

Leopard danio 반문의 유전 양상과 생존율에 미치는 영향

이병문 · 강거영 · 송춘복*

제주대학교 대학원 수산생물학과, *제주대학교 해양생물공학과

Genetic Analysis of Pigmentation Pattern in the Leopard Danio

Byung Moon Lee, Geo Young Kang and Choon Bok Song*

Department of Marine Biology, Graduate School, Cheju National University
Cheju City 690-756, Korea

*Department of Marine Biotechnology, Cheju National University, Cheju City 690-756, Korea

Genetic analysis of body pigmentation pattern has been conducted by the reciprocal monohybrid and back crosses using the wild type zebrafish, *Danio rerio*, and its aquarium morphs (mutants), leopard danio. Also, the effect of pigmentation mutation was investigated with regard to the survival rates of eggs and larvae for the first 15 days after fertilization. As a result, the pattern of pigment distribution was inherited by a single gene having two alleles, and which was basically followed by the principle of dominance and segregation in Mendelian inheritance. A locus for pigment pattern turned out to be located on an autosomal chromosome. Average survival rates estimated from the various crosses between, and within, wild type zebrafish and leopard danio were as follows : they were $80.6 \pm 4.8\%$ from the crosses within leopard danios ($L \times L$), $70.6 \pm 4.2\%$ between leopard female and wild type male ($L \times Z$), $73.2 \pm 2.0\%$ between wild type female and leopard male ($Z \times L$), and $83.8 \pm 6.7\%$ within wild type zebrafish ($Z \times Z$). These results indicated that the leopard danio, which were reported as an "aquarium morph" several decades ago and also known as a mutant in pigmentation pattern of the wild type zebrafish, seemed to be genetically stable like the wild type of zebrafish.

Key words : Leopard danio, Genetic analysis, Pigmentation pattern

서 론

Zebra danio는 잉어과 어류로서 분리 침성란을 낳으며 천어관리가 손쉬울 뿐만 아니라 생활사가 빠르고 알이 투명하기 때문에 발생학(Goodrich and Nichols, 1931 ; Eaton and Farley, 1974a, 1974b), 유전학(Frankel, 1979 ; Streisinger et al., 1986 ; Kavumpurath and Pandian, 1992) 연구를 위한 실험 어류로서 널리 사용되어왔다. 보다 최근에는 "zebrafish meeting"이 활성화 되면서 zebrafish는 척추동물의

다양한 생물학적인 이해를 증진시키기 위한 모델 동물로서 부각되었으며 분자세포생물학을 비롯한 여러 분야에서 연구되고 있다 (Gaiano et al., 1996 ; Krone et al., 1997 ; Gong et al., 1997 ; Kermouni et al., 1998).

한편, 이 실험에 사용한 zebra danio의 반문 변이종인 leopard danio는 *Brachydanio frankei*라는 학명을 사용하여 신종으로 보고되었으며 zebra danio (*Brachydanio rerio*)와는 다른 종으로 취급하였다(Meinken, 1963). 그러나 육안적으로 몸통에 줄무늬 대신에 검은 반점이 산재해

있다는 점 이외에는 zebra danio와 매우 유사한 외부 형태를 보이고 자연생태계에서의 서식이 보고된 바 없으며 그 근원이 불분명하여 오랫동안 논란의 대상이 되어 왔다(Petrovicky, 1966; Frank, 1966). 속명(genus)의 사용에 있어서도 많은 연구자들은 *Danio*와 *Brachydanio*를 혼용해 왔으나 Barman (1991)은 *Danio*속의 분류학적 재검토에서 속명으로 *Danio*의 정당성을 주장하였으며, 최근에는 16S mitochondrial DNA의 염기서열을 이용한 계통분류학적 연구 결과를 바탕으로 leopard danio는 *D. rerio*의 반문 변이 혹은 aquarium breeding morph임이 확인되었다(Meyer et al., 1993). 한편, Gordon (1953)은 표현형 실험에 있어서 생존율 실험의 중요성을 시사하였다. 그러나, 반문 돌연변이가 어류의 초기 발생에 미치는 영향에 관한 연구는 이제까지 시도된 바 없다.

어류 반문의 유전 양식에 관한 연구는 주로 관상 어류를 대상으로 이루어져 왔다. 예를 들면 sailfin mollies (Angus, 1983), jewel tetra (*Hyphessobrycon callistus*) (Frankel, 1982), 그리고 Sumatran tiger barb (*Barbus tetrazona*) (Frankel, 1985) 등을 대상으로 한 연구 결과가 보고되었다. 그리고 zebra danio와 leopard danio의 교배 실험을 통한 이들 반문을 결정하는 대립유전자의 행동에 관한 연구는 Tan and Phang (1995)에 의해서 시도된 바있다. 그러나, 다수의 역교배 및 검정교배를 행하지 않았기 때문에 보다 철저한 교배계획을 통해 검정의 필요성이 있다고 생각되었다.

따라서, 이 연구는 zebra danio와 leopard danio의 교배를 통하여 반문을 결정하는 대립유전자가 부모세대에서 자손으로 어떠한 유전 양식으로 전달되는지를 보다 깊게 이해하고, 반문 변이가 어류의 초기 생존율에 미치는 영향을 규명하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

실험에 사용한 zebrafish 친어들은 wild type

인 zebra danio와 반문 돌연변이인 leopard danio (spotted type)를 대상으로 하였다(Fig. 1). 친어들은 strain 마다 분리 수용하여 사육하였으며, 수온은 10월에서 이듬해 6월까지의 자동온도 조절기를 사용하여 24~28℃를 유지시켰으며, 7~9월에는 상온에서 사육하였다. 교배 실험은 이들 2종류의 danio를 대상으로 상반교배(reciprocal cross)를 병행한 부모세대(P₀)간, F₁세대 간 그리고 역교배를 실시하여 나타난 표현형의 비율을 조사하였다. 교배계획의 모식도를 Fig. 2에 나타내었다.

자연산란시 친어에 의한 알의 포식을 방지하기 위해 산란망(15cm×8cm×6cm, 망목: 1.0cm×1.5cm)을 설치하여 산란을 유도하였다. 그리고 친어는 산란망 내에서 알을 받기 하루 전에 성숙한 암컷과 수컷을 각각 한마리씩 수용하였고, 산란 후, 알의 수집은 정수된 상태에서 사이폰을 사용하여 수집하였다. 수집된 알은 수생균에 의한 감염을 막기 위하여 100 ppm methylenblue, 증류수, 해수의 용적비가 각각 1:1:18인 egg water를 넣은 petri-dish에 수용하여, 28℃의 인큐베이터 내에서 사육하였다.

부화 후 1일째의 자어들은 1ℓ비이커로 옮겨, 28℃로 유지시킨 water bath에서 사육하였다. 먹이 공급은 먹이를 찾아 자유 유영하기 시작하는 부화 후 2~3일부터 12일까지 250 μm 크기의 미립자 사료를 공급하였다. 13~15일까지는 미립자 사료와 알테미아를 병용하여 공급하였고, 그 이후에는 20ℓ 유리수조로 옮겨 알테미아를 단독 공급하였다. 먹이는 하루에 4번 공급하였다(9:00, 12:00, 15:00, 18:00). 수조내 찌꺼기는 2일마다 청소하였으며, 이 때 죽은 개체수를 계수한 후 1/3의 사육수를 환수하여 주었다.

생존율 조사를 위한 자치어의 사육은 26.5℃에서 행하였으며 수정 후 12시간에 백탁되지 않은 건강한 알을 수정란으로 간주하였다. 그리고 수정 후 15일까지 24시간 간격으로 발생이 정지된 알 또는 사망한 알과 개체들을 제거하면서 그 수를 계수하였다. 각 실험은 6회 반복 실시하였으며

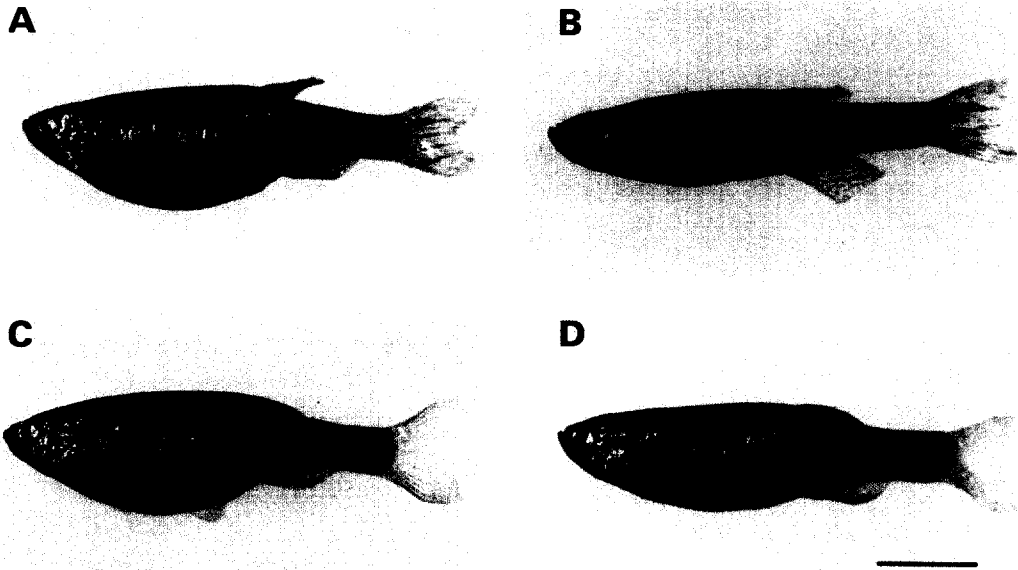


Fig. 1. The wild (A, B) and spotted (C, D) types of zebrafish used in this study. A : Zebra danio female ; B : Zebra danio male ; C : Leopard danio female ; D : Leopard danio male. Bar 1 cm.

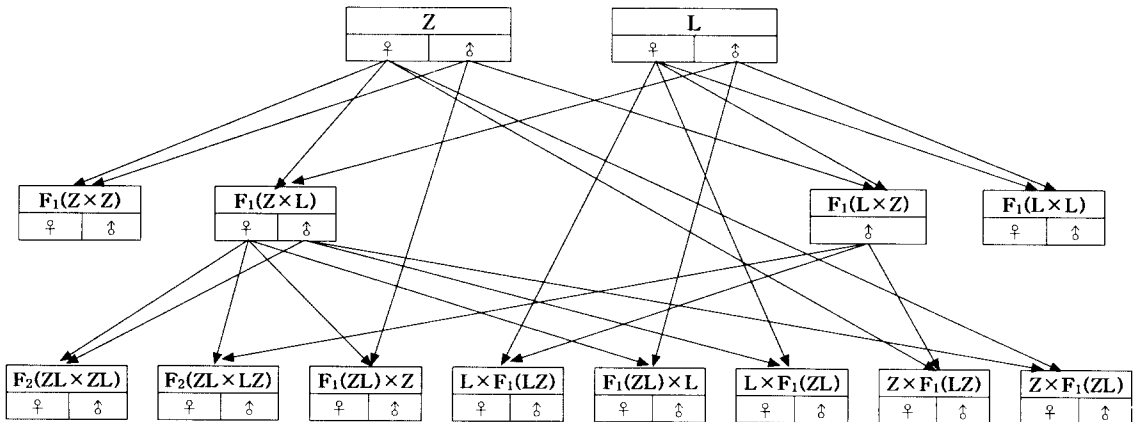


Fig. 2. A diagram of the mating program within, and between, zebra danios, leopard danios and its F_1 progenies. Z : Zebra danio ; L : Leopard danio ; $F_1(Z \times Z)$: F_1 progeny obtained from the mating of female and male zebra danio ; $F_1(Z \times L)$: F_1 progeny of female zebra danio and male leopard danio ; $F_1(L \times L)$: F_1 progeny of female leopard danio and male leopard danio ; $F_1(L \times Z)$: F_1 progeny of female leopard danio and male zebra danio ; $F_2(ZL \times ZL)$: F_2 progeny of $F_1(Z \times L)$ female and $F_1(Z \times L)$ male ; $F_2(ZL \times LZ)$: F_2 progeny of $F_1(Z \times L)$ female and $F_1(L \times Z)$ male ; $F_1(ZL) \times Z$: progeny of $F_1(Z \times L)$ female and male zebra danio ; $Z \times F_1(ZL)$: Progeny of female zebra danio and $F_1(Z \times L)$ male ; $Z \times F_1(LZ)$: Progeny of female zebra danio and $F_1(L \times Z)$ male ; $L \times F_1(LZ)$: Progeny of female leopard danio and $F_1(L \times Z)$ male ; $L \times F_1(ZL)$: Progeny of female leopard danio and $F_1(Z \times L)$ male ; $F_1(ZL) \times L$: Progeny of $F_1(Z \times L)$ female and male leopard danio.

각 실험구의 어류들은 육안으로 표현형이 구분되는 60일까지 사육하였다.

반문돌연변이의 생존율에 미치는 영향은 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test (Duncan, 1995)를 이용하여 유의차를 검정하였고, 각 교배실험에서의 표현형비는 χ^2 를 사용하여 검정하였다. 각 교배 실험은 2~4회 반복 실시하였다.

결 과

반문의 유전 양상

Zebra danio와 leopard danio의 반문을 결정하는 유전자는 상염색체 상에 존재하며, zebra danio는 동형 우성(PP), leopard danio는 동형 열성(pp)이라고 가정하였고, 이들 가정을 증명하기 위하여 부모(P₀)세대 간, F₁세대 간의 교배와 역교배를 실시하였다.

Zebra danio와 leopard danio의 친어 간의 상반교배 실험 결과는 Table 1에 나타내었다. zebra danio 암수 간에 행해진 두 번의 교배실험(각각 391개체, 266개체)에서 생산된 자손들은 모두 wild type으로 나타났고, leopard danio 암수와의 교배에서도 두 번의 반복구(각각 213개체, 121개체)에서 모두 wild type이 출현하였다. 한편, zebra danio 암컷과 leopard danio 수컷

strain 간의 교배실험에서 세 개의 반복실험구(각각 83개체, 51개체, 210개체)의 자손들은 모두 wild type으로 나타났다. leopard danio 암컷과 zebra danio 수컷과의 교배실험에서는 첫 번째 반복구에서 5마리의 small spotted type 개체가 출현한 것을 제외하고는 모두 wild type의 자손이 출현하였다.

Zebra danio와 leopard danio와의 실험에서 생산된 F₁세대 간의 상반교배의 실험 결과는 Table 2에 나타내었다. F₁(ZL)과 F₁(LZ)을 교배하였을 경우 wild type과 spotted type의 비율이 세 개의 실험구에서 각각 1.95 : 1, 3.06 : 1, 2.54 : 1로 나타나, 3 : 1의 기대치와 유의차는 없었다(p>0.05). F₁(ZL)×F₁(LZ)의 경우에도 각각 3.39 : 1, 2.96 : 1, 4.18 : 1로 나타나서 기대치와의 유의차를 나타내지 않았다(p>0.05).

Zebra danio와 leopard danio 친어와 F₁개체를 대상으로 하여, 상반교배를 병행한 역교배와 검정교배의 결과는 Table 3에 나타낸 바와 같다. Z×F₁(ZL)의 교배에서 반복실험구는 각각 217개체와 187개체 모두 wild type을 나타내었다. Z×F₁(LZ)에서 첫 번째 반복구는 1개체의 spotted type을 제외한 178개체가 wild type으로 출현하였고, 두 번, 세 번째 반복실험구에서는 반문

Table 1. Results of progeny tests from matings between zebra (wild type) and leopard danio (spotted type) showing putative parental genotypes and phenotypic frequency of progeny

Cross (♀×♂)	Trial no.	Putative parental genotype		Phenotypic frequency of progeny		
		Female	Male	Wild type	Spotted type	Small spotted type
Z×L	1	PP	PP	83	0	—
	2	PP	PP	51	0	—
	3	PP	PP	210	0	—
L×Z	1	PP	PP	78	0	5
	2	PP	PP	125	0	—
	3	PP	PP	80	0	—
	4	PP	PP	172	0	—
Z×Z	1	PP	PP	391	0	—
	2	PP	PP	266	0	—
L×L	1	pp	pp	0	213	—
	2	pp	pp	0	121	—

Z : Parental zebra danio ; L : Parental leopard danio.

Table 2. Results of progeny tests from matings between F₁ progenies showing putative parental genotypes, phenotypic frequency of progeny, and their observed and expected ratio

Cross (♀ × ♂)	Trial no.	Putative parental genotype		Phenotypic frequency of progeny		Observed ratio	Expected ratio	P
		Female	Male	Wild type	Spotted type			
F ₁ (ZL) × F ₁ (ZL)	1	Pp	Pp	43	22	1.95 : 1		0.10-0.05
	2	Pp	Pp	101	33	3.06 : 1	3 : 1	0.95-0.90
	3	Pp	Pp	33	13	2.54 : 1		0.75-0.50
F ₁ (ZL) × F ₁ (LZ)	1	Pp	Pp	78	23	3.39 : 1		0.75-0.50
	2	Pp	Pp	80	27	2.96 : 1	3 : 1	0.95-0.90
	3	Pp	Pp	46	11	4.18 : 1		0.50-0.25

F₁(ZL) : F₁ progeny from the mating of female zebra danio and male leopard danio ; F₁(LZ) : F₁ progeny of female leopard danio and male zebra danio.

Table 3. Results of progeny tests from the reciprocal backcrosses showing putative parental genotypes, phenotypic frequency, observed ratios and its probability of fit against expected ratios

Cross (♀ × ♂)	Trial no.	Putative parental genotype		Phenotypic frequency of progeny			Observed ratio	Expected ratio	P
		Female	Male	Wild type	Spotted type	Small spotted type			
Z × F ₁ (ZL)	1	PP	Pp	217	—	—	—	—	—
	2	PP	Pp	187	—	—	—	—	—
Z × F ₁ (LZ)	1	PP	Pp	178	1	—	178.00 : 1	—	—
	2	Pp	Pp	79	29	—	2.70 : 1	3 : 1	0.75-0.50
	3	Pp	Pp	51	13	—	3.90 : 1	3 : 1	0.50-0.25
F ₁ (ZL) × Z	1	Pp	PP	275	0	—	—	—	—
	2	Pp	PP	357	0	—	—	—	—
	3	Pp	PP	243	0	—	—	—	—
L × F ₁ (LZ)	1	pp	Pp	95	99	40	0.90 : 1		0.90-0.75
	2	pp	Pp	94	74	—	1.27 : 1	1 : 1	0.25-0.10
	3	pp	Pp	33	44	—	0.75 : 1		0.50-0.25
L × F ₁ (ZL)	1	pp	Pp	120	115	—	1.04 : 1	1 : 1	0.90-0.75
	2	pp	Pp	61	77	—	0.79 : 1		0.25-0.10
F ₁ (ZL) × L	1	Pp	pp	46	42	—	1.01 : 1	1 : 1	0.90-0.75
	2	Pp	pp	22	18	—	1.22 : 1		0.75-0.50

의 출현 비율이 각각 2.7 : 1과 3.9 : 1로 나타나, 기대치인 1 : 1과는 차이가 있었으나(p < 0.01), 3 : 1의 비율과는 유의차를 나타내지 않았다(p > 0.05). F₁(ZL) × Z의 교배실험에서는 세 개의 실험구(각각 257개체, 357개체, 243개체) 모두 wild type으로 출현하였다. L × F₁(LZ)에서는 첫 번째 실험구에서 40개체의 small spotted type이 출현한 것을 제외하면, 나머지 두 개의 실험구에서 각각 1.27 : 1, 0.75 : 1로 1 : 1이라는 기대치

와 유의차가 없었다(p > 0.05). L × F₁(ZL)과 F₁(ZL) × L에서도 1 : 1의 기대치와 유의차를 보이지 않았다.

반문 돌연변이와 생존율 간의 관계

Zebra danio와 leopard danio의 수정란으로부터 15일까지의 알과 자치어의 생존율은 Table 4에 나타내었다. 알의 발생단계인 수정 후 1일째 생존율은 L × Z 교배군에서 가장 낮게 나타났으

Table 4. Average survival rates (%) of progenies from the cross (♀×♂) within, and between, zebra and leopard danio for the first 15 days after fertilization

Days after fertilization	Z×Z ^a	Z×L ^b	L×Z ^b	L×L ^a
1	95.1±2.2	94.3±4.6	91.9±2.6	94.8±1.2
2	92.2±3.3	87.4±3.1	83.4±4.9	92.8±1.5
3	90.6±3.8	84.2±1.6	81.8±5.0	92.8±2.4
4	89.4±4.3	83.1±1.2	80.1±5.5	89.2±2.2
5	88.0±5.3	82.1±1.3	78.5±4.2	88.4±2.1
6	87.9±5.1	80.7±1.6	76.9±4.4	87.8±2.1
7	87.7±5.0	79.8±1.2	75.7±3.6	86.1±2.6
8	87.7±5.0	77.7±1.8	75.1±3.6	85.2±3.0
9	86.2±5.4	76.6±1.8	74.1±3.9	84.0±3.2
10	85.7±5.4	76.0±1.6	73.4±3.6	82.6±3.7
11	85.4±5.2	75.6±1.6	72.1±3.6	82.1±4.1
12	85.4±5.2	73.8±1.9	71.8±3.6	81.8±4.4
13	83.8±6.7	73.5±2.0	71.0±4.1	81.5±4.6
14	83.8±6.7	73.4±2.0	70.7±4.0	80.7±4.9
15	83.8±6.7	73.2±2.0	70.6±4.2	80.6±4.8

Each survival rate (mean±SD) was calculated based on 6 replicates; the columns that have the same superscript in each fertilization type were not significantly different from each other ($p>0.05$).

며 나머지 교배에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 수정 후 2일째에는 Z×L 교배군 역시 상대적으로 낮은 생존율을 나타내기 시작하였다. 그 후 부화는 수정 후 3일째 부터 시작하여 4일째에 걸쳐서 일어났으며 부화가 끝나는 시기인 수정 후 4일째 부터 Z×Z, L×L, Z×L, 그리고 L×Z의 순으로 생존율이 점차 낮았다. 그 후 부화자어는 수조의 벽면에 하루정도(수정 후 5일째) 부착하여 지내다가 6일째에서 7일째에 걸쳐서 수조벽으로부터 유리하여 자유유영하였으며 먹이를 섭취하기 시작하였다. 실험을 종료한 수정 후 15일째의 생존율은 Z×Z (83.8±6.7%), L×L (80.6±4.8%), Z×L (73.2±2.0%), L×Z (70.6±4.2%)의 순을 나타내었다. 수정 후부터 15일까지의 교배군사이의 평균생존율의 차이를 통계적으로 검토해본 결과, Z×Z와 L×L사이의 생존율의 차이는 유의성을 나타내지 않았으나($p>0.05$), 이들과 Z×L 또는 L×Z와는 유의성을 보였다($p<0.05$). 그러나 Z×L과 L×Z 사이는 유의성이 없었다.

고 찰

Zebrafish의 반문을 결정하는 유전자가 자손

으로 어떻게 전달되는지를 알아보기 위한 교배실험의 결과, zebra danio와 leopard danio의 부모세대(P_0) 간의 상반교배를 병행한 교배실험에서 교배실험구의 대부분이 wild type으로 나타났다. 그리고 F_1 세대 간의 상반교배에 의해 태어난 F_2 세대의 wild type과 spotted type의 비율이 3 : 1의 기대치를 나타내어 반문을 결정하는 유전자는 상염색체 상에 존재함이 증명되었다. 이와 유사한 결과로서, 최근에 Song and Lee (1997)는 zebra danio와 golden danio와의 교배실험에서 체색을 결정하는 대립유전자는 wild type이 동형우성(GG), golden type이 동형열성(gg)이며, 이들은 상염색체상에 있는 한 개의 유전자에 의해 조절된다고 보고하였고, Frankel (1982)은 jewel tetra의 두 가지 체색인 shoulder spotted type과 spotless type과의 교배실험을 통해서 shoulder spotted type이 동형우성(S/S), spotless type이 동형열성(s/s)으로, F_1 세대와 검정교배실험에서 각각 3 : 1과 1 : 1의 비율로 나타났고, spotless type의 체색은 상염색체 상에 있는 한 개의 유전자에 의해 결정되며, 동형 열성이라고 보고하였다. 그리고 eye-spot rasbora (*Rasbora*

dorsiocellata)의 두 아종인 blue type과 silver type의 trunk coloration에 대한 연구에서 이들 trunk coloration에 관여하는 유전자는 하나이며 silver type (*a/a*)을 나타내는 대립인자(allele)는 blue type (*A/A*)에 관여하는 대립인자(*A*)에 대해 열성이며, silver type은 인자형이 동형 열성인 *aa*일 경우에 나타난다고 보고하였다(Frankel, 1987). 또한, *Danio*의 반문에 관여하는 유전자의 전달 양상에 관하여 Frankel (1979)은 *Danio nigrofasciatus* (leopard type, *SS*)와 *D. frankei* (spotted type, *ss*)의 중간 교배실험에서 F_1 세대는 모두 leopard type (*Ss*)으로 출현하며, F_1 세대 간의 교배와 역교배실험에서 leopard type (*SS*, *Ss*, *Ss*)과 spotted type (*SS*)의 비율이 각각 3 : 1과 1 : 1로 나타난다고 보고하였다.

한편, $L \times Z$ 교배실험구 중 하나의 실험구와 $L \times F_1(LZ)$ 교배실험구에서 leopard danio에서 보이는 spot의 크기보다 작고 조밀한 형태를 보이는 small spotted type이 각각 5개체와 40개체가 출현하였다. 이러한 예외적인 결과로서, Kavumpurath and Pandian (1992)은 zebra와 leopard danio의 교배실험에서 생산된 모든 개체가 중간형질로 나타나고, 이들의 출현에 대한 원인을 두 danio의 반문을 결정하는 유전자가 공우성(codominance)을 나타내기 때문이라고 보고하였다. 그러나 그들의 보고는 이들 두 danio의 친어에 대한 근원(source)이 불분명하고, 중간형질의 외부형태에 대한 구체적인 기록이 없을 뿐만 아니라 이들의 인자형과 표현형에 관한 구체적인 연구가 되어있지 않아서, 이 실험의 결과와 직접적인 비교는 할 수 없었다.

F_1 세대와 P_0 세대와의 상반교배를 병행한 역교배실험에서는 부모세대를 zebra danio로 사용한 경우 대부분 wild type로 나타났고, spotted type을 사용한 경우 대부분 예상되는 1 : 1의 비율로 나타났다. 그러나, $Z \times F_1(LZ)$ 교배실험구 중 두 개의 반복구(각각 2.70 : 1, 3.90 : 1)의 wild type과 spotted type 비율이 3 : 1로 나타났으며, 이는 F_1 세대간의 교배실험과 검정교배실

험의 결과에서 볼 때, zebra danio 암컷이 이형 접합자(*Pp*)였다고 추정되었다. 한편, Tan and Phang (1995)은 zebra danio와 leopard danio의 역교배실험 중 $Z \times F_1(ZL)$ 에서 1,233개체 중 2개체가 spotted type으로 나타난 예외적인 결과를 보고 하였으며, 이는 이 실험의 $Z \times F_1(LZ)$ 의 교배실험구에서 나타난 179개체 중 1개체가 spotted type으로 출현한 것과 유사한 결과를 보였다. 이러한 예외적인 결과에 대해 Tan and Phang (1995)은 spotted type의 출현을 암컷배우자의 돌연변이에 의해 생산되었거나, 제한된 표본 크기내에서 발생한 오차이거나 돌연변이가 아닌 S 대립유전자와 s 대립유전자의 조합 과정에서 불완전한 표현율(incomplete penetrance)에 기인한 것이라 추정하였으며, Angus (1983)는 sailfin mollies의 black과 spotted type은 melanin 색소 발현을 조절하는 enzyme 이 온도에 민감하다라고 보고하면서, 사육환경에 의한 반문 형태의 변이의 가능성에 대해서도 보고한 바 있다. 이러한 소수의 spotted type의 출현과 small spotted type의 출현에 대한 원인 중 유전적인 요인과 환경적인 요인을 구분하기 위해서는 유전적으로 동일한 clone 개체를 사용한 보다 세밀한 실험이 이루어져야 할 것이다.

몇 개의 예외적인 결과에 대해서 확실한 규명이 되지 않았지만, 전체적인 결과에서 볼 때, 이들의 반문을 조절하는 유전자는 zebra danio가 동형 우성(*PP*)이고, leopard danio가 동형 열성(*pp*)이며, 상염색체 상에 존재한다는 것을 알 수 있었다.

각 교배군의 유전적인 안정성을 알기 위한 생존율 실험에서 wild type zebra danio와 leopard danio와의 교배에서 평균생존율은 leopard danio 간($L \times L$)에는 $80.6 \pm 4.8\%$, leopard 암컷과 wild type 수컷 간($L \times Z$)에는 $70.6 \pm 4.2\%$, wild type 암컷과 leopard 수컷 간($Z \times L$)에는 $73.2 \pm 2.0\%$ 였고, wild type zebrafish 간($Z \times Z$)에는 $83.8 \pm 6.7\%$ 였다. 이러한 결과에서 볼 때, *D. frankei*로 알려졌던 leopard danio는 zebra-

fish의 “aquarium morph”인 반문 돌연변이체이지만 leopard danio 사이에 교배가 이루어질 경우에는 유전적으로 안정되어 있음을 알 수 있는 반면에, wild type zebrafish와는 다소의 유전적인 부조화가 존재한다고 추정된다.

요 약

Zebra danio와 leopard danio의 부모세대(P₀) 간의 상반교배를 병행한 교배실험에서 5개체의 small spotted type이 출현한 1개의 실험구를 제외하고는 모두 wild type으로 나타났다. 그리고 F₁세대 간의 상반교배로 태어난 F₂세대는 wild type과 spotted type의 비율이 모두 3 : 1로 나타났다.

F₁세대와 P₀세대와의 상반교배를 병행한 역교배실험에서는 부모세대를 zebra danio로 사용한 경우, wild type과 spotted type이 178 : 1, 2.7 : 1, 3.9 : 1로 출현하는 실험구를 제외하고는 모두 wild type으로 나타났고, spotted type을 사용한 역교배 및 검정교배실험에서 40개체의 small spotted type으로 출현하는 실험구를 제외하고는 모두 1 : 1의 비율을 나타내었다.

Z × F₁(LZ) 교배실험구 중 두 개의 반복구(각각 2.7 : 1, 3.9 : 1)에서 wild type과 spotted type의 비율이 3 : 1로 나타났으나, F₁세대간의 교배실험과 검정교배실험 결과, zebra danio 암컷이 이형접합자(Pp)였다고 추정되었다. Spotted type과 small spotted type으로 나타나는 예외적인 결과에 대해 아직까지 확실히 규명되지 않았지만, 모든 결과를 종합해 볼 때 반문을 조절하는 유전자와 인자형은 zebra danio가 동형 우성(PP)이고, leopard danio가 동형 열성(pp)이며, 유전자는 상염색체 상에 존재한다는 것을 알 수 있었다.

수정 후부터 15일째까지의 생존율 비교 실험에서 Z × Z (83.8 ± 6.7%)와 L × L (80.6 ± 4.8%)는 생존율에 있어서 그 차이가 통계적으로 유의하지 않았으며, 이들과 다른 교배군인 Z × L (73.2

± 2.0%)이나 L × Z (70.6 ± 4.2%)와는 유의차를 보였다. 따라서 *D. frankei*로 알려졌던 leopard danio는 zebrafish의 “aquarium morph”인 반문 돌연변이체이지만 leopard danio 사이에 교배가 이루어질 경우에는 유전적으로 안정되어 있음을 알 수 있는 반면에, wild type zebrafish와는 다소의 유전적인 부조화가 존재한다고 추정된다.

참 고 문 헌

- Angus, R.A., 1983. Genetic analysis of melanistic spotting in sailfin mollies. *J. Hered.*, 74 : 81-84.
- Barman, W.W., 1991. A taxonomic revision of the the Indo-Burmese species of *Danio* Hamilton-Buchanan (Pisces : Cyprinidae). *Rec. Zool. Surv. India Occ. Paper*, 137 : 1-91.
- Dancan, D.B., 1995. Multiple-range test and multiple F tests. *Biometrics*, 11 : 1-42.
- Goodrich, H.B. and R. Nichols, 1931. The development and the regeneration of the color pattern in *Brachydanio rerio*. *J. Morphol. & Physiol.*, 52(2) : 513-523.
- Eaton, R.C. and R.D. Farley, 1974a. Spawning cycle and egg production of zebrafish, *Brachydanio rerio*, in the laboratory. *Copeia*, 1 : 195-204.
- Eaton, R.C. and R.D. Farley, 1974b. Growth and the reduction of depensation of zebrafish, *Brachydanio rerio*, reared in the laboratory. *Copeia*, 1 : 204-209.
- Frank, S., 1966. On the morphology of the pharyngeal filter of some species of the subgenus *Brachydanio*. *Ichthyol. Aquarium J.*, 37(5) : 237-244.
- Frankel, J.S., 1979. Inheritance of spotting in the leopard danio. *J. Hered.*, 70 : 287-288.
- Frankel, J.S., 1982. Inheritance of shoulder spotting in the jewel tetra, *Hyphessobrycon callistus*. *J. Hered.*, 73 : 310.
- Frankel, J.S., 1985. Inheritance of trunk striping in the Sumatran tiger barb, *Barbus tetrazona*. *J. Hered.*, 76 : 478-479.
- Frankel, J.S., 1987. Inheritance of trunk coloration in the eye-spot rasbora. *J. Hered.*, 78

- : 112.
- Gaiano, N., M. Allende, A. Amsterdam, K. Kawakami and N. Hopkins, 1996. Highly efficient germ-line transmission of proviral insertions in zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93 : 7777-7782.
- Gong, Z., T. Yan, J. Liao, S.E. Lee, J. He and C.L. Hew, 1997. Rapid identification and isolation of zebrafish cDNA clones. *Gene*, 201 : 87-98.
- Gordon, M., 1953. Inheritance in the guppy : Part I. Simple Mendelian inheritance of albinism, golden and other colorations. *The Aquarium Journal*, 24(5) : 105-112.
- Kavumpurath, S. and T.J. Pandian, 1992. Hybridization and gynogenesis in two species of the genus *Brachydanio*. *Aquaculture*, 105 : 107-116.
- Kermouni, A., S.S. Mahmoud, S. Wang, M. Moloney and H.R. Habibi, 1998. Cloning of a full-length insulin-like growth factor- I complementary DNA in the goldfish liver and ovary and development of a quantitative PCR method for its measurement. *General and Comparative Endocrinology*, 111 : 51-60.
- Krone, P.H., Z. Lele and J.B. Sass, 1997. Heat shock genes and the heat shock response in zebrafish embryos. *Biochem. Cell Biol.*, 75 : 487-497.
- Meinken, H., 1963. *Brachydanio frankei* spec. nov., der Leopard-danio. *Aquarien Terrarien*, 4 : 39-43.
- Meyer, M., C.H. Biermann and G. Orti, 1993. The phylogenetic position of the zebrafish (*Danio rerio*), a model system in development biology : an invitation to the comparative method. *Proc. R. Soc. Lond.*, 252 : 231-236.
- Petrovicky, I., 1966. Hybridization between *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan) and *Brachydanio frankei* Meinken. *Ichthyol. Aquarium J.*, 37 : 53-62.
- Song, C.B. and B.M. Lee, 1997. Inheritance of golden coloration in the zebrafish, *Danio rerio*. *J. Aquacul.*, 10(4) : 395-402.
- Streisinger, G., F. Singer, C. Walker, D. Knauer and N. Dower, 1986. Segregation analysis and gene-centromere distances in zebrafish. *Genetics*, 112 : 311-319.
- Tan, J.C.S. and V.P.E. Phang, 1995. Inheritance of body pigmentation pattern in *Brachydanio rerio*. *J. Hered.*, 86(3) : 231-232.