

무당개구리 (*Bombina orientalis* Boulenger) 皮膚  
黃色素細胞(Xanthophore)의 分化에 관한 研究

文 明 珍·金 宇 甲·金 昌 煥  
(高麗大學校 理科大學 生物學科)

The Cutaneous Xanthophore Differentiation in *Bombina orientalis*

Myung Jin Moon, Woo Kap Kim and Chang Whan Kim  
(Department of Biology, Korea University)  
(1986. 5. 17 접수)

---

ABSTRACT

The cutaneous xanthophore differentiation from larvae to adult in *Bombina orientalis*—the Korean fire bellied toad—is studied with light and electron microscopes.

General structure of adult xanthophore which is composed of many pterinosomes and a small quantity of carotenoid vesicles is forming chromatophore complex with other dermal pigment cells. And the cytoplasmic process of xanthophore is distributed just beneath the basement membrane.

The first differentiated xanthophore is originated from both rER rich cells and Golgi complex rich cells before and after the feeding larval stage. Formation of the pigment granule is proceeded gradually along the sequential metamorphic stages.

After the metamorphosis, rapid multiplication of pterinosome is observed and enlargement of carotenoid vesicle is appeared after hibernation. These pigment granules are seen several structures by the differentiated level.

緒 論

변온척추동물의 피부 색소세포에 대한 연구는 일찌기 Dushane(1934, 1935), Niu(1954, 1959) 등에 의해 양서류 색소세포의 起原 및 발생과정이 일부 다루어졌으며, Lehman(1957)은 도롱뇽(*Amblystoma mexicanum*)의 색소세포 형성에 대해서, Volpe(1964), Weston(1970) 등은 색소세포의 기원인 神經堤(neural crest)의 分化에 대해, 그리고 근래에는 Bagnara 등(1979)에 의해 색소세포의 起原에 대한 연구가 이루어졌다.

한편 Taylor와 Hadley (1970), Bagnara와 Hadley (1973)에 의해서 양서류 체색변화의 機作이 밝혀졌으며, Obika와 Matsumoto (1968), Bagnara와 Hadley (1969), Bagnara 등 (1969)에 의해 有彩色을 나타내는 피부에 대한 形態 및 生化學的인 연구가 이루어 졌다. 특히 Alexander와 Fahrenbach (1969), Kawaguti 등 (1965), Bagnara 등 (1968), Berns와 Narayan (1970), Tayloy와 Bagnara (1972)은 양서류와 파충류의 眞皮性 色素細胞 複合體에 대해서, 그리고 Ortiz 등 (1963), Ortiz와 Williams-Ashmann (1963), Obika와 Matsumoto (1968), Obika (1970), Kamei-Takeuchi와 Hama (1971), Yasutomi와 Hama (1971, 1972)는 pteridine 色素顆粒인 pterinosome의 형태 및 생리적 특성에 대한 연구를 시도하였다.

국내 서식종에 대한 연구는 Moon 등 (1983), Kim 등 (1984, 1985)에 의해 몇가지 양서류의 색소세포 미세구조가 밝혀져 있으나, 색소세포의 發生 및 分化에 대한 연구는 Moon 등 (1984)에 의해 무당개구리 赤色素細胞(erythrophore)의 分化에 관한 연구가 최근에 이루어져 있을 뿐이다.

무당개구리(*Bombina orientalis* Boulenger)는 양서류 *Bombina*屬의 4種 중에서 주로 한반도 일대에 서식하며, 그 색소체계가 독특하여 腹皮에서는 赤色素細胞가, 그리고 背皮에서는 黃色素細胞가 각 색소세포 복합체의 최상부층을 이루며 적색과 청록색 발현에 관여하고 있음이 알려져 있다(Moon *et al.*, 1983).

本 論文은 무당개구리 發生 및 變態에 따른 피부 색소세포의 분화과정과 색소과립의 미세구조적인 變化를 규명하기 위해 시도한 일련의 실험 중에서 背皮의 黃色素細胞에 대한 연구 결과이다.

## 材料 및 方法

京畿道 抱川群 深谷里(왕방산) 일대에서 채집한 무당개구리(*Bombina orientalis* Boulenger) 成體(adult, young adult) 및 자연 산란되어 부화된 幼生을 야외에서 사육하여 變態의 각 단계별로 3개체씩을 재료로 하였다.

외부의 체색이 뚜렷하지 않은 유생기의 재료는 背皮의 일정 부위를, 그리고 체색이 뚜렷한 성체 및 변태기 이후의 재료는 청록색 발현 부위를 0.64% 생리식염용액 내에서 切開하여 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde(4°C, phosphate buffer, pH 7.2)와 1% OsO<sub>4</sub> (4°C, phosphate buffer, pH 7.2)로 진·후 固定한 다음 ethanol농도 상승 순으로 탈수하였으며, propylenoxide로 치환하여 Epon-Araldite 혼합액에 包埋하였다.

포매된 조직은 Sorvall MT-2 및 LKB ultramicrotome으로 초박절편을 제작하여 collodion 膜을 입힌 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate(aqueous sol.)와 lead citrate에 염색하여 Hitachi HS-7S(50 KV) 및 JEM 100CX-II (80 KV) 전자현미경으로 관찰하였다.

## 結 果

무당개구리 背皮 청록색 발현에 관여하는 피부 색소세포는 黃色素細胞와 虹色素細胞 그리고 黑色素細胞의 3층으로 이루어진 진피성 색소세포 複合體이며, 表皮性 색소세포는 관

찰되지 않았다(Fig. 1).

성체의 황색소세포는 일반적으로 길고 불규칙한 핵을 가지고 있으며, 기저막을 따라 길게 돌기를 뻗고 있는 세포질 내부에 색소과립인 pterinosome과 carotenoid vesicle들만이 가득차 있을 뿐, 다른 세포 소기관은 관찰되지 않았다(Fig. 2). Pterinosome은 대부분이 동심원상의 lamella형태를 하고 있으며, 불규칙한 膜狀, 纖維狀의 내부구조를 가지는 과립들도 일부 관찰된다(Fig. 3). Carotenoid vesicle은 주변부의 전자밀도가 내부보다 높은 대형의 과립(1.0~1.5  $\mu\text{m}$ )과 전자밀도가 전체적으로 일정한 소형의 과립(0.3~0.6  $\mu\text{m}$ )들이 pterinosome과 함께 섞여서 관찰되는데, 대형의 과립은 이 시기의 표본에서만 특이하게 나타났다(Fig. 3).

부화후 섭식을 시작하기 전의 幼生期 背皮에서는 진피성 색소세포들의 原基로 생각되는 2가지 종류의 세포들이 진피의 근육층 아래에서 나타나는데(Fig. 4), 하나는 세포질 내부에 rER이 매우 풍부한 세포이고(Fig. 5), 다른 하나는 Golgi complex가 풍부한 세포이다(Fig. 6). 이 들은 공통적으로 타원형의 핵과 긴 원형질의 돌기(cytoplasmic process), 그리고 세포질내에 많은 mitochondria를 가지고 있는데, 서로 총상구조를 이루고 있기는 하지만 상호간의 배열순서는 일정하지 않았다(Fig. 7).

섭식을 시작한 유생기 背皮에서는 이들 2가지 종류의 세포총상·하부에서 分化된 황색소세포가 최초로 관찰되었다(Fig. 8). 불규칙한 핵을 가진 황색소세포의 세포질속에는 pterinosome과 外膜이 없는 소형의 carotenoid vesicle들이 형성되어 있고(Fig. 9), 색소과립의 前驅형태인 多胞體(multivesicular body)도 다수 관찰되었다(Fig. 8).

색소세포가 진피의 근육층을 가로질러 上部로 이동하는 현상은 變態期의 幼生기에 걸쳐 점진적으로 이루어지고, 後肢가 생겨나오는 시기에서는 황색소세포의 아래층에서 홍색소세포가 형성되기 시작하였다(Fig. 10). 이 들 색소세포의 주변부에서도 rER이 풍부한 세포 및 Golgi complex가 풍부한 세포들이 관찰되는데(Fig. 11), rER이 풍부한 세포의 핵 주변부에서는 다수의 mitochondria가, 그리고 Golgi complex가 함유된 세포질의 내부에서는 mitochondria와 많은 vacuole들이 각각 관찰되었다(Fig. 12). 홍색소세포의 색소과립인 反射小板(reflecting platelet)의 배열상태는 이 시기에 비교적 불규칙하며, 황색소세포 및 Golgi complex가 풍부한 세포와 함께 서로 융합되어 있는 형태도 관찰되었다(Fig. 12).

변태기 前肢 출현시기를 전후하여서는 rER로부터 과립의 형성이 매우 활발해지고(Fig. 13), pterinosome내부에도 물질의 축적이 왕성해짐을 관찰하였다(Fig. 14, 15).

변태가 완료되는 시기에서는 색소과립의 급격한 증가현상이 관찰되는데, 이 현상은 pterinosome의 경우에 더욱 현저하게 나타난다(Fig. 16). 이 시기의 pterinosome은 전체적으로 불규칙한 섬유상의 내부물질로 이루어져 있지만(Fig. 17), 형성중인 lamella 형태의 과립들도 일부 관찰되었다(Fig. 18).

무당개구리의 외부 체색은 동면기를 거치면서 점진적으로 완성되어 이듬해 봄, 동면에서 갓 깨어난 어린 개구리에서 나타나는 외부의 色彩는 성체와 별 차이가 없고 전형적인 진피성 색소세포 복합체의 형태를 갖추고 있기는 하지만, 관찰되는 색소과립은 성체에 비해 pterinosome 分化의 정도가 낮은 상태이다(Fig. 19). 그리고 이 시기 以後의 표본에서는 rER 및 Golgi complex가 풍부한 세포들이 퇴화하여 관찰되지 않았다.

변태 후 1년이 경과한 조직의 표본에서는 carotenoid vesicle사이의 경계가 불분명해지고

서로 융합하여 과립의 크기가 증가하는 현상이 나타나며, pterinosome도 分化의 정도에 따라 불규칙한 膜狀, 纖維狀, 완성된 同心圓狀의 lamella형태 등 다양한 구조가 관찰되었다 (Fig. 20).

## 考 察

변온척추동물의 黃色 또는 赤色 발현에 관여하는 피부색소세포에는 carotenoid가 주성분인 것(lipophore)과 pteridine이 주성분인 것(allophore 또는 pterinophore)이 알려져 있으나 (Bagnara and Hadley, 1973), 실제로는 동일한 세포내에 두 계통의 색소가 共存하고 있는 경우가 대부분이므로, 현재는 단순히 색조에 따라 黃色素細胞(xanthophore)와 赤色素細胞(erythrophore)로 불리고 있다(及川·井出, 1982).

무당개구리 背皮의 선명한 청록색은 黃色素細胞, 虹色素細胞(iridophore), 黑色素細胞(melanophore)등 3種의 진피성 색소세포가 서로 層을 이룸으로써 단층일 때와는 다른 색채 발현효과를 나타냄이 밝혀져 있는데(Moon *et al.*, 1983), 이러한 진피성 색소세포 복합체를 Bagnara 등 (1968)은 진피성 색소세포 단위(dermal chromatophore unit)라고 명명하였다. 또한 Bagnara와 Hadley (1973)는 황색소세포의 기능이 적색의 장파장이나 청색의 단파장의 빛을 차단시키는 yellow filter의 역할을 담당하며 변온무척추동물의 체색변화를 일으키는 주역임을 밝힌 바 있다.

무당개구리 背皮의 황색소세포와 腹皮의 적색소세포를 비교 해 보면, 구성하는 색소과립은 pterinosome과 carotenoid resicle의 두가지 동일한 종류로 이루어져 있긴 하지만, 그 구성비율의 차이가 직접적으로 외부 체색의 차이를 나타냄을 관찰 할 수 있었다.

한편, 색소세포의 起源은 神經堤(neural crest)이며, 신경계는 神經管(neural tube)의 등쪽에 頭尾軸을 따라 배열된 세포집단으로서 여기서 색소세포 뿐만 아니라, 신경세포나 연골세포등도 발생되어 나옴이 알려져 있다(Weston, 1970).

색소세포의 분화를 일으키는 機作에 대해서는 아직 확실하게 밝혀진 바가 없지만, 색채의 형성은 chromatoblast가 분포하는 표피 및 중배엽에 의존하고 있으며, 환경요인이 색소세포의 분화를 조절하는 것으로 알려져 있다(Lehman and Youngs, 1959).

색소과립의 생성에 관해서는 Golgi complex 起原說(Toda and Fitzpatrick, 1971)과, rER에서 유래하는 vesicle에 Golgi complex에서 생긴 tyrosinase함유 소포가 융합됨으로써 multivesicular body를 형성하고, 융합된 소포의 표면에서부터 색소의 축적이 시작된다는 endoplasmic reticulum 융합설(Turner *et al.* 1975, Turner and Taylor, 1977) 등이 현재 인정되고 있다.

Yasutomi와 Hama (1971, 1972)는 pterinosome의 분화단계를 섬유상의 내부구조를 가지는 제 I 형, 완성된 동심원상의 lamella구조를 가지는 제 III 형, 그리고 중간형태의 제 II 형으로 나누었다. 이 들 세가지 형태의 과립들은 모두 동일한 크기이며 황색소세포 분화과정에서 pteridine색소의 축적정도에 따라 과립의 전자밀도가 달리 관찰되는 것으로 생각된다. Bagnara 등 (1979)은 pterinosome이 핵의 외막이 팽창되어 생긴 소포에서 유래 함을 시사하였는데, 유생기 황색소세포의 상·하부에서 관찰되는 rER이 풍부한 세포와 Golgi complex가 풍부한 세포의 존재는 pterinosome의 형성에 rER뿐만 아니라 Golgi complex도 직접적으로 관여하는 것으로 사료된다.

Carotenoid vesicle은 세포내 운동성을 나타내는 소형의 과립과 운동성을 나타내지 않는 대형의 과립이 알려져 있고, 정확한 형성과정은 현재까지 연구된 바가 없지만, carotenoid 색소가 내부에서 합성되어지는 것이 아니라 외부로부터의 공급에 의한다는 점(Byers and Porter, 1976, 1977), 그리고 이 색소과립에 외막이 관찰되지 않고, 과립의 형성시기가 섭식 시기와 일치한다는 결과 등으로 미루어 볼 때, carotenoid vesicle의 起原이 ER이나 Golgi complex도 아닌 것 같으며, 외부로부터 공급된 carotenoid 색소가 점진적으로 세포질내에 축적되어 그 축적의 정도에 따라 형태적인 차이가 나타나는 것으로 생각된다.

변태기동안 색소세포가 근육층 하단부에서 상단부인 기저막쪽으로 이동하는 현상에는 상피의 기저막과 그 아래의 collagen층 등이 관련되어 있는 것으로 알려져 있고(及川·井出, 1982), 변태 완료시기를 전후하여 나타나는 색소과립의 급격한 증가현상과 진피성 색소세포 단위의 형성은 생활환경이 수중에서 육상으로 전환 됨에 따라 나타나는 生理的 變化가 직접적인 원인이며, 환경요인이 이러한 分化를 조절하는 것으로 사료된다.

### 摘 要

무당개구리 (*Bombina orientalis* Boulenger) 背皮의 청록색 발현에 관여하는 黄色素細胞(xanthophore)의 분화과정을 광학 및 전자 현미경으로 관찰하였다.

성체의 개구리에서 관찰되는 황색소세포는 pterinosome과 carotenoid vesicle등 2가지 색소과립을 함유하고 있으며, 진피의 다른 색소세포들과 複合體를 이루어 기저막을 따라 길게 세포질의 돌기를 뻗고 있었다.

최초의 황색소세포는 幼生期의 섭식시기를 전후하여 진피층에 나타나는 rER이 풍부한 세포와 Golgi complex가 풍부한 세포로부터 發生·分化하며 변태의 각 단계를 거치면서 점진적으로 색소과립의 형성이 이루어진다.

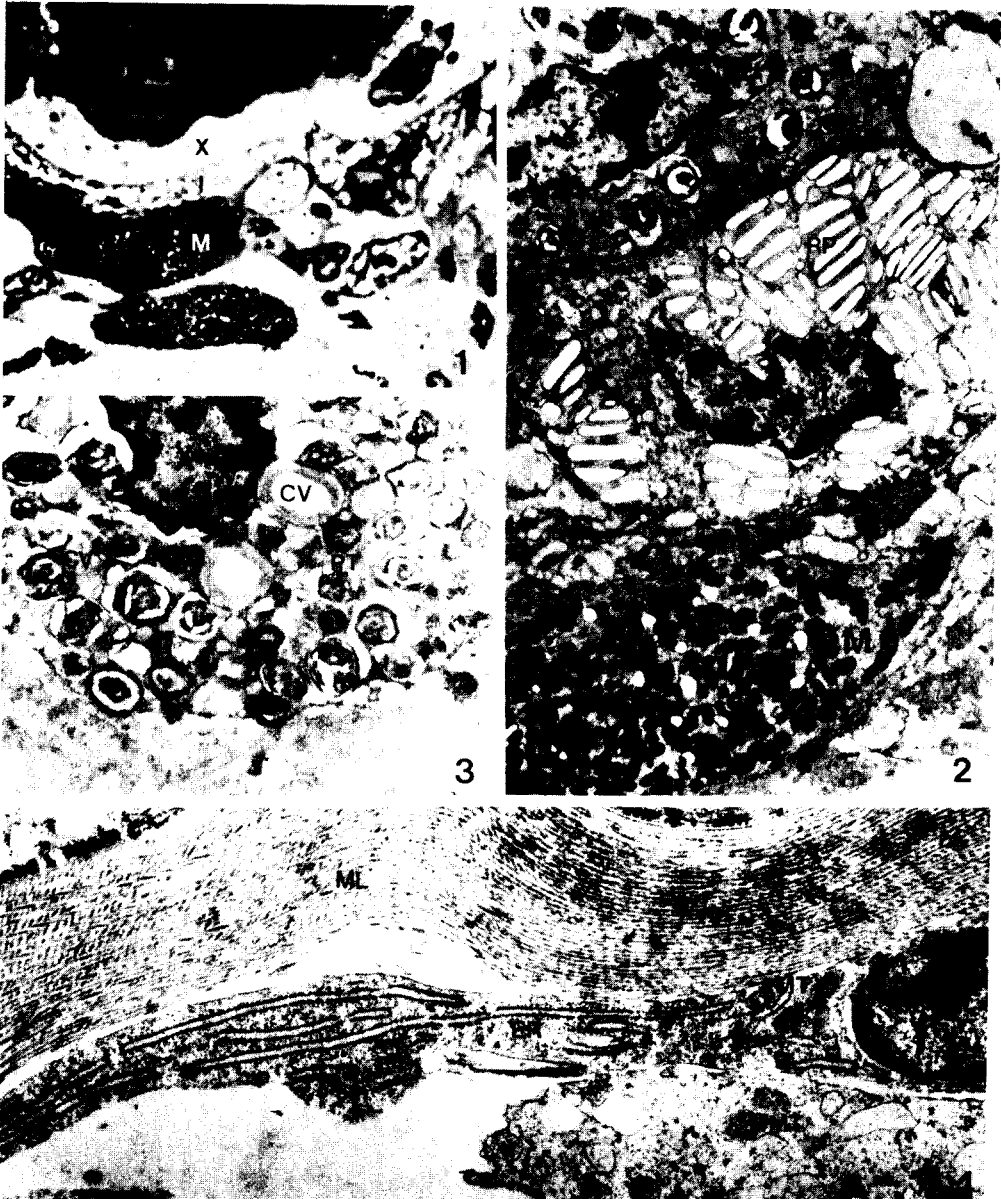
변태가 완료되는 시기를 전후하여 pterinosome의 급격한 증가현상이, 그리고 동면기 이후에는 carotenoid vesicle의 증가 현상이 관찰되는데, 이들 색소과립은 분화의 정도에 따라 여러 가지 구조를 나타내었다.

### 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, 425-438.
- Bagnara, J.T. & M.E. Hadley, 1973. Chromatophores and color change. Prentice-Hall, 58-68.
- Bagnara, J.T., J. Matsmoto, W. Ferris, S.K. Frost, W.A. Turuer 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**, 541-558.
- 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.
- Kamei-Takeuchi, I. & Hama, T., 1971. Structural change of pterinosome (pteridine pigment granule) during the xanthophore differentiation of *Oryzias* fish. *J. Ultrastruct. Res.*, **34**, 452-463.
- Kawaguti, S., Y. Kamishina & K. Sato, 1965. Electron microscopic study on the green skin of the tree frog. *Biol. J. Okayama Univ.*, **11**, 97-109.
- Kim, H.H., Y.D. Chi & Y.W. Moon, 1984. The ultrastructure of the cutaneous pigment cells in *Rana nigromaculata coreana* Okada. *Korean J. Zool.*, **27**, 231-240.
- Kim, H.H., Y.D. Chi & Y.W. Moon, 1985. The ultrastructure of the cutaneous pigment cells in *Rana temporaria dybowskii* Güenther. *Korean J. Zool.*, **28**, 137-150.
- 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 (ed. M. Gordon). Academic Press, 1-36.
- 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*, **13**, 12-22.
- Moon, M.J., W.K. Kim & C.W. Kim, 1984. Electron microscopic study of the cutaneous erythrocyte differentiation in *Bombina orientalis*. *Korean J. Zool.*, **27**, 165-176.
- 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. & J. Matsumoto, 1968. Morphological and biochemical studies on 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 (にの特異な集団). 講談社, 32-58.
- Ortiz, E., E. Bächli, D. Price & H.G. Williams-Ashman, 1963. Red pteridine pigments in the dewlaps of some *Anolis*. *Physiol. Zool.*, **36**, 97-103.
- Ortiz, E. & H.G. Williams-Ashmann, 1963. Identification of skin pteridines in the pasture lizard *Anolis pulchellus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **10**, 181-190.
- Seiji, M. & T.B. Fitzpatrick, 1961. The reciprocal relationship between melanization and tyrosinase activity in melanosomes (melanin granules). *J. Biochem.*, **49**, 700-706.
- 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.
- Toda, T. & T.B. Fitzpatrick, 1971. The biology of normal and abnormal skin (ed. Kawamura, T. et al.). Tokyo Univ. Press.

- Turner, W.A. Jr., J.D. Taylor & T.T. Tchen, 1975. Melanosome formation in the goldfish; the role of multivesicular bodies. *J. Ultrastruct. Res.*, 51, 16-31.
- Turner, W.A. Jr. & J.D. Taylor, 1977. Heterochromatin dispersion and blebbing of the nuclear membrane induced by melanophore stimulating hormone. *Exp. Cell Res.*, 106, 417-422.
- 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.
- Wright, M.M. & A.B. Lerner, 1960. On movement of pigment granules in frog melanocytes. *Endocrinology*, 66, 599-609.
- Yasutomi, M. & T. Hama, 1971. Ultramicroscopic study of the developmental 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.

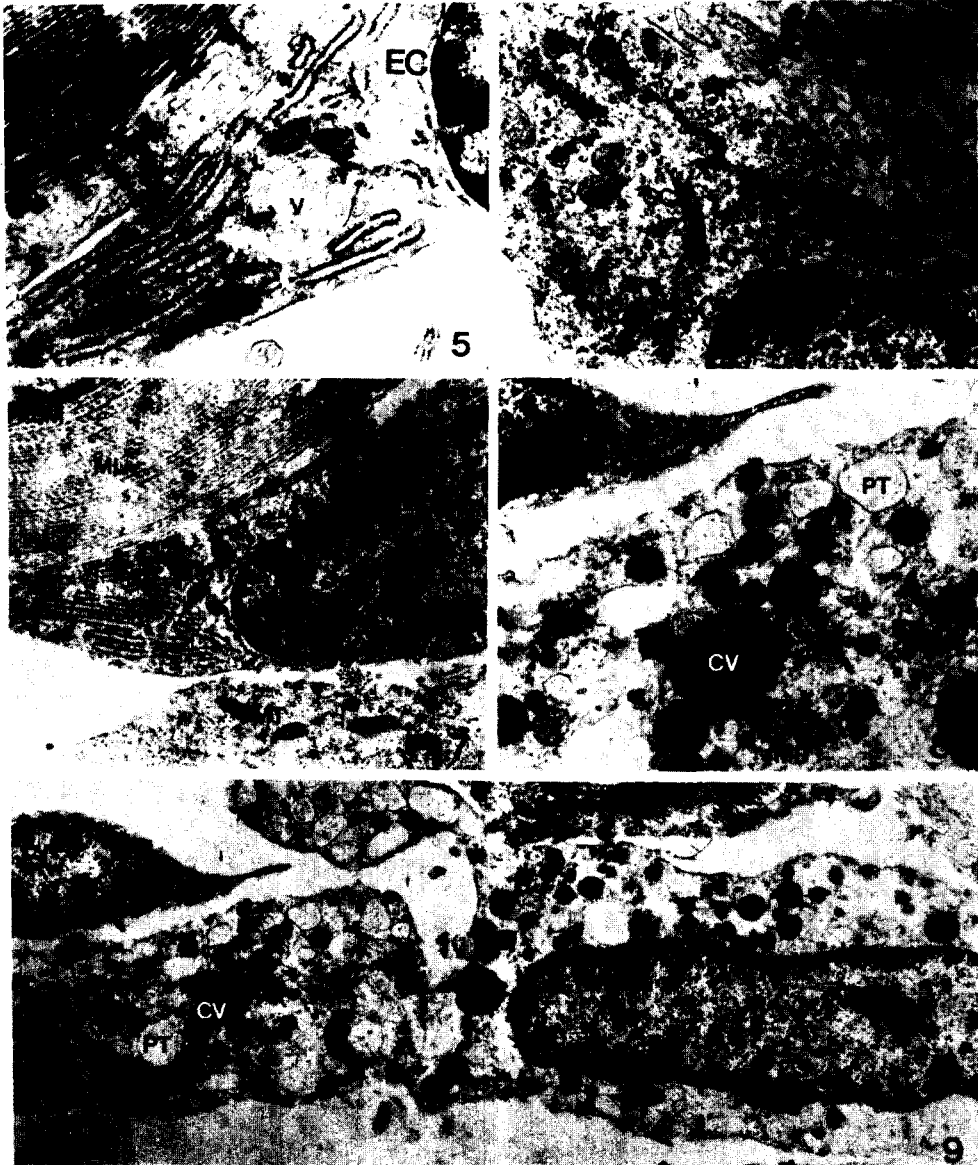


**Fig. 1.** Photomicrograph of green colored dorsal skin in adult frog. ( $\times 3,450$ )

**Fig. 2, 3.** Electron micrographs of adult dorsal skin. Three major types of dermal chromatophores composed of xanthophores (X), iridophores (I) and melanophores (M) are observed just beneath the basement membrane (BM). Pigment granules of the xanthophores are large and small sized carotenoid vesicles (CV) and several types of pterinosomes (PT). ( $\times 9,500$ ) ( $\times 6,500$ )

**Fig. 4.** At the larval stage before feeding, rER rich cells (ER) and Golgi complex rich cells (GC) which assumed the precursors of the dermal chromatophores are distributed parallel to the basement membrane (BM) beneath the muscle layer (ML) of dermis.



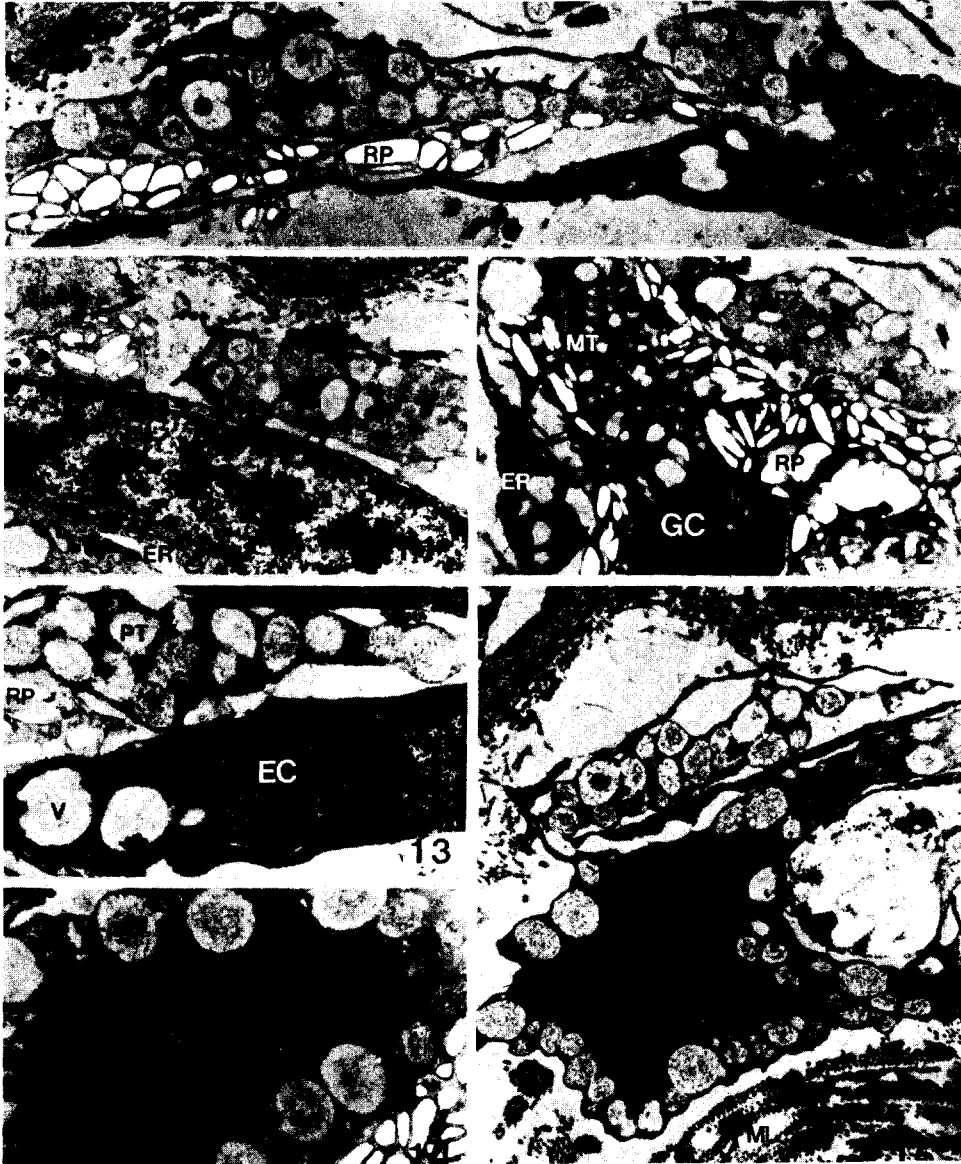


**Fig. 5.** Electron micrograph of rER rich cell. ( $\times 24,000$ )

**Fig. 6.** Electron micrograph of Golgi complex rich cell. ( $\times 20,000$ )

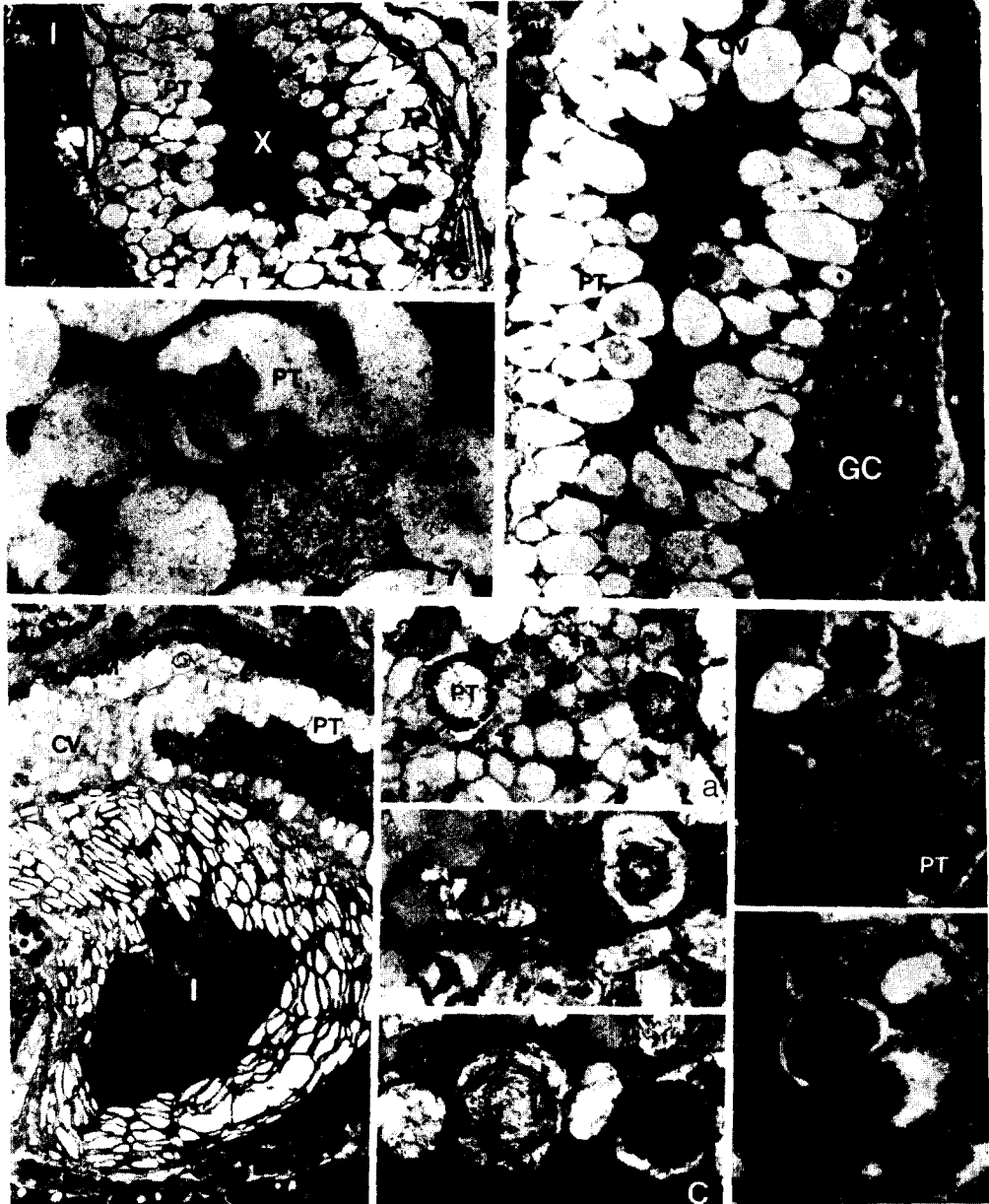
**Fig. 7.** Two precursors of the dermal chromatophores commonly contain ellipsoid shaped nucleus, well developed cytoplasmic process and plenty of mitochondria (MT). ( $\times 15,000$ )

**Fig. 8, 9.** At the larval stage after feeding, the first differentiated xanthophores are originated from both rER rich cells and Golgi complex rich cells but the differentiated level of pterinosomes is not remarkable and the accumulation state of carotenoid pigment is also relatively low. At this stage, several multivesicular bodies (MB) which presumed to the intermediate state state of pigment granules are observed within the cytoplasm of xanthophores. ( $\times 23,000$ ) ( $\times 10,800$ )



**Fig. 10, 11, 12.** At the hind leg developing stage of metamorphosis, iridophores as well as xanthophores are developed from both rER rich cells and Golgi complex rich cells. Fusion between Golgi complex rich cells and iridophores is occasionally appeared at this stage. Reflecting platelets (RP)—pigment granules of iridophores—are arranged irregularly and within the cytoplasm of rER rich cells, plenty of vacuoles (V) and mitochondria are observed. ( $\times 9,000$ ) ( $\times 7,800$ ) ( $\times 7,800$ )

**Fig. 13, 14, 15.** At the fore leg developing stage of metamorphosis, formation of pigment granules from rER rich cell is very active and chromatophore migration from inferior region to superior region of muscle layer (ML) is accomplished at this stage. ( $\times 14,000$ ) ( $\times 11,200$ ) ( $\times 8,000$ )



**Fig. 16, 17, 18.** After the metamorphosis, nucleus of xanthophores is tightly condensed by rapid multiplication of pterinosome and internal region of these pigment granules are filled with fibrous materials and concentric lamella shaped materials. ( $\times 5,600$ ) ( $\times 28,000$ ) ( $\times 9,400$ )

**Fig. 19, 20.** After hibernation, carotenoid vesicles are fused each other and making large granules and formation of dermal chromatophore unit is carried out at this stage. Pigment granules of pterinosomes are appeared several structures by the differentiated level such as fibrous, membranous and concentric lamella shaped pterinosomes. ( $\times 6,400$ ) ( $\times 16,000$ )