that, irrespective of the material of the microbeads, *Xenopus* larvae tend to eat them if they are of an appropriate size. In contrast, neither of the urodelan larvae of *Pleurodeles waltl* nor *Tylotriton verrucosus* ingested the polystyrene beads, suggesting a difference in the recognition of food particles between anuran and urodelan larvae. As a first step to promoting the conservation of anural larvae against microplastics, we administered cadaverine-coated beads to *Xenopus* larvae, because cadaverine is known to induce escape behavior in the presence of teleost model species, zebrafish. After administration, *Xenopus* larvae did not prefer the smell, but we could not succeed in stopping the ingestion of microbeads. Taken together, anuran larvae have a strong tendency to eat various microbeads, so we propose that we should continue protecting fragile amphibian larvae against microplastic pollution.

Keywords: anuran, urodelan, microplastics, microbeads, environmental pollution

序論

SDGsの世界共通の目標として取り上げられている
貧困やエネルギー問題の中に、緑の豊かさや海の豊
かさといった環境問題が示されている。マイクロプ
ラスチックは環境汚染や海棲生物への影響から海洋
の環境問題へと直接的に関係している。

マイクロプラスチック（以下、 μP ）は、プラスチッ
クごみの中でも直径5 mm以下の大きさになったも
のものを指す。一次 μP と二次 μP に大別されてお
り、一次 μP は化粧品や洗顔料に含まれるビーズや
スクラブなどに由来する人工微小粒子のことを示す。

二次 μP は、生活用品に使われる人工的なプラスチック（ポリスチレン、ポリエチレン、ポリ塩化ビニル、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン等）が紫外線や漂流による相互摩擦などによって劣化・分解されたものである。 μP は海洋や河川、湖などの海水・淡水域の生態系に大きな影響を及ぼしており、さまざまな生物が誤食、または餌とともに取り込んでいると考えられる¹⁾。また μP は人工プラスチックに含まれている可塑剤、着色料、安定剤から、フタレート類やビスフェノール A を含むビスフェノール類などの化合物を放出する。さらに周囲の海水中のダイオキシンや DDT（ジクロロジフェニルトリクロロエタン）、PCB（ポリ塩化ビフェニル）などの汚染物質を吸着し、10-100 万倍の濃度にまで濃縮する性質があり、生分解耐性が高く生物体内で消化・分解することができない²⁾。 μP を誤食した生物は組織の物理的な損傷の他、酸化ストレスや免疫関連遺伝子発現の変化を引き起こし、濃縮された汚染物質による神経毒性や成長遅滞、肝機能障害、行動異常が生じる可能性がある³⁾。 μP は食物連鎖の下位に位置する動物性プランクトンの体内でも確認されており、プランクトンより上位の生物にも μP 汚染が進み、人体への影響も懸念される。

本研究では、誤食の回避を試みるために死臭物質の cadaverine を使用した。Hussain らの 2013 年の論文で、腐敗した体から発せられる cadaverine や putrescine などのジアミンがゼブラフィッシュの嫌悪感を誘発し、強い回避行動を引き起こすことが示唆されている⁴⁾。そのため microbeads に cadaverine を吸着させることで両生類幼生に死臭への嫌悪感を抱かせ、誤食回避が可能なのではないかと考えた。

そのため本研究では、淡水生態系の生息種である両生類への μP への影響を検討するために、変態後の成体も後肢に水掻きを有する、両眼球が背側に位置するなどの形質をもつ無尾目アフリカツメガエルを主に使用し、材質の異なる microbeads の誤食や、誤食の発生段階依存性を調査した。また microbeads に死臭物質 cadaverine を吸着させ誤食回避を行うかを調べた。さらに、ツメガエル属の両生類種よりも陸棲環境に適応した形質をもつ両生類幼生の microbeads の誤食の有無について、代表的な日本在来種のカエル、有尾目のイベリアトゲイモリやアメイロイボイモリを用いて調査した。

材料と方法

実験動物・実験材料

両生類のモデル生物である、アフリカツメガエル *Xenopus laevis* に性腺刺激ホルモン（gonadotropin）

を注射し、一晩置いて雌雄成体のつがいを交配し、得た胚を実験に使用する発生段階まで人工淡水（10% Steinberg 氏液）で育てた⁵⁾。その他、アマガエル科のニホンアマガエル *Dryophytes japonica*、ヒメアマガエル科のヒメアマガエル *Microhyala okinavensis*、ピパ科のキタアフリカツメガエル *Xenopus borealis* と、有尾目イモリ科のイベリアトゲイモリ *Pleurodeles waltl*、アメイロイボイモリ *Tylototriton verrucosus* の幼生を購入し、実験に使用した⁶⁾。

μP には、Polyscience 社製の polybead® polystyrene 90/45/10/3.0 Micron Microspheres（平均直径 90.72/44.16/9.634/3.0 μm ）、polybead® Dyed Red 1.0/Blue 6.0 Micron Microspheres（平均直径 0.964/5.75 μm ）、polybead® Yellow Dyed Micron Microspheres 1.00 μm を用いた。他に、polyethylene ビーズ（直径 27-32 μm ）や鉄ヤスリで polypropylene チューブを削り細粒にした μP 、ガラスビーズ（直径 3-10 μm ）を μP として用いた。また麻酔薬の 0.1% phenoxyethanol を作用させてから腹部を切開し、腸管を露出することで誤食の有無や誤食後の蠕動運動の観察を行なった。またツメガエル幼生の microbeads 誤食回避のため、cadaverine dihydrochloride（1,5-ジアミノペンタン二塩酸塩、ペンタメチレンジアミン二塩酸塩、1,5-ペンタンジアミン二塩酸塩、CAS No. 1476-39-7; 関東化学株式会社）を microbeads に吸着させ、誤食実験を行なった。

実験方法

ツメガエル幼生が誤食する μP の種類の検討

まず、アフリカツメガエル幼生がどのような μP を誤食するのかを検証するために、4 種類の材質のビーズや粒子の誤食を観察した。それぞれ直径 0.96, 3.0, 5.8, 9.6 μm の polystyrene (PS) ビーズ、polyethylene (PE) ビーズ（直径 27-32 μm ）、polypropylene (PP) 粒子、ガラスビーズ (GB) を 10% Steinberg 氏液に混合して懸濁液を作製し、ウェルやペトリ皿に投与した。そこに、st. 47-48, 51-58, 61 (Nieuwkoop & Faber の (1967) 発生段階表による)⁵⁾ のアフリカツメガエル幼生を 1 匹ずつ入れ、16°C の恒温器で一晩静置した。翌日に 0.1% phenoxyethanol で幼生に麻酔をかけ、腸管の観察を行なった。

ツメガエル幼生が誤食を開始する発生段階

次にツメガエル幼生における microbeads 誤食の発生段階依存性の検証を行うために、st. 39, 42, 46, 50 のツメガエル幼生を用い、12 穴プレートの各穴に幼

生を1匹ずつ入れた。そして、microbeadsを10% Steinberg氏液で10倍希釈したものを50 μ Lずつ加え、24°Cで一晩静置し翌日観察した。観察時、st. 39の幼生はst. 42に、st. 42の幼生はst. 46に、st. 46の幼生はst. 48に進んでいた。

cadaverine吸着による誤食回避の試み

次にツメガエル幼生のmicrobeads誤食回避のために、cadaverineを吸着させたビーズを用いた実験を行なった。1%スキムミルク250 μ Lとmicrobeads原液の混合液を2つ用意し、一方にはその混合液にcadaverineを0.05 g添加し溶解した。多孔プレートに幼生と10% Steinberg氏液を入れ、そこにcadaverineありのmicrobeadsとcadaverineなしのmicrobeadsを250 μ Lずつ加えて、10分もしくは30分放置した。そしてcadaverineの有無に対する個体の遊泳行動の違いの有無を観察した。

両生類各種幼生による誤食の検証

アフリカツメガエル以外の両生類における、microbeadsの誤食の有無を検証するために、ニホンアマガエル、ヒメアマガエル、キタアフリカツメガエル、イベリアトゲイモリ、アメイロイボイモリの幼生を用いた。ニホンアマガエル幼生では10% Steinberg氏液で20倍希釈した2色ビーズ混合液(青ビーズ：直径5.7 μ mと白ビーズ：直径9.6 μ m、または赤ビーズ：直径2.9 μ mと白ビーズ：直径9.6 μ m)をそれぞれ50 μ Lずつ滴下し、計100 μ L加えた。ヒメアマガエル幼生には、青ビーズと赤ビーズを25 μ Lずつを滴下し、計50 μ L、あるいは赤ビーズと青ビーズを50 μ Lずつを滴下し、計100 μ L加えた。キタアフリカツメガエル、イベリアトゲイモリ、アメイロイボイモリでも同様に実験を行なった。こ

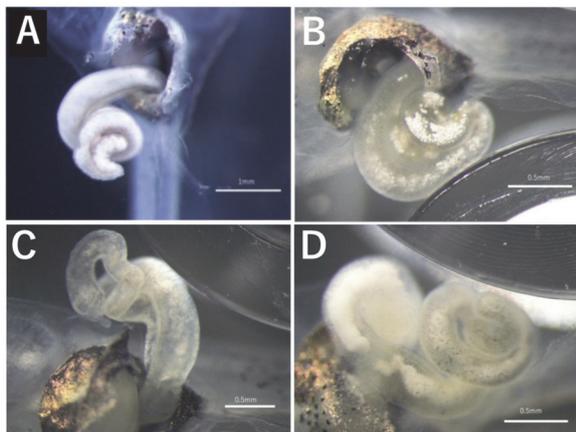


図1. アフリカツメガエルst. 47幼生における腸管内の μ P A: PS (白3.0 μ m). B: PE (27-32 μ m). C: PP (削った破片を与えたのでサイズは様々). D: GB (3-10 μ m). Bars, 0.5 mm.

のとき、誤食実験は1個体ずつ隔離してmicrobeadsの投与を行なった。

結果・討論

ツメガエル幼生が誤食する μ Pの種類

st. 47-48の初期幼生、st. 51-58の後期幼生においては、ほとんどの個体でpolystyrene (PS)、polyethylene (PE)、polypropylene (PP)、ガラスビーズ (GB)の誤食が観察された(図1 A-D)。これらの多くでは同じ材質の糞がウェルやペトリ皿の底部に認められた。糞の排出直後には、消化管で分泌された粘液に絡められた形の、いわゆる糞の形状の μ Pが認められた。一方、st. 61の変態後期の幼生においては誤食があまり観察されず、糞も見られなかった。これは、体長と比較して μ Pの量が少なかったことや若い個体の幼生よりも糞を出すまでに時間がかかることから、観察時には糞を出していなかったためと考えている。開腹して消化管を観察したところ、実験を行なった発生段階の全てにおいて、殆どの個体で各材質のビーズを内包した腸管の蠕動運動の様子が観察された。この結果から、材質の異なる3種類の μ Pやガラスビーズを与えても短時間では生死に影響を及ぼすことはなかったといえる。この点に関しては、De Feliceら(2018)の結果を支持するが、Ruthsatzら(2023)が指摘するように、 μ Pの両生類発生に対する悪影響については、様々な発生段階の幼生で検証する必要がある⁷⁻⁸⁾。いずれにせよ、両生

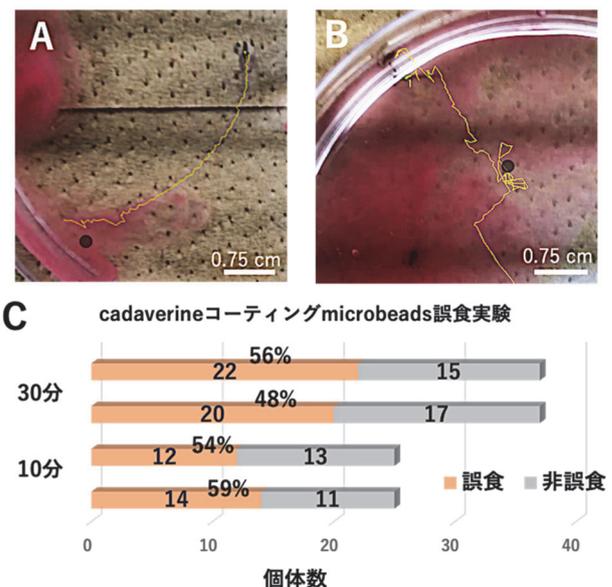


図2. アフリカツメガエル幼生におけるcadaverineに対する反応とmicrobeads誤食実験の結果. A: cadaverineなしのスキムミルクに対する行動の軌跡. B: cadaverineありのスキムミルクに対する行動の軌跡. 黒点はスキムミルク注入点. C: cadaverineコーティングmicrobeads誤食実験結果.

類にとって、 μP の引き起こす致死性が低いことが「低リスクで良いこと」なのではなく、食物連鎖によってツメガエル幼生が μP を体内に取り込まれた状態で捕食者に捕食されると、捕食者の体内にまで μP が在留する可能性が懸念される。また本研究の結果から、ツメガエル幼生は μP の材質に関係なく、口に入るサイズであれば何でも誤食してしまう食性を有することがわかった。Huら(2016)は、*X. tropicalis*の μP 実験から、環境中の食物が少なくなり μP が増えてくるとより多くの μP を摂取する可能性があることを示唆している⁹⁾。今後は、*X. laevis*において飢餓状態(どの発生段階で何日絶食したのか)と μP 誤食の活動度との相関について、より精細な調査を行う必要がある。

ツメガエル幼生が誤食を開始する発生段階

誤食の発生段階依存性の検証では、投与時の発生段階がst. 39(観察時の発生段階はst. 42)の幼生では誤食はしていなかった(n=0/12)。ツメガエル幼生の口が貫通するのはst. 40であるため、st. 39-42で μP を誤食しなかったのは開口の有無には関係ないと考えている⁵⁾。

st. 42(観察時の発生段階はst. 46)では卵黄がまだ腸管内に大量に残っている発生段階であったが誤食がみられた(n=12/12)。ツメガエル幼生の内鰓が完成するのはst. 47以降である⁵⁾。そのため、st. 42-46の μP 誤食は内鰓から体内に μP が流入したことや、口が開いたことが原因とは考えにくい(st. 39の結果より)。一方で、st. 42-46は腸管形成期であり、およそ摂食を開始する時期と一致する。腸管形成期に μP を誤食するという事は、 μP によって濃縮された汚染物質によって生体内への影響があると思われる。Grzymkowskiら(2024)は、腸管形成期に除草剤に含まれるアトラジンという薬品に暴露されると、腸管の短縮や異常な腸の巻きが引き起こされることを示している¹⁰⁾。実際、 μP がアトラジンを含めた除草剤の成分を吸着し、水中における農薬の持続性を増加させるとの報告もある¹¹⁾。そのため、水中

のアトラジンを μP が吸着しそれを腸管形成期のツメガエル幼生が誤食した場合、腸管形成に影響を与え、腸の短縮や腸の巻きの異常を引き起こすと考えられる。

st. 46(観察時の発生段階はst. 48)、50になると、誤食をしたことにより銀色の腹膜の内側にビーズの詰まった腸管が見られた(n = 12/12)。また、調査したビーズ直径0.96-9.6 μm の範囲では、ビーズの大きさによる誤食頻度に差異は見られなかった(n = 66)。どの直径のビーズでも、腸管がぎっしりと飽和的に満たされるまで誤食する個体が多かった。st. 50はわずかな前肢芽と後肢芽が形成される段階でありほとんど変態は始まっていない。アフリカツメガエルは変態前の幼生期では草食であり変態後の成体では肉食であるように、幼生と成体で食性が変化する動物である。また幼生期は水底を這うような摂食行動が見られるが、成体は水面の餌も認識して摂食のために浮上する。このように幼生期と成体期の摂食行動にも大きな違いがあることから、今回は幼生の誤食を調査したが、変態後の幼若カエルで誤食実験を行うと異なる結果になるかもしれない。

cadaverine 吸着による誤食回避の試み

cadaverine 吸着による誤食回避実験を行う前に cadaverine に対するツメガエル幼生の行動を観察した。cadaverine を含まないスキムミルクをツメガエル幼生に対して吹き付けた場合、特に遊泳行動に異常は見られなかった(n = 6, 動画数 = 3)。対して、cadaverine を含むスキムミルクを吹き付けると平衡感覚を失ったように混乱し異常な行動を示した(n = 6, 動画数 = 3); 図2A-B)。このことから cadaverine はツメガエル幼生に影響を与え、忌避される化学物質であると判断した。しかし予想に反して、cadaverine 吸着した microbeads の誤食を観察すると、cadaverine の有無で誤食の頻度に大きな差はみられなかった(それぞれ N (試行回数) = 6, n = 30; N = 5, n = 25) (図2C)。cadaverine はツメガエ

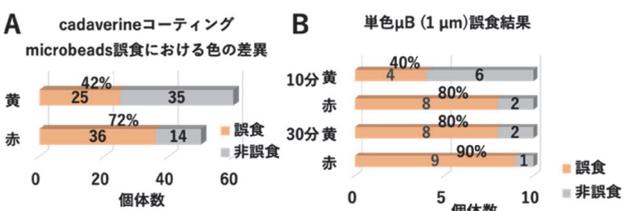


図3. アフリカツメガエル幼生における誤食実験結果の色による集計. A: cadaverine コーティング microbeads 誤食結果の, microbeads の色による比較. B: 人工淡水内での誤食実験結果における microbeads の色による比較.



図4. 両生類無尾目, 有尾目各種における microbeads の誤食結果.

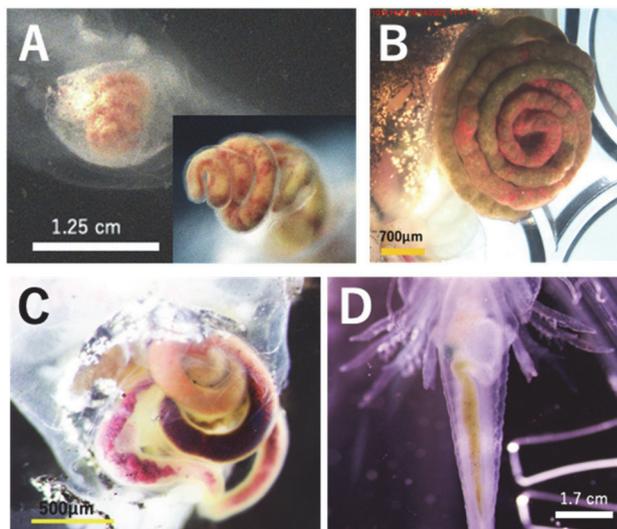


図5. 両生類無尾目、有尾目の様々な種における誤食結果. A: アフリカツメガエル幼生 st. 46 に赤色と黄色の microbeads を投与した (2種類の microbeads 投与のインターバル; 72時間). B: ニホンアマガエルに赤色と白色の microbeads を投与した (インターバル; なし). C: ヒメアマガエル幼生に赤色と青色の microbeads を投与した (インターバル; なし). D: イベリアトゲイモリに赤色と白色の microbeads を投与した (インターバル; なし).

ル幼生の行動に影響を与えるが、 μ P 誤食に影響がなかったことを考えると cadaverine は microbeads に吸着しにくく、匂いが付かなかったため嫌悪感を抱かなかった可能性がある。

しかしながら一方で、cadaverine 存在下で、誤食の頻度が赤色 microbeads では 72% (N = 5, n = 50)、黄色の microbeads では 42% (N = 6, n = 60) と、二色間で誤食頻度の差が生じた (図 3 A; $p < 0.01$)。そこで、通常の人工淡水内での microbeads 誤食結果を microbeads の色で比較してみると、誤食実験時間 10 分における誤食において、microbeads の色の違いによる誤食頻度の大きな違いがみられた。30 分での誤食結果では色の違いによる誤食頻度の違いは見られなかったことから、microbeads の色は誤食の立ち上がりに影響があると思われる (図 3 B)。実際、Hunt らの研究 (2020) では、アフリカツメガエル幼生 st. 48-49 は明所では緑色と赤色を好み、青色を忌避する反応を示したことを報告している¹²⁾。ツメガエル幼生が緑色を好む理由として、草食性であり体も小さいため水草の多く集まる環境を目指して移動するためだとされている。本研究では赤色と黄色のみの結果を示したが、緑色や青色との比較も行えばさらに誤食結果に顕著な差が見られるかもしれない。

各種両生類幼生による誤食の検証

両生類無尾目、有尾目における種別の誤食実験ではニホンアマガエル幼生、ヒメアマガエル幼生、キタ

アフリカツメガエル幼生は PS を誤食していた (それぞれ、N = 3, n = 20/20; N = 1, n = 6/6; N = 1, n = 9/12, 用いたキタアフリカツメガエル幼生はアフリカツメガエル幼生の st. 47 相当であった) (図 5 B, C)。特にニホンアマガエル幼生、ヒメアマガエル幼生が高頻度で誤食したが、誤食時には 1 個体ずつ隔離して microbeads 投与したことから、他の匂いをビーズが吸着しているとは考えられない。従って、本邦の在来種である 2 種はほぼ物理的な接触刺激のみで microbeads を誤食したと考えられる。ニホンアマガエル幼生、ヒメアマガエル幼生において異なるサイズと色 (赤色と黄色) の 2 種類の microbeads を共投与してみたところ、蠕動運動による各サイズのビーズの腸管内での排他的凝集を予想したが、はっきりとした傾向は出なかった。

一方で、有尾目のイベリアトゲイモリ幼生 (N = 1, n = 12)、アメイロイボイモリ幼生 (N = 1, n = 2) では、無尾目各種と同様の投与実験を行ったが、誤食はまったく観察されなかった。無尾目に比べて、有尾目は microbeads を誤食しない傾向があった (図 4, 図 5 D)。

まとめと展望

今回、実験に用いたアフリカツメガエル幼生は口に入るサイズであれば何でも誤食してしまう食性があり、PS, PE, PP, GB のどの材質の μ P でも誤食がみられた。microbeads 誤食の開始時期はおよそ腸管形成期と一致し、摂食を開始する時期と同じくして誤食が開始されることがわかった。アフリカツメガエル幼生の誤食回避のために死臭物質 cadaverine を吸着させた microbeads を投与した。cadaverine 自体に対しては忌避する反応を示すのに対して、cadaverine 吸着ビーズでの誤食頻度の減少はみられなかった。ただ、誤食頻度の時間経過をみると、microbeads の色による違いが赤色と黄色の間でみられた。誤食の立ち上がりに microbeads の色が影響すると考えられる。両生類各種における誤食の有無を調べた結果では、本邦在来種を含めた無尾目が高い頻度で誤食した。対して有尾目は全く誤食しなかった。

今後は、魚類の行動に対する忌避的な匂い物質の研究を参考に、cadaverine 以外の忌避物質の候補を選定して、cadaverine 実験と同様の実験を試みたい。また、アフリカツメガエル幼生の microbeads の色の違いによる誤食頻度の違いを明条件、暗条件、背景色等を変化させて調べていく実験も行いたい。さらに、両生類各種の μ P 誤食については野外調査の必要がある。実験室内環境では、有尾目幼生は誤食

をしなかった。しかしながら、アカハライモリなど本邦在来種の有尾目が、自然界では餌とともに誤飲し microbeads 汚染されている可能性は否定できず、野外調査を実施する必要がある。

謝辞

本研究は、2023年度の神奈川大学総合理学研究所共同研究助成金による助成（RIIS202307）を受けて、藤原研研究室と豊泉龍児研究室の共同研究として行われました。所長の川本達也教授ならびに所員各位に感謝いたします。筆頭著者の研究活動は神奈川大学理学部の大平剛教授、鶴岡慎哉氏にもアドバイスをいただいております。感謝いたします。

文献

- 1) Amelia TSM, Khalik WMAWM, Ong MC, Shao YT, Pan HJ & Bhubalan K (2021) Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. Progress in Earth and Planetary Science, Volume 8, Issue 1, article id. 12. [doi: 10.1186/s40645-020-00405-4].
- 2) Alberghini L, Truant A, Santonicola S, Colavita G, Giaccone V (2023) Microplastics in Fish and Fishery Products and Risks for Human Health: A Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **20(1)**: 789. [doi: 10.3390/ijerph20010789].
- 3) Md. Simul Bhuyan (2022) Effects of Microplastics on Fish and in Human Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **20(1)**: 789. [doi:10.3390/ijerph20010789].
- 4) Hussain A, Saraiva LR, Ferrero DM, Ahuja G, Krishna VS, Liberles SD, Korsching SI (2013) High-affinity olfactory receptor for the death-associated odor cadaverine. *Proc Natl Acad Sci USA*. **110(48)**: 19579-84. [doi: 10.1073/pnas.1318596110].
- 5) Nieuwkoop PD and Faber J (1967) Normal Table of *Xenopus laevis* (Daudin). Garland Publishing Inc, New York ISBN 0-8153-1896-0.
- 6) Shi DL, Boucaut JC (1995) The chronological development of the urodele amphibian *Pleurodeles waltl* (Michah). *Int. J. Dev. Biol.* **39**: 427-441. [https://ijdb.ehu.eus/article/7577434].
- 7) De Felice B, Bacchetta R, Santo N, Tremolada P, Parolini M (2018) Polystyrene microplastics did not affect body growth and swimming activity in *Xenopus laevis* tadpoles. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **25(34)**: 34644-34651. [doi: 10.1007/s11356-018-3408-x].
- 8) Ruthsatz K, Schwarz A, Gomez-Mestre I, Meyer R, Domscheit M, Bartels F, Schaeffer SM, Engelkes K (2023) Life in plastic, it's not fantastic: Sublethal effects of polyethylene microplastics ingestion throughout amphibian metamorphosis. *Sci. Total Environ.* **10**: 885: 163779. [doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.163779].
- 9) Hu L, Su L, Xue Y, Mu J, Zhu J, Xu J, Shi H (2016) Uptake, accumulation and elimination of polystyrene microspheres in tadpoles of *Xenopus tropicalis*. *Chemosphere*. **164**: 611-617. [doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.09.002].
- 10) Grzymkowski JK, Chiu YC, Jima DD, Wyatt BH, Jayachandran S, Stutts WL, Nascone-Yoder NM (2024) Developmental regulation of cellular metabolism is required for intestinal elongation and rotation. *Development*. **151(4)**: dev202020. [doi: 10.1242/dev.202020].
- 11) Wang F, Gao J, Zhai W, Liu D, Zhou Z, Wang P (2020) The influence of polyethylene microplastics on pesticide residue and degradation in the aquatic environment. *J. Hazard Mater.* **394**: 122517. [doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122517].
- 12) Hunt JE, Bruno JR, Pratt KG (2020) An Innate Color Preference Displayed by *Xenopus* Tadpoles Is Persistent and Requires the Tegmentum. *Front Behav. Neurosci.* **14**: 71. [doi: 10.3389/fnbeh.2020.00071].