

무당개구리 (*Bombina orientalis* Boulenger) 皮膚 赤色素細胞
(Erythrophore)의 分化에 관한 電子顯微鏡的 研究

文明珍 · 金宇甲 · 金昌煥
(高麗大學校 理科學 生物學科)

Electron Microscopic Study of the Cutaneous Erythrophore
Differentiation in *Bombina orientalis*.

Moon, Myung-Jin Woo-Kap Kim & Chang-Wan Kim
(Department of Biology, Korea University)
(Received May 16, 1984)

ABSTRACT

The cutaneous erythrophore differentiation from larvae to adult in *Bombina orientalis*—the Korean fire bellied toad—is discussed electron microscopically to reveal the structural changes of carotenoid vesicles and pterinosomes in the process of erythrophore differentiation.

Typical structure of adult erythrophores distributed beneath the basement membrane is composed much carotenoid vesicles and a small quantity of pterinosomes. Marginal electron density of these carotenoid vesicles is higher than those of internal regions and pterinosomes have many concentric lamellae.

The very first differentiated erythrophores are appeared before and after the foreleg developing stage of metamorphosis and red ventral color is just appeared about 1~2 weeks after metamorphosis.

About 1 year after metamorphosis, external body color of the young toad is similar to adult but the morphology of pigment granules observed in these erythrophores differs from that of adult in structure and electron density. At this stage, the differentiated level of pterinosomes is not remarkable and the accumulation state of carotenoid pigments in erythrophores is also relatively low.

緒 論

양서류 *Bombina*屬의 4種 중에서, 주로 한반도 일대에서 서식하는 무당개구리(*Bombina orientalis* Boulenger)는 그 색소體系가 독특하여 국내에 서식하는 無尾兩棲類 중 유일하게 皮膚의 赤色素細胞 (erythrophore)가 관찰된다 (Moon *et al.*, 1983). 무당개구리의 外部에 나타나는 體色은 背皮의 경우 靑綠色 발현 部位에 黑色 반점들이 散在되어 있으며, 腹皮에서는 赤色과 黑色의 무늬로 이루어져 있는데, 각 色彩 발현 부위에 따른 皮膚 색소세포의 종류는 背皮 靑綠色 부위의 眞皮에서 黃色素細胞 (xanthophore), 虹色素細胞 (iridophore), 黑色素細胞 (melanophore) 등 3種의 색소세포 複合體로 이루어진 眞皮性 색소細胞 單位 (dermal chromatophore unit)가 관찰되며, 背皮 黑色 반점 부위의 表皮 및 眞皮에서는 黑色素細胞가, 複皮 赤色 발현부위의 眞皮에서는 赤色素細胞와 虹色素細胞가, 그리고 腹皮의 黑色 부위에서는 眞皮性黑色素細胞로 구성되어 있음이 밝혀져 있다 (Moon *et al.*, 1983).

變溫脊椎動物의 皮膚 색소세포에 대한 연구는 일찌기 Dushane (1934, '35), Niu (1954, '59) 등에 의해 양서류 색소세포의 起源 및 發生過程이 일부 다루어졌으며, Lehman (1957)은 도롱뇽 (*Amblystoma mexicanum*)의 색소세포 形成에 대해서, Volpe (1964), Weston (1970) 등은 색소세포의 起源인 神經堤 (neural crest)의 分化에 대해, 그리고 근래에는 Bagnara *et al.* (1979)에 의해 색소세포의 起源에 대한 연구가 이루어지고 있다. 한편 Taylor & Hadley (1970), Bagnara & Hadley (1973) 등에 의해서 양서류 體色變化的 機作이 밝혀졌으며, Obika & Matsumoto (1968), Bagnara & Hadley (1969), Bagnara *et al.* (1969), 등에 의해 有彩色를 나타내는 皮膚에 대한 形態 및 生化學的인 연구가 이루어졌다. 특히 Alexander & Fahrenbach (1969), Kawaguti *et al.* (1965), Bagnara *et al.* (1968), Berns & Narayan (1970), Taylor & Bagnara (1972) 등은 양서류와 파충류의 眞皮性 색소세포 複合體에 대해서, 그리고 Ortiz *et al.* (1963), Ortiz & Williams-Ashmann (1963), Obika & Matsumoto (1968), Obika (1970), Kamei-Takeuchi & Hama (1971), Yasutomi & Hama (1971, '72) 등은 pteridine 색소顆粒인 pterinosome의 形態 및 生理的 特性에 대한 연구를 시도하였다.

赤色素細胞에 대한 연구는 Orato (1976), Byers & Porter (1976, '77) 등이 조직배양한 赤色素細胞에서 색소과립의 이동과 구조적인 변형을 관찰하였으며, Matsumoto (1965)에 의해 *Xiphophorus helleri*의 赤色素細胞 구조와 化學的 特性 및 색소과립에 대한 연구가 이루어졌지만, 국내 서식종의 赤色素細胞에 대한 연구는 파충류·양서류·어류를 막론하고 거의 全無한 실정이며, 다만 무당개구리 腹皮의 赤色 발현 부위에서 赤色素細胞의 微細構造가 최근에 밝혀져 있을 뿐이다 (Moon *et al.*, 1983).

이상과 같은 점에서 무당개구리의 發生 및 變態에 따른 皮膚 赤色素細胞의 形態的인 分化와 색소顆粒의 微細構造의 變化에 대한 연구를 시도하여 얻어진 결과를 여기에 발표하고자 한다.

材料 및 方法

京畿道 拘川郡 深谷里 (왕방산) 일대에서 채집한 무당개구리 (*Bombina orientalis* Boulenger) 成體 (adult, young adult) 및 自然 産卵되어 부화된 幼生을 야외에서 사육하여, 變態의 각 단계별로 3個體씩을 材料로 하였다.

外部的 體色이 뚜렷하지 않은 幼生期の 材料는 腹皮의 一定 部位를, 그리고 赤色이 뚜렷한 成體 및 變態期 以後의 材料는 赤色 발현 부위를 0.64% 生理食鹽 용액 내에서 切開하여 2.5% paraformaldehyde - glutaraldehyde (4°C, phosphate buffer, pH 7.2)와 1% OsO₄ (4°C, phosphate buffer, pH 7.2)로 前·後 固定한 다음 ethanol 농도 상승순으로 脫水하였으며, propylenoxide로 치환하여 Epon-Araldite 혼합액에 包埋하였다.

包埋된 조직은 Sorvall MT-2 및 LKB ultramicrotome으로 초박절편을 만들어 collodion 膜을 입힌 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate (aqueous sol.)와 lead citrate에 염색하여 Hitachi HS-7S (50KV) 및 JEM 100 CX-II (80KV) 電子顯微鏡으로 관찰하였다.

結 果

무당개구리 腹皮의 赤色 발현에 관여하는 皮膚 色素細胞는 赤色素細胞와 虹色素細胞이며 成體에서 관찰되는 赤色素細胞의 전형적인 구조는 外膜이 없고 주위의 電子密度가 내부보다 높은 多量의 carotenoid 顆粒들 (Fig. 1)과 불규칙한 膜狀, 纖維狀 또는 同心圓狀의 lamella 구조를 가지는 少量의 pterinosome들이 上皮의 기저막을 따라 眞皮層 上端部에 밀집되어 나타났다 (Fig. 2).

赤色素細胞의 아랫쪽에는 purine 結晶體의 反射小板 (reflecting platelet)으로 이루어진 虹色素細胞가 層을 이루고 나타나는데 (Fig. 3), 더 아래의 筋肉層 사이에 散在되어 있는 형태도 관찰되었다.

幼生期の 腹皮에서는 melanin 顆粒이 集積된 黑色素細胞들만이 관찰될 뿐, 有彩色 발현에 관여하는 色素細胞로 단정할 만한 어떠한 構造物도 나타나지 않았다.

幼生期가 끝나고 變態가 시작될 무렵, 眞皮의 筋肉層 아래에서 길게 突起를 뿜고 있는 赤色素細胞 및 虹色素細胞의 源起가 최초로 관찰되었는데, 돌기 속에는 電子密度가 높은 纖維狀의 치밀한 물질들과 내부가 비어있는 vacuole들이 多數 나타났으며 (Fig. 4), 긴 타원형의 核 주변부에서는 rER들이 관찰되었다.

分化된 최초의 赤色素細胞는 變態期 前肢 출현 시기를 전후하여 眞皮의 근육층 사이에서 나타나기 시작하는데 기저막과 평행하게 뿜은 突起 속에는 대체로 구형 또는 타원형을 이루고 있는 carotenoid 顆粒들이 서로 뭉쳐져 있고 (Fig. 6) 顆粒의 電子密度는 전체적으로 낮으며, pterinosome은 관찰되지 않았다 (Fig. 7).

變態 直後の 조직 표본에서는 색소세포의 이동이 완성되어 근육층 상단부에서 赤色素細胞가 나타났으며 (Fig. 8), 돌기 속에서는 顆粒들 간의 경계가 다소 명확해진 carotenoid vesicle들이 관찰되지만, 이 시기에서도 역시 pterinosome은 관찰되지 않았다 (Fig. 9).

變態 後 1~2週가 경과될 때쯤 腹皮에서 赤色이 외부로 발현되기 시작하는데 이시기에서

는 carotenoid 顆粒의 數가 급격히 증가되며 (Fig. 10), 未分化된 纖維狀의 pterinosome들이 처음으로 관찰되었다 (Fig. 11).

무당개구리의 外部 體色은 冬眠期를 거치면서 점진적으로 완성되며, 이듬해 봄 冬眠에서 갓 깨어난 어린 개구리에서 나타나는 外部 體色은 成體와 별 차이가 없지만 관찰되는 顆粒의 형태는 成體에 비해 전체적으로 carotenoid 축적의 정도가 낮아서, 주위의 電子密度가 내부보다 조금 높으며, 分化된 同心圓狀의 lamella 구조를 가지는 pterinosome들이 관찰되었다 (Fig. 12). 잘 발달된 원형질막이 顆粒들을 둘러싸서 突起를 이루고 있으며, 돌기의 내부에는 큰 空腔들이 다수 형성되어져 있고 (Fig. 13), 돌기의 주변부에 mitochondria와 rER 들이 관찰되었다 (Fig. 14).

變態後 1년이 경과된 무당개구리 腹皮의 赤色 부위에서는 다수의 carotenoid 顆粒들이 융합되어, 과립의 크기가 증가되는 현상이 일어나며 (Fig. 15), 주변부의 電子密度가 내부보다 현저하게 높아진 carotenoid 顆粒과 pterinosome들이 관찰되었다 (Fig. 16).

다시 2個月이 경과된 조직 표본에서는 내부에 空腔이 형성된 대형의 carotenoid 顆粒들이 급격히 증가하기 시작하지만 (Fig. 17), 아직 carotenoid 축적의 정도가 낮은 상태이며, pterinosome의 分化도 成體에 비해 현저하지 않았다 (Fig. 18).

考 察

變溫脊椎動物의 體色 發現에 관여하는 皮膚 色素細胞에는 melanophore, leucophore, iridophore, xanthophore, erythrophore 등이 알려져 있으며 (Parker 1948; Lehman & Youngs 1959; Fox & Vevers 1960; Bagnara & Hadley 1973), 黃色 또는 赤色을 발현하는 피부 색소세포에는 carotenoid를 주성분으로 하는 것 (lipophore)과 pterine이 주요한 色彩 發現 因子로 되어 있는 것 (allophore or pterinophore) 등이 記在되고 있으나, 실제로는 同一한 세포 내에 두 계통의 色素가 共存하고 있는 경우가 많으므로, 현재는 단순히 色調에 따라 黃色素細胞 (xanthophore)와 赤色素細胞 (erythrophore)로 불리고 있다 (Taylor & Hadley 1970; Ferris & Bagnara 1972; 及川·井出 1982).

과충류, 양서류 및 어류의 赤色 피부에서 관찰되는 赤色素細胞의 色素 顆粒은 대부분이 赤色の carotenoid vesicle들이지만, 소량의 pterinosome들도 역시 細胞質 內에서 관찰된다 (Ortiz & Williams-Ashmann 1963; Ortiz *et al.*, 1969; Orato 1976).

또한 赤色素細胞는 眞皮性 色素細胞로서 상피의 기저막 아래 眞皮層에서 나타나며 表皮層에서는 관찰되지 않는데, 유일하게 *Notophthalmus viridescens*의 成體 背皮의 붉은 반점 부위에서 赤色の carotenoid 顆粒을 가지는 表皮性 色素細胞가 관찰되었다는 보고가 있으나 (Bagnara & Hadley 1973), 이것이 진정한 赤色素細胞라고 단정하기에는 微細 構造의인 검토가 부족하다.

무당개구리 腹皮의 赤色 발현에 관여하는 主 色素는 β -carotene; 4-hydroxy-echinenone; α -cryptoxanthin (3-hydroxy- α -carotene; 3-hydroxy-canthaxanthin; lutein; 3, 3'-dihydroxy-3, 4, 3', 4'-bisdehydro- β -carotene) 등이며 少量의 carotenoid 色素인 lutein monoester; torulene; γ -carotene; 5, 6-monoepoxy- α -carotene like 등도 함유되어 있음이 보고되고 있다 (Chang & Chong 1974, '74, '75, '76, '80).

무당개구리 腹皮에서 나타나는 赤色은 眞皮性 色素細胞 單位의 연구에서 밝혀진 바와 같이 (Bagnara *et al.*, 1968; Alexander 1969) 眞皮性 色素細胞인 赤色素細胞와 虹色素細胞가 서로 層을 이룸으로써 單層일 때와는 다른 色彩 發現 效果를 나타내는 것으로 생각된다.

한편, 色素細胞의 起源은 神經堤 (neural crest)이며, 神經堤는 神經管 (neural tube)의 등쪽에 頭尾軸을 따라 배열된 細胞集團으로서 여기서 色素細胞뿐만 아니라, 神經細胞나 軟骨細胞等도 發生되어 나옴이 알려져 있다 (Weston 1970).

色素細胞의 分化를 일으키는 機作에 대해서는 아직 확실하게 밝혀진 바가 없지만, 色彩 形成의 有無는 chromatoblast가 분포하는 表皮 및 中胚葉에 의존하고 있으며, 環境要因이 색소세포의 分化를 조절하는 것으로 알려져 있다 (及川·井出, 1982).

赤色素細胞의 分化 過程에서 관찰되는 赤色素細胞의 色素 顆粒인 carotenoid vesicle과 pterinosome의 細胞內 出現 시기는 각각 變態期의 前肢 出現 시기와 變態後 1~2週가 더 경과된 外部 體色 발현 시기로서, 두 顆粒들의 出現 시기에는 상당한 시간적 차이가 있는 것으로 나타났다. 그리고 특이하게 色素세포가 筋肉層 下端部에서 筋肉層 上端部인 基底膜 쪽으로 이동하는 현상이 色素細胞의 分化過程에서 나타나는데, 이 과정은 變態期 동안 이루어지며, 이러한 이동에는 상피의 기저막과 그 아래의 collagen 層等이 관련되어 있는 것으로 생각된다.

變態後 1년이 경과한 어린 개구리의 외부에 나타나는 體色이나 성숙한 成體의 體色 사이에는 별다른 차이가 없음에도 불구하고 色素 顆粒들의 形態가 달리 관찰된다는 점과, carotenoid 色素가 내부에서 合成되어지는 것이 아니라 분명히 외부로부터의 공급에 의한다는 점 (Byers & Porter, 1976, '77), 그리고 carotenoid vesicle에 外膜이 없다는 점 등으로 미루어 볼 때, carotenoid 顆粒의 기원이 Golgi-複合體나 小胞體도 아닌 것 같으며, 아마도 外部로부터 공급된 carotenoid 色素가 점진적으로 細胞質內에 集積되어, 그 축적의 정도에 따라 形態的인 차이가 나타나는 것으로 생각되어진다.

要 約

무당개구리 (*Bombina orientalis* Boulenger) 腹皮의 赤色 發現에 관여하는 赤色素細胞의 分化 過程을 電子顯微鏡으로 관찰하였다.

成體에서 관찰되는 赤色素細胞의 전형적인 구조는, 주위의 電子密度가 내부보다 높은 多量的 carotenoid 顆粒들과, 불규칙한 膜狀, 纖維狀 또는 同心圓狀의 lamella 構造를 가지는 小량의 pterinosome들이 腹皮의 基底膜을 따라 떨어져 있는 赤色素細胞의 突起 속에 치밀하게 채워진 形態를 하고 있다.

分化된 最初の 赤色素細胞는 變態期의 前肢 出現시기를 전후하여, 外膜이 없고 電子密度가 낮은 carotenoid 顆粒이 뭉쳐져 있는 狀態로 나타나며 pterinosome은 관찰되지 않는다.

腹皮의 赤色이 外部로 발현되기 시작하는 시기는 대략 變態後 1~2週가 경과한 뒤이며, 이 시기에 未分化된 pterinosome들이 나타나기 시작한다.

産卵後 1년이 경과한 어린 개구리에서 발현되는 外部 體色은 성숙한 成體와 동일하였지만, 관찰되는 色素 顆粒의 形態는 carotenoid 축적의 정도가 낮은 상태이며, pterinosome의 分化도 成體에 비해 현저하지 않았다.

REFERENCES

- Alexander N.J. & W.H. Fahrenbach, 1969. The dermal chromatophores of *Anolis carolinensis* (Reptiles, Iguana). *Am. J. Anat.*, 126: 41-56.
- Bagnara, J.T., J.D. Taylor & M.E. Hadley, 1968. Dermal chromatophore unit. *J. Cell Biol.* 38: 67-79.
- Bagnara, J.T. & M.E. Hadley, 1969. The control of bright colored pigment cells of fishes and amphibians. *Amer. Zool.* 9:465-478.
- Bagnara, J.T., M.E. Hadley & J.D. Taylor, 1969. Regulation of bright-colored pigmentation of amphibians. *Gen. Comp. Endocrinol. Suppl.* 2: 435-438.
- Bagnara, J.T. & M.E. Hadley, 1973. Chromatophores and color change. Prentice-Hall, Inc., Englewood, Cliffs, N.J.
- Bagnara, J.T., J. Matsumoto, W. Ferris, S.K. Frost, W.A. Turner Jr., T.T. Tchen & J.D. Taylor, 1979. Common origin of pigment cells. *Science* 203: 410-415.
- Berns, M.W. & K.S. Narayan, 1970. An histochemical and ultrastructural analysis of the dermal chromatophores of the variant ranid blue frog. *J. Morphol.* 132: 169.
- Byers, H.R. & K.R. Porter, 1976. Pigment migration in cultured erythrocytes. *J. Cell Biol.* 70: 402a (Abst.)
- Byers, H.R. & K.R. Porter, 1977. Transformation in the structure of the cytoplasmic ground substance in erythrocytes during pigment aggregation and dispersion. *J. Cell Biol.* 75: 541.
- Chang, S.H. & U.C. Chong, 1974~80. Studies of the carotenoid pigments in the abdominal skin of *Bombina orientalis* (I-V). *J. Korean Chemical Society* vol. 18-24.
- Dushane, G.P., 1934. The source of pigment cells in amphibia. *Anat. Rec.* 69: 62-63.
- Dushane, G.P., 1935. An experimental study of the origin of pigment cells in amphibia. *J. Exp. Zool.* 72: 1-30.
- Ferris, W. & J.T. Bagnara, 1972. Pigmentation: Its genesis and biologic control. (ed. V. Riley) Appleton Century Crofts, New York.
- Fox, H.M. & G. Vevers, 1960. The nature of animal colours. Sidgwick and Jackson Ltd., London, 1-21.
- Kamei-Takeuchi, I & Hama, T., 1971. Structural change of pterinosome (pteridine pigment granule) during the xanthophore differentiation of *Oryzias* fish. *J. Ultrastruct. Res.*, 34, 452.
- Kawaguti, S., Y. Kamishina & K. Sato, 1965. Electron microscopic study on the green skin of the tree frog. *Biol. J. Okayama Univ.* 11: 97.
- Lehman, H.E., 1957. The developmental mechanics of pigment pattern formation in the black axolotl, *Amblystoma mexicanum*. *J. Exp. Zool.* 135: 355-386.
- Lehman & L.M. Youngs, 1959. Pigment cell biology In: Extrinsic and intrinsic factors influencing amphibian pigment pattern formation (ed. M. Gordon). Academic Press. pp.1-36.
- Matsumoto, J., 1965. Studies of gene structure and cytochemical properties of erythrocytes in sword-tail, *Xiphophorus helleri* with special reference to their pigment granules (pterinosomes). *J. Cell Biol.* 27: 493-504.
- Moon, M.J., J.H. Kim, W.K. Kim & C.W. Kim, 1983. The ultrastructure of the cutaneous pigment

- cells in *Bombina orientalis*. *Korean J. Electron Microscopy Vol. 13*, No. 2.
- Niu, M.C., 1954. Further studies of the origin of amphibian pigment cells. *J. Exp. Zool.* 125: 199-220.
- Niu, M.C., 1959. Some aspects of the life history of amphibian pigment cells. *In: Pigment cell biology* (ed. M. Gordon). Academic Press, New York, 37-49.
- Obika, M., 1970. Chemistry and biology pteridines (ed. K. Iwai *et al.*). International Academic Press.
- Obika, M. & J. Matsumoto, 1968. Morphological and biological studies of amphibian bright colored pigment cells and their pterinosomes. *Exp. Cell Res.* 52: 646-659.
- 及川淳・井出宏之, 1982. 色素細胞(にの特異な集團). 講談社.
- Orato, K., 1976. Pigment dispersion in cultured gold fish erythrophores by dibutyl adenosine-3',5'-monophosphate. *Japanese Zool. Magazine* 85: 262-264.
- Oritz, E., E. Bächli, D. Price & H.G. Williams-Ashman, 1969. Red pteridine pigments in the dewlaps of some Anolis.
- Ortiz, E. & H.G. Williams-Ashmann, 1963. Identification of skin pteridines in the pasture lizard *Anolis pulchellus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 10: 181-190.
- Parker, G.H., 1948. Animal color changes and their neurohumours. Cambridge University Press.
- Taylor, J.D. & M.E. Hadley, 1970. Chromatophores and color change in the lizard, *Anolis carolinensis*. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 104:282.
- Taylor, J.D. & J.T. Bagnara, 1972. Dermal chromatophores. *Am. Zool.* 12: 43-62.
- Volpe, E.P., 1964. Fate of neural crest homotransplants in pattern mutants of the leopard frog. *J. Exp. Zool.* 157:179-196.
- Weston, J.A., 1970. The migration and differentiation of neural crest cells. *Advan. Morphol.* 8: 41-114.
- Yasutomi, M. & T. Hama, 1971. Ultramicroscopic study of the development change of the xanthophore in the frog, *Rana japonica* with special reference to pterinosomes. *Develop. Growth and Differ.* 13: 141-149.
- Yasutomi, M. & T. Hama, 1972. Electron microscopic study on the xanthophore differentiation in *Xenopus laevis*, with special reference to their pterinosomes. *J. Ultrastruct. Res.* 38: 421-432.

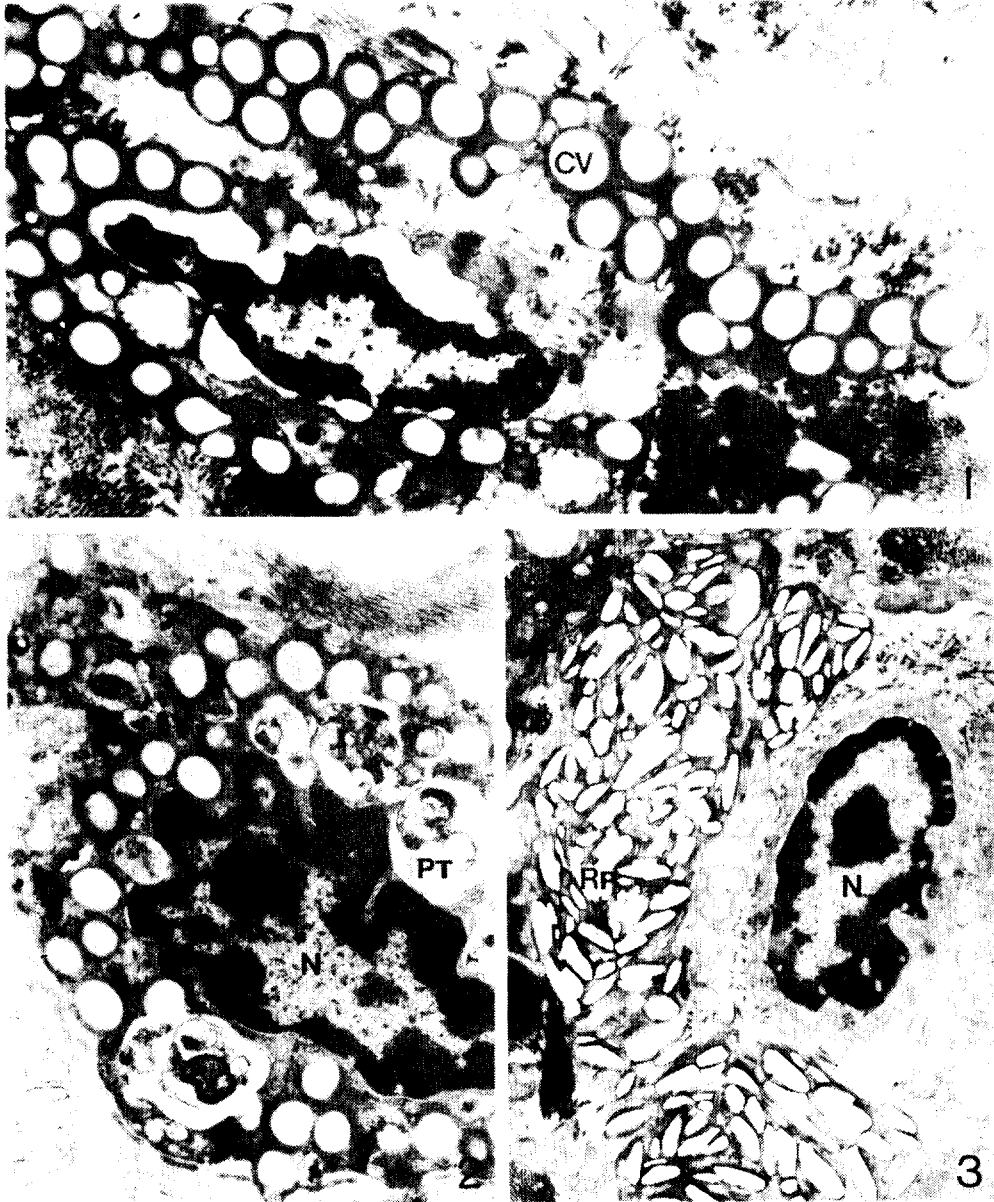


Fig. 1, 2. Typical structure of adult erythrophores composed of large carotenoid vesicles (CV) and a small quantity of pterinosomes (PT). ($\times 15,000$) ($\times 14,400$)

Fig. 3. Adult iridophores, which contain reflecting platelets (RP) are observed beneath the erythrophores. ($\times 93,00$)

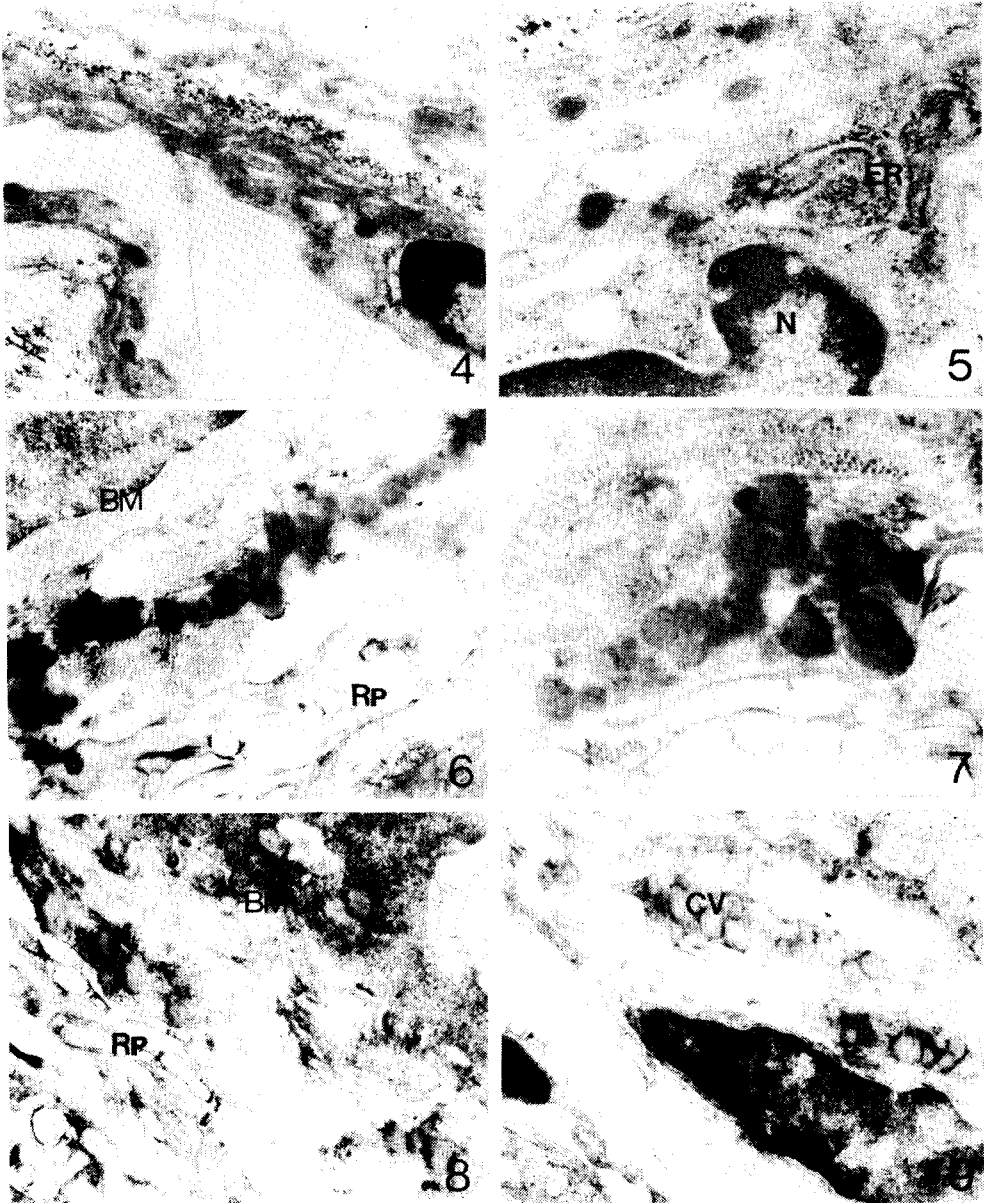


Fig. 4, 5. At the beginning of metamorphosis. The long process of chromatophore is seen beneath the muscle layer and plenty of vacuoles are formed in the cytoplasm. Electron dense fibrous materials (FM) and rough Endoplasmic Reticum (ER) are also observed. ($\times 24,000$) ($\times 35,000$)

Fig. 6, 7. At the foreleg-developing stage of metamorphosis. The very differentiated erythrocytes are seen parallel to the basement membrane (BM) in muscle layer. The carotenoid vesicles are formed a mass and pterinosomes are not observed at this stage. ($\times 17,500$) ($\times 27,200$)

Fig. 8, 9. At the end of metamorphosis. Carotenoid vesicles which have an oval shape and relatively low electron density are seen just beneath the basement membrane. ($\times 17,500$) ($\times 16,000$).

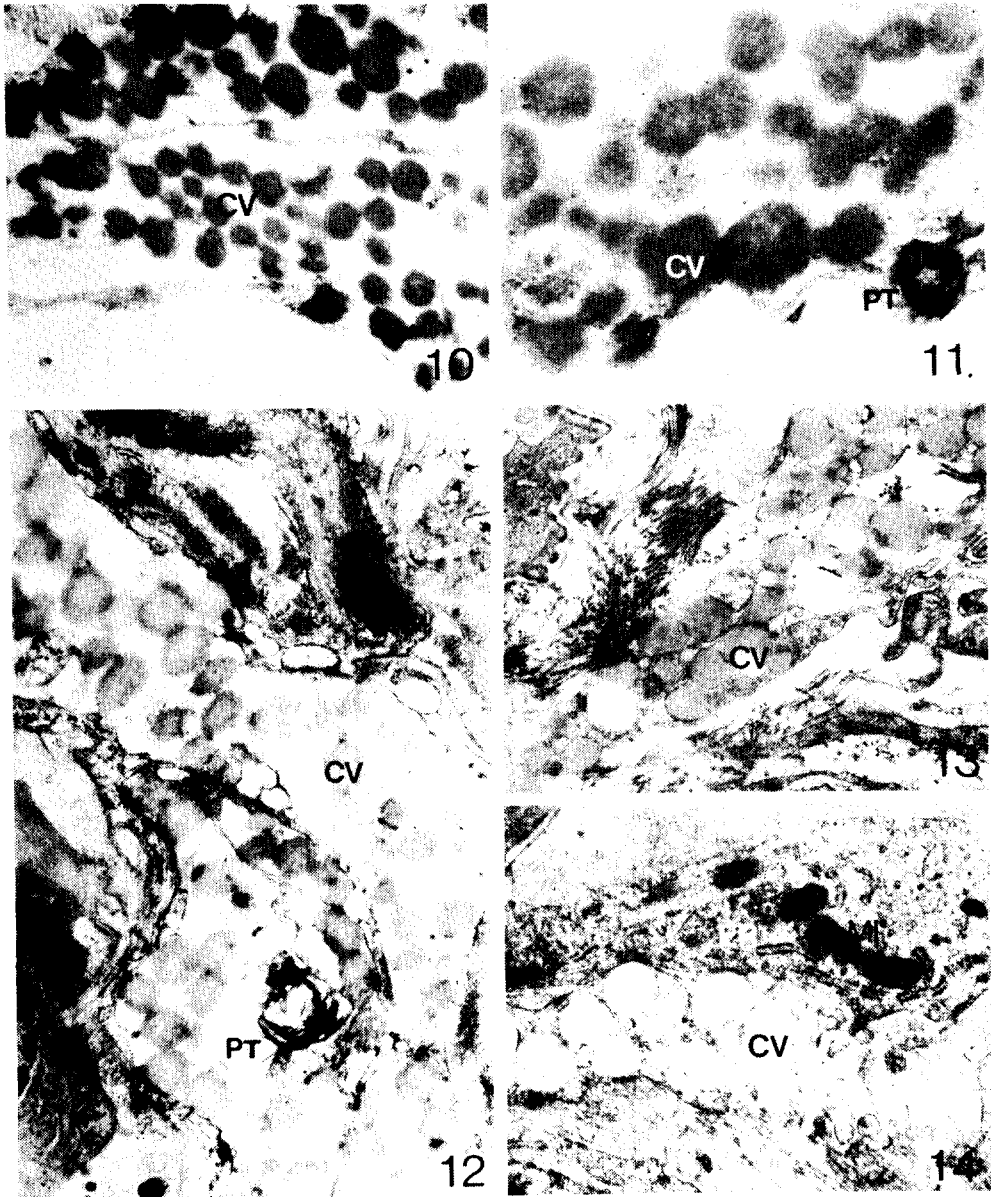


Fig. 10, 11. At 2 weeks after metamorphosis. The number of carotenoid vesicles is increased rapidly and undifferentiated pterinosomes are just appeared at this stage. ($\times 24,000$) ($36,000$).

Fig. 12, 13, 14. At 10 months after metamorphosis. Fibrous pterinosomes are seen at this stage and electron density of carotenoid vesicles is relatively low. Plasma membrane which surrounding the process is well developed and rER & mitochondria (MI) are distributed around the process. ($\times 14,800$) ($\times 15,000$) ($\times 21,000$).

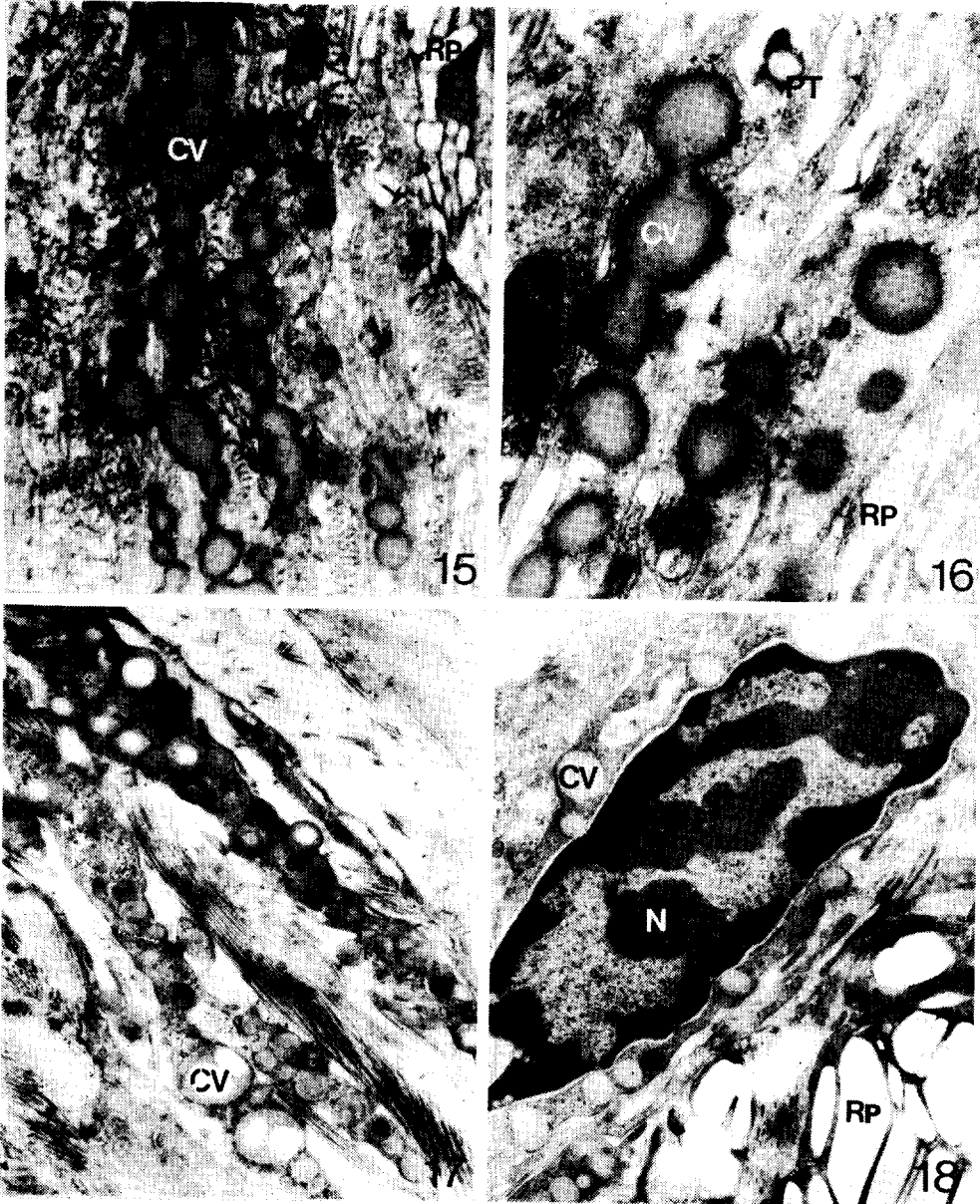


Fig. 15, 16. At 12 months after metamorphosis. Carotenoid vesicles are fused each other and making large granules. Internal electron density of these vesicles is relatively lower than those of marginal regions. ($\times 20,000$) ($\times 35,000$)

Fig. 17, 18. At 14 months after metamorphosis. Large carotenoid vesicles are forming the inner cavity like the adult erythrophores. But accumulation state of carotenoid pigments and differentiation level of pterinosomes are still lower than those of adult erythrophores. ($\times 14,000$) ($\times 16,000$)