

碩士學位論文

Zebrafish의 체색과 반문에 관한  
유전 분석

濟州大學校 大學院

水産生物學科



1997年 12月


# Zebrafish의 체색과 반문에 관한 유전 분석

지도교수 이 기 완

이 병 문

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함.

1997년 12월

 제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY  
이병문의 이학석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 정 상 철 (인)

위 원 송 춘 복 (인)

위 원 이 기 완 (인)

제주대학교 대학원

1997년 12월

---

**Genetic Analysis of Body Color and Spotting  
in the Zebrafish, *Danio rerio***

**Byoung Moon Lee**

**(Supervised by Professor Ki Wan, Lee)**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF  
SCIENCE**

**DEPARTMENT OF MARINE BIOLOGY  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

**1997. 12.**

# 목 차

Summary	1
I. 서 론	3
II. 재료 및 방법	6
1. 교배계획 및 친어관리	6
2. 알의 수집과 관리	6
3. 자치어 관리 및 생존율 조사	11
4. 통계처리	12
III. 결 과	13
1. 체색의 유전	13
1) 부모(P <sub>0</sub> )세대의 zebra danio와 golden danio의 상반교배	13
2) F <sub>1</sub> 세대 간의 교배실험	13
3) F <sub>1</sub> 세대와 부모(P <sub>0</sub> )세대 간의 역교배 및 검정교배 실험	17
4) 배(embryo) 발생단계에서의 체색 비율	20
2. 반문의 유전	20
1) 부모(P <sub>0</sub> )세대의 zebra danio와 leopard danio의 상반교배	20
2) F <sub>1</sub> 세대 간의 교배실험	24
3) F <sub>1</sub> 세대와 부모(P <sub>0</sub> )세대 간의 역교배 및 검정교배 실험	24
3. 체색과 반문에 관한 두가지 유전자의 전달양상	27
4. 체색과 반문 돌연변이와 생존율 간의 관계	31
IV. 고 찰	34
V. 요 약	39
VI. 참고문헌	41
감사의 글	44

## Summary

Genetic analysis has been conducted to understand the inheritance of both body color and spotting in the zebrafish (wild type), *Danio rerio*, and its morphs (mutants) such as golden, leopard and golden leopard danio. Also, the effect of such mutations was investigated with regard to the survival rates of eggs and larvae of zebrafish for 15 days after fertilization.

Reciprocal monohybrid crosses between wild and golden type of zebrafish indicated that body color was controlled by a single gene which had two alleles designated with C and c. Transmission of these alleles from parents to their progenies was followed by the principle of dominance and segregation in Mendelian inheritance. Almost same results from the reciprocal crosses implied that a locus for body color was located on an autosomal chromosome.

To know the inheritance of spotting on the trunk, another reciprocal monohybrid crosses were performed between wild and leopard (spotted) type of zebrafish. The results showed that spotting was governed by a single gene having two alleles designated with P and p. Other results concerning with the manner of gene transmission to the progenies and the location of the gene turned out to be same as those obtained from reciprocal crosses for the inheritance of body color.

Dihybrid crosses between golden and leopard danio were also carried out to know whether those two genes were inherited to the progenies independently or not. They showed that two genes were transmitted in an independent manner, which was followed by the principle of independent assortment in Mendelian inheritance. Thus, various genotypes were coined with CCPP for the wild type of zebrafish or zebra danio, ccPP for golden danio, CCpp for leopard danio and ccpp for golden leopard danio.

The six replicated experiments were performed to know the effect of

mutations on the survival rates of eggs and larvae of zebrafish for 15 days after fertilization.

Average survival rates estimated from the crosses between wild type zebrafish and golden danio had a tendency of reduction with the increase of mutation effects in body color. They were  $71.8 \pm 5.1\%$  from the crosses between golden danios (G×G),  $76.9 \pm 2.2\%$  between golden female and wild type male (G×Z),  $81.0 \pm 5.9\%$  between wild type female and golden male (Z×G) and  $83.8 \pm 6.7\%$  between wild type zebrafish (Z×Z) in natural fertilization;  $71.4 \pm 2.9\%$  from G×G,  $73.7 \pm 5.1\%$  from G×Z,  $81.6 \pm 5.3\%$  from Z×G and  $85.5 \pm 2.6\%$  from Z×Z in artificial fertilization. When survival rates were compared with each other, there were no statistically significant differences between natural and artificial fertilization.

Average survival rates estimated from the crosses between wild type zebrafish and leopard danio had quite different tendency from the result mentioned above. They were  $80.6 \pm 4.8\%$  from the crosses between leopard danios (L×L),  $70.6 \pm 4.2\%$  between leopard female and wild type male (L×Z),  $73.2 \pm 2.0\%$  between wild type female and leopard male (Z×L) and  $83.8 \pm 6.7\%$  between wild type zebrafish (Z×Z) in natural fertilization. These results indicated that leopard danio, known as "an aquarium morph" which were first reported several decades ago, has become genetically stable like the wild type of zebrafish.

# I. 서 론

어류의 우량 형질 개선 또는 잡종 강세와 같은 집단적 생물학적인 잠재성을 발견하기 위해서 표현형의 변이에 관한 많은 연구가 행해지고 있다. 이러한 표현형의 변이는 정성 변이(qualitative variance)와 정량 변이(quantitative variance)로 구분되고, 이들은 궁극적으로 유전자수와 각 유전자의 행동 양식에 달려 있으며(Tave, 1986), 전자는 전통적인 유전학(Mendelian genetics) 그리고 후자는 정량유전학(quantitative genetics)을 통하여 연구되고 있다. 정성 표현형 중에서 어류의 체색은 다른 형질에 비하여 육안적으로 쉽게 관찰할 수 있기 때문에 많은 학자들이 종내 혹은 종간 교잡을 통하여 체색에 관한 유전 현상을 연구하고 있다.

지금까지 체색에 관련된 표현형 변이는 주로 관상어류를 대상으로 연구되어 왔다. Gordon (1953)은 guppy의 albinism과 golden color 등에 관련된 체색의 유전 양상에 관하여 보고하였고, Angus (1983)는 sailfin mollies의 멜라닌 spotting에 관한 유전학적 분석을 행하였다. 그리고 Frankel (1982, 1985, 1987, 1992)은 jewel tetra (*Hyphessobrycon callistus*)의 shoulder spotting의 유전과 Sumatran tiger barb (*Barbus tetrazona*)의 trunk striping의 유전, eye-spot rasbora의 trunk coloration의 유전, 그리고 three-spot gourami (*Trichogastertrichopterus*)의 trunk coloration에 관하여 보고하였다. 또한 Bridges and Limbach (1972)는 무지개송어의 albinism의 유전에 관하여 보고하였다.

Mrakovic and Haley (1979)은 zebrafish에 있어 근친교배에 의한 열성유전자의 발현으로 인한 근친약세(inbreeding depression)나 종간 교잡에서 나타나는 유전적 부조화와 같은 유전적 요인에 의해 초기 성장단계에 대량 사망한다고 보고하였고, Gordon (1953)은 wild guppy와 blond guppy와의 교배실험에서 관찰치와 기대치의 차이가 생존율에 기인한다고 보고하면서, 표현형 실험에 있어서

의 초기 발생단계와 성장단계에서의 생존율의 중요성을 시사하고 있다.

*Danio*속의 어류들은 미얀마, 태국, 인도네시아, 말레이시아반도, 수마트라와 보르네오에 분포하며, zebra danio만이 인도와 파키스탄의 특정지역에 분포하고 있다(Axelrod and Schultz, 1955; Bhimachar and Subra Rau, 1942). 한편, 이 실험에 사용된 zebra danio (*Danio rerio*)는 잉어과 어류로서, 난을 쉽게 얻을 수 있고, 생활사가 빨라 25.3~25.7°C에서 사육할 경우 74~75일에 최초 산란시킬 수 있다(Eaton and Farley, 1974a, 1974b). 성숙한 암컷 1개체의 최대 포란수는 1,500~1,800개이며, 일반적으로 1회 산란수는 150~400개이다(Hisaoka and Firlit, 1962). 그리고 이들은 수정란이 투명할 뿐아니라, 실험실내에서 쉽게 산란시킬 수 있기 때문에 발생학(Eaton and Farley, 1974a, 1974b; Fischer and Schmatolla, 1972), 유전학(Frankel, 1979; Horstgen-Schwark, 1993), 독성학(Piron, 1978; Razani and Murachi, 1986), 행동학(Rehnberg and Smith, 1988; Steele et al., 1991) 그리고 최근에 와서는 내신경학 (Hanneman et al., 1988; Krauss et al., 1992), 분자생물학 (Kohei et al., 1991) 등 많은 연구분야에서 실험모델 어류로서 사용되어지고 있다.

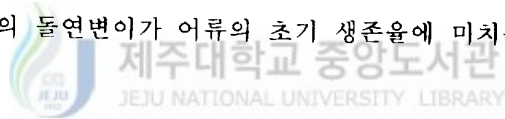
zebra danio는 은색바탕에 세줄의 청색 줄무늬를 가지고 있으며, 성숙한 수컷은 노란색을 많이 띠지만, 암컷은 뚜렷한 은색을 띠고 있으며, 더우기 포란시에는 육안적인 형태적 식별이 용이하다. leopard danio의 외형적인 형태는 암수 모두 zebra danio와 같으나, 몸통에 줄무늬 대신에 검은 반점이 산재해 있다는 것이 다르다. 그리고 golden danio는 zebra danio의 멜라닌 색소가 결핍된 체색 돌연변이로 melanophore의 결핍에 의해 노란색을 띠며, 외부형태는 zebra danio와 같은 모양을 하고 있다. golden leopard danio의 체색은 golden danio와 같으나, 반문 형태는 leopard danio와 같다. 한편, leopard danio는 종전에 *Danio frankei*로 취급하여 zebra danio (*Danio rerio*)와는 다른 종으로 취급하여 왔으



나 자연생태계에서는 채집된 바가 없으며, 최근에는 분자계통분류학적 연구와 교배실험을 통해서 *D. rerio*의 체색변이 혹은 morph에 포함시키고 있다(Meyer et al., 1993; Housz, 1964; Tan and Phang, 1995).

*Danio*속에 속하는 어류들의 체색과 반문에 관한 연구는 Kavumpurath and Pandian (1992), 그리고 Petrovicky (1966)가 zebra danio와 leopard danio의 교배를 통해 그 분류적인 위치에 대해 재조명하였고, Frankel (1979)은 *D. nigrofasciatus*와 leopard danio와의 교배실험을 통한 체색 패턴에 관해서 보고한 바 있다. 그리고 Streisinger et al. (1986)는 zebra danio의 *gol-1*, *gol-2*, *alb-1*과 *spa-1*의 유전자좌가 체색 패턴에 영향을 끼치며, 이들 네 개의 체색 패턴 돌연변이들이 열성이며, 서로 연관되지 않는다고 보고하였다. 또한, 최근에 Tan and Phang (1995)은 zebra danio와 leopard danio의 교배실험을 통해 이들의 반문을 조절하는 유전자가 상염색체상에 있는 단일 유전자좌라고 보고한 바 있다.

이 연구의 목적은 네 종류(strain)의 danio의 종내 교배를 통하여 부모세대에서 자손으로 전달되는 체색과 반문을 결정하는 대립유전자의 유전 양식을 이해하고, 이들 유전자의 돌연변이가 어류의 초기 생존율에 미치는 영향을 규명하는데 있다.



## II. 재료 및 방법

### 1. 교배계획 및 친어관리

실험에 사용한 zebrafish는 제주대학교 해양생물공학과 분자생물학 실험실에서 키우고 있는 것을 사용하였으며, zebrafish는 체색과 반문에 따라서 zebra danio (wild type), golden danio (golden type), leopard danio (spotted type), 그리고 이들 세 종류 danio간의 교배실험에서 출현한 golden leopard danio (golden spotted type)로 구분하였으며(Figure 1), 이들을 대상으로 상반교배 (reciprocal cross)를 병행하여 F<sub>1</sub>세대와 F<sub>2</sub>세대에 나타난 표현형의 비율을 조사하였으며, 또한 역교배를 실시하여 체색 유전과 반문의 유전 양상을 관찰하였다 (Figure 2~4).

친어들은 strain 간의 혼합을 방지하기 위하여 각각 다른 유리수조(90cm×45cm×60cm)에서 사육하였다. 수온은 10월에서 이듬해 6월까지의 자동온도조절기를 사용하여 24~28℃를 유지시켰으며, 고수온기인 7~9월에는 상온에서 사육하였다. 여과기의 필터세척과 찌꺼기 제거는 일주일에 한 번 실시하면서, 그때마다 3/4정도의 물을 교환하여 주었다. 먹이는 시판용 사료를 하루에 4회(9:00, 12:00, 15:00, 18:00) 공급하였다.

### 2. 알의 수집과 관리

자연산란을 통한 교배실험은 산란 후 친어에 의한 알의 포식을 방지하기 위한 산란망(15cm×8cm×6cm, 망목: 1.0cm×1.5cm)을 유리수조내에 설치하였다. 그리고 친어는 산란망내에서 알을 받기 하루 전에 성숙한 암컷과 수컷을 1 : 2 비율로 수용하였고, 이 때 사육수의 온도는 26~28℃로 유지하였다.

산란은 다음날 동이 튼 후 2시간 이내에 하였으며, 산란 후에 산란망내에 있는 친어들을 친어 사육수조로 옮긴 후, 알은 사이폰을 사용하여 수집하였다.

인공수정은 차광 상자를 사용하여 빛에 의한 조기산란을 방지하였다. 다음날

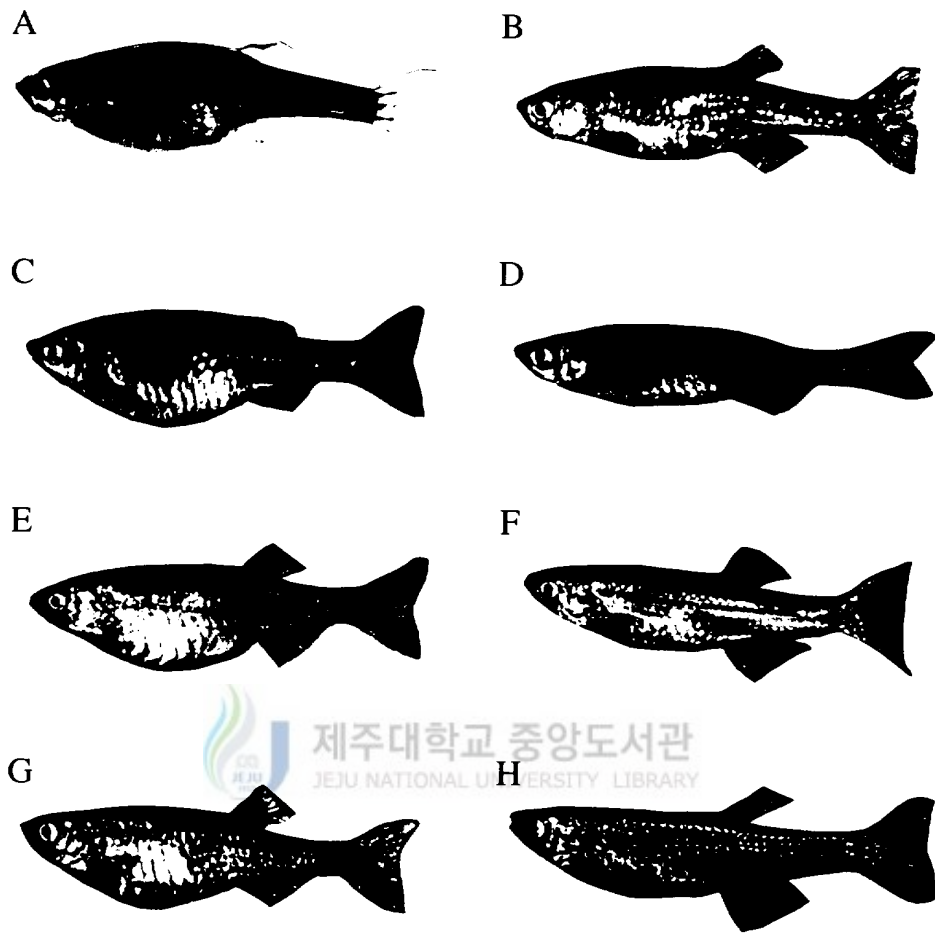


Figure 1. Parental zebrafish used in this study.

A: zebra danio female; B: zebra danio male; C: leopard danio female; D: leopard danio male; E: golden danio female; F: golden danio male; G: golden leopard danio female; H: golden leopard danio male.

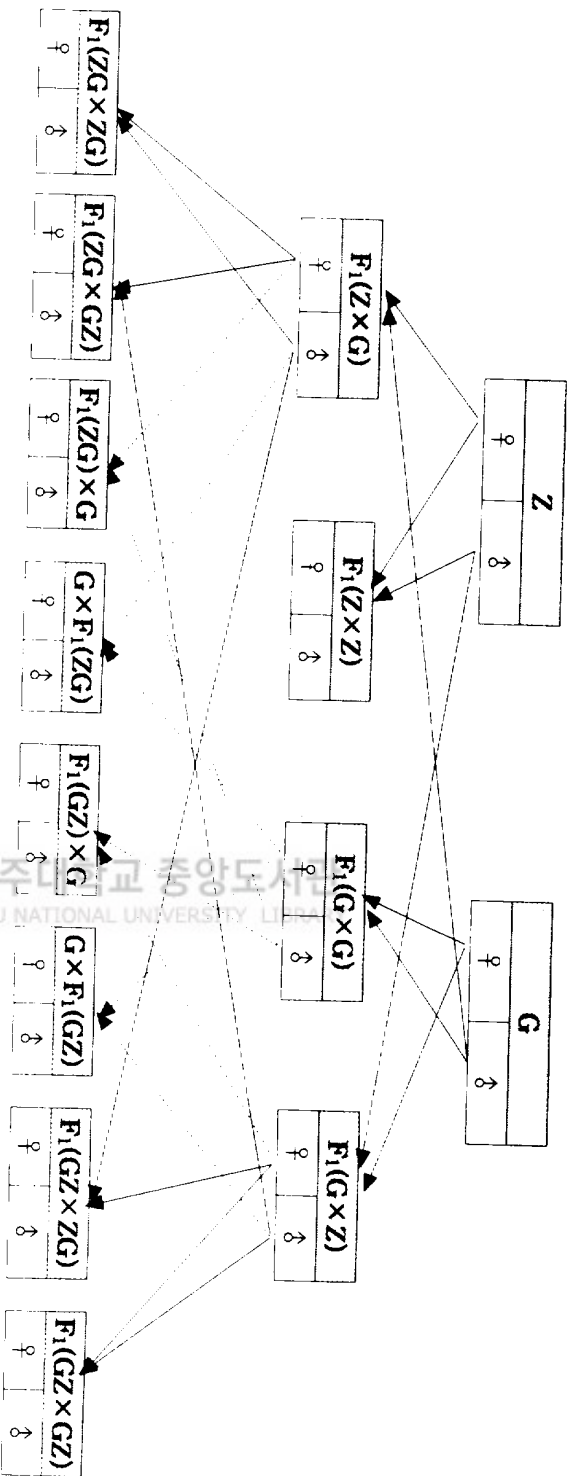


Figure 2. Diagram of mating program between different strains of zebrafish to know the inheritance of body color.  
 Z: zebra danio; G: golden danio;  $F_1(Z \times Z)$ :  $F_1$  progeny crossed between zebra danio female and zebra danio male;  $F_1(Z \times G)$ :  $F_1$  progeny crossed between zebra danio female and golden danio male;  $F_1(G \times G)$ :  $F_1$  progeny crossed between golden danio female and golden danio male;  $F_1(Z \times G)$ :  $F_1$  progeny crossed between zebra danio female and golden danio male;  $F_1(ZG \setminus ZG)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(Z \times G)$  female and  $F_1(Z \times G)$  male;  $F_1(ZG \setminus GZ)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(Z \times G)$  female and  $F_1(Z \times G)$  male;  $F_1(ZG \setminus G)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(Z \times G)$  female and  $F_1(ZG \setminus G)$  male;  $F_1(GZ \setminus GZ)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(G \times Z)$  female and  $F_1(G \times Z)$  male;  $F_1(GZ \setminus G)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(G \times Z)$  female and  $F_1(G \times Z)$  male;  $F_1(GZ \setminus ZG)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(G \times Z)$  female and  $F_1(ZG \setminus ZG)$  male;  $F_1(GZ \setminus GZ)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(G \times Z)$  female and  $F_1(G \times Z)$  male.

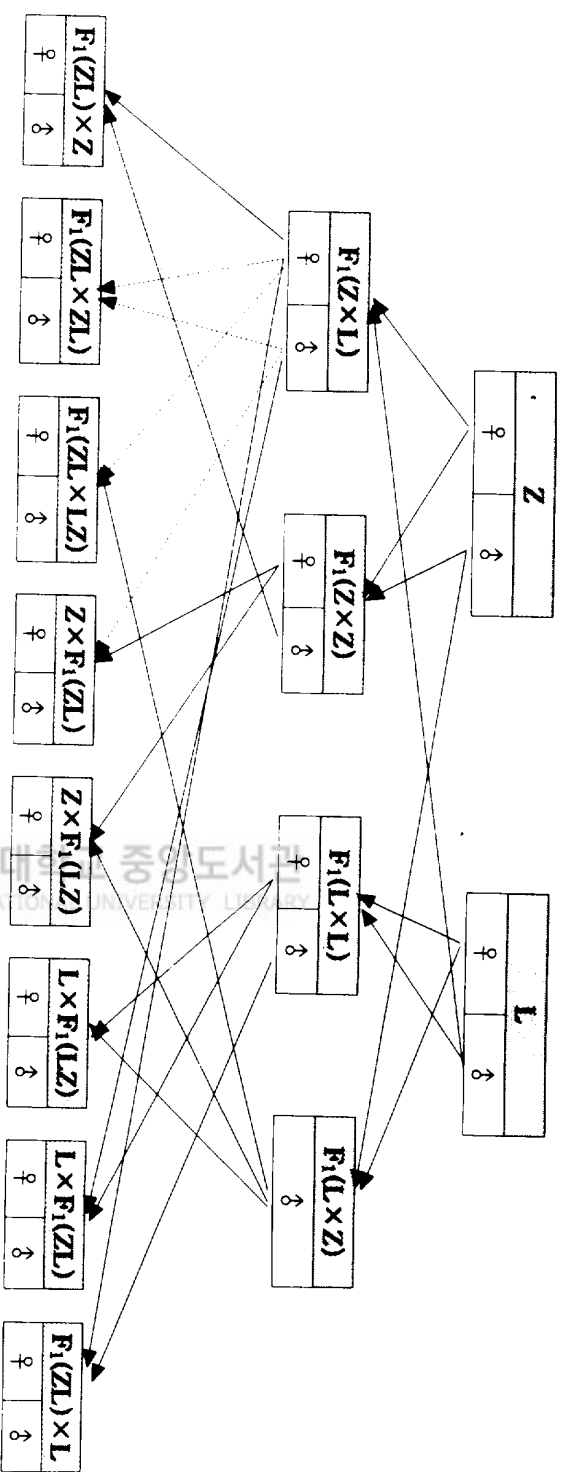


Figure 3. Diagram of mating program between different strains of zebrafish to know the inheritance of spotting.

Z: zebra danio; L: leopard danio;  $F_1(Z \times Z)$ :  $F_1$  progeny crossed between zebra danio female and zebra danio male;  $F_1(Z \times L)$ :  $F_1$  progeny crossed between zebra danio female and leopard danio male;  $F_1(L \times L)$ :  $F_1$  progeny crossed between leopard danio female and leopard danio male;  $F_1(L \times Z)$ :  $F_1$  progeny crossed between leopard danio female and zebra danio male;  $F_1(ZL) \times Z$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(Z \times L)$  female and zebra danio male;  $F_1(ZL \times ZL)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(Z \times L)$  female and  $F_1(Z \times L)$  male;  $F_1(ZL \times LZ)$ :  $F_2$  progeny crossed between  $F_1(Z \times L)$  female and  $F_1(L \times Z)$  male;  $Z \times F_1(ZL)$ :  $F_2$  progeny crossed between zebra danio female and  $F_1(Z \times L)$  male;  $Z \times F_1(LZ)$ :  $F_2$  progeny crossed between zebra danio female and  $F_1(L \times Z)$  male;  $L \times F_1(LZ)$ :  $F_2$  progeny crossed between leopard danio female and  $F_1(L \times Z)$  male;  $L \times F_1(ZL)$ :  $F_2$  progeny crossed between leopard danio female and  $F_1(Z \times L)$  male;  $F_1(ZL) \times L$ :  $F_2$  progeny crossed between leopard danio female and leopard danio male.

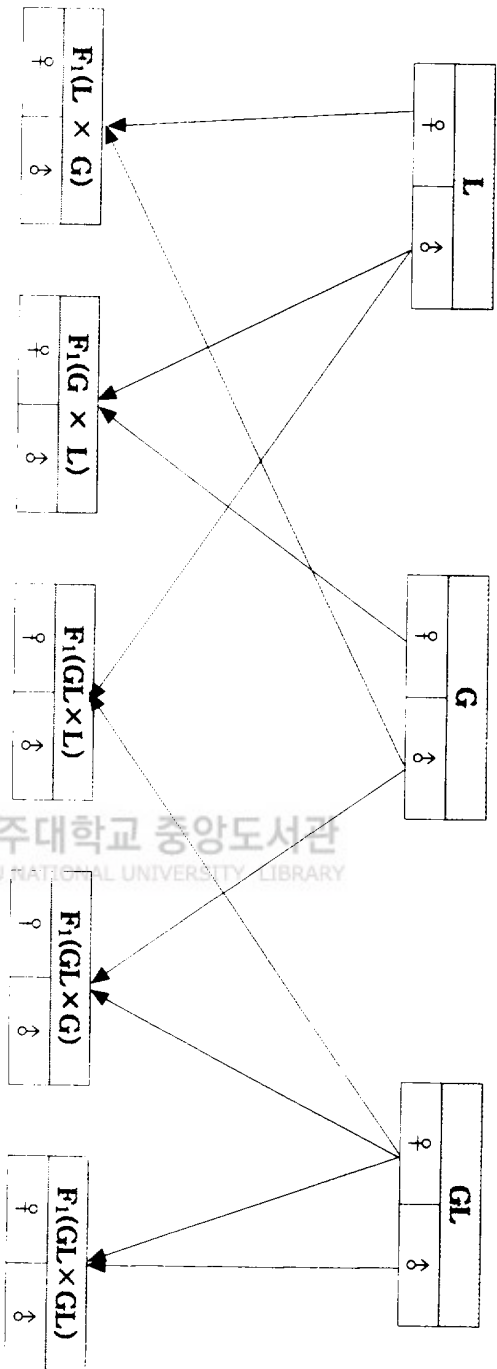


Figure 4. Diagram of mating program between different strains of zebrafish to know the inheritance of both body color and spotting.  
 L: leopard danio; G: golden danio; GL: golden leopard danio;  $F_1(L \times G)$ :  $F_1$  progeny crossed between leopard danio female and golden danio male;  $F_1(G \times L)$ :  $F_1$  progeny crossed between golden danio female and leopard danio male;  $F_1(GL \times L)$ :  $F_1$  progeny crossed between golden leopard danio female and leopard danio male;  $F_1(L \times GL)$ :  $F_1$  progeny crossed between leopard danio female and golden leopard danio male;  $F_1(G \times GL)$ :  $F_1$  progeny crossed between golden leopard danio female and golden leopard danio male;  $F_1(GL \times GL)$ :  $F_2$  progeny crossed between golden leopard danio female and golden danio male.

차광상자를 벗겨낸 후 수컷이 암컷의 뒤를 쫓는 산란 전 추미행동을 하는 수컷을 먼저 포획하여 21.5℃의 Hank's solution (137mM NaCl, 5.4mM KCl, 1.3mM CaCl<sub>2</sub>, 1.0mM MgSO<sub>4</sub>, 0.44mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.25mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 4.2mM NaHCO<sub>3</sub>)을 넣은 petridish(플라스틱, Ø 5cm)에 정소를 떼어 내어 핀셋으로 정자를 방출시켰다. 그리고 알채집은 암컷을 MS-222 (5%)에 마취시켜 petridish 위에서 부드러운 고무볼을 사용하여 가볍게 복부를 누르면서 채란한 후 미리 짜낸 정자로 수정시켰다. 수정시킨 후 1분간 기다렸다가 깨끗한 물로 한 번 세정하여 알을 수집하였다.

수집된 알은 수생균에 의한 감염을 막기 위하여 100ppm methylenblue, 증류수, 해수의 용적비가 각각 1 : 1 : 18의 egg water에 수용하여, 28℃의 인큐베이터 내에서 사육하였다.

### 3. 자치어 관리 및 생존율 조사

부화 후 1일째의 자어들은 1ℓ 플라스틱 표본병에 수용하여 28℃로 유지시킨 water bath에서 보육하였다. 공기공급은 airstone에서 방출되는 공기방울로 인한 치어의 충격을 방지하기 위해 airstone을 사육수에 반쯤 잠기게 하였으며, 부화 자어가 유영시 물의 흐름을 거슬러 올라갈 수 있을 정도의 세기로 공급하였다. 먹이공급은 먹이를 찾아 자유유영하기 시작하는 부화 후 2~3일부터 12일째까지 250 μm 크기의 미립자 사료를 공급하였다. 13~15일까지는 미립자 사료와 알테미아를 병용하여 공급하였고, 그 이후에는 알테미아를 단독으로 공급하였다. 부화 후 15일 경과된 자어는 자어수조(60cm×30cm×30cm)로 옮겨, 26~28℃에서 사육하였다. 먹이는 하루에 네 번 공급하였고(9:00, 12:00, 15:00, 18:00), 수조내 찌꺼기는 2일마다 청소하였으며, 이 때 죽은 개체수를 계수한 후 1/3의 사육수를 환수하여 주었다. 알테미아를 먹기 시작한 이후에는 죽는 개체가 거의 없어 생존율은 수정 후 15일까지 조사하였다. 그리고 각 실험구의 어류들은 외형상으로 표현형을 구분할 수 있을 때까지 21일에서 60일까지 사육하였다.

자연수정과 인공수정시킨 알은 12시간 이후에 백탁되지 않은 건강한 알을 수정란으로 간주하였으며, 그 후 15일까지 24시간 간격으로 발생이 정지된 알 또

는 사망한 자어를 제거하면서 그 수를 계수하였다. 각 실험은 6회 반복 실시하였다.

#### 4. 통계처리

danio의 종류(strain)에 따른 생존율의 차이는 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의차를 검정하였고, 자연수정과 인공수정에 의한 생존율의 유의차는 t-test를 사용하였다. 각 교배실험에서의 표현형비는  $\chi^2$ -test를 사용하여 검정하였다. 각 교배 실험은 2~6회 반복 실시하였다.



### III. 결 과

#### 1. 체색의 유전

zebra danio와 golden danio의 체색을 결정하는 유전자는 상염색체 상에 존재하며, zebra danio는 동형 우성(CC), golden danio는 동형 열성(cc)이라 가정하였고(Table 1), 이러한 가정을 증명하기 위하여 자손검정(progeny test)을 실시하였다. 그리고 부모세대 간, F<sub>1</sub>세대 간, 그리고 역교배를 통하여 나타날 수 있는 인자형과 그들의 각 표현형의 예상 출현 비율은 Figure 5에 나타내었다.

##### 1) 부모(P<sub>0</sub>)세대의 zebra danio 와 golden danio의 상반교배 (reciprocal crosses)

zebra danio 암수간에 행해진 두 번의 교배실험(391개체, 266개체)에서 생산된 자손들은 모두 wild type으로 나타났고, golden danio 암수와의 교배에서도 두 번의 반복구(각각 231개체, 255개체) 모두 golden type으로 나타났다. zebra danio 암컷과 golden danio 수컷과의 두 번의 반복구(각각 461개체, 296개체)와 golden danio 암컷과 zebra danio 수컷 간에 행해진 두 번의 교배실험(각각 418개체, 199개체)에서 생산된 자손들 모두 wild type으로 출현하였다(Table 2).

##### 2) F<sub>1</sub>세대 간의 교배실험

zebra danio와 golden danio와의 실험에서 생산된 F<sub>1</sub>세대 간의 상반교배실험 결과는 Table 3과 같다. F<sub>1</sub>(ZG)×F<sub>1</sub>(ZG) 교배실험은 두 개의 실험구에서 wild type과 golden type의 비율이 각각 2.74 : 1, 3.18 : 1, 2.90 : 1로 나타나 기대치인

Table 1. Phenotypes and putative genotypes of parental zebrafish and their F<sub>1</sub> hybrids based on the result of pre-experiment

Species (♀)	Species (♂)	Species (♀)				Species (♂)			
		Zebra danio (Wild type)	Golden danio (Golden type)	Leopard danio (Spotted type)	Golden Leopard danio (Golden spotted type)	Zebra danio (Wild type)	Golden danio (Golden type)	Leopard danio (Spotted type)	Golden Leopard danio (Golden spotted type)
Zebra danio (Wild type)	Phenotype	Wild type	Wild type	Wild type	Wild type	Wild type	Wild type	Wild type	Wild type
	Genotype of body color	CC	Cc	CC	Cc	CC	Cc	CC	Cc
	Genotype of spotting	PP	PP	Pp	Pp	PP	Pp	Pp	Pp
Golden danio (Golden type)	Phenotype	Wild type	Golden type	Wild type	Golden type	Wild type	Golden type	Wild type	Golden type
	Genotype of body color	Cc	cc	Cc	cc	Cc	cc	Cc	cc
	Genotype of spotting	PP	PP	Pp	Pp	PP	Pp	Pp	Pp
Leopard danio (Spotted type)	Phenotype	Wild type	Wild type	Spotted type	Spotted type	Wild type	Spotted type	Spotted type	Spotted type
	Genotype of body color	CC	Cc	CC	Cc	CC	Cc	CC	Cc
	Genotype of spotting	Pp	Pp	pp	pp	Pp	pp	pp	pp
Golden leopard danio (Golden spotted type)	Phenotype	Wild type	Golden type	Spotted type	Golden spotted type	Wild type	Golden type	Spotted type	Golden spotted type
	Genotype of body color	Cc	cc	Cc	cc	Cc	cc	Cc	cc
	Genotype of spotting	Pp	Pp	pp	pp	Pp	pp	pp	pp

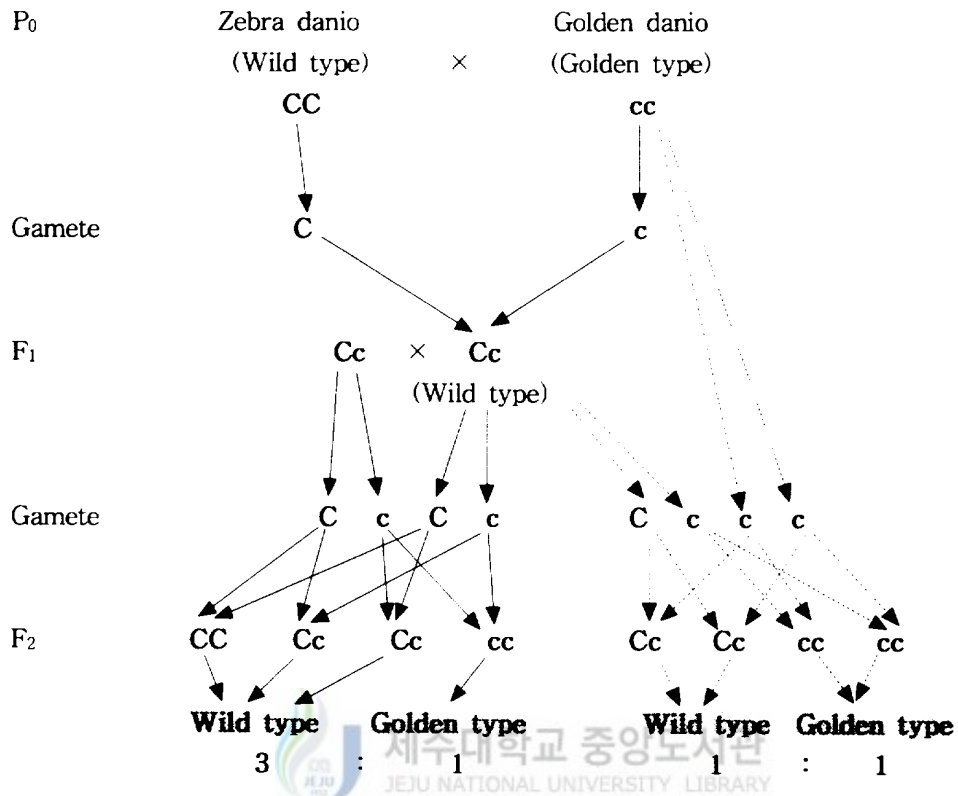


Figure 5. Mendelian inheritance of body color observed from intraspecific crosses between zebra and golden danio including test crosses.

Table 2. Results of progeny test from matings between zebra (wild type) and golden danio (golden type) showing putative parental genotypes and phenotypic frequency of progeny

Cross (♀ × ♂)	Trial no.	Putative parental genotype		Phenotypic frequency of progeny	
		Female	Male	Wild type	Golden type
G×G	1	cc	cc	0	231
	2	cc	cc	0	255
G×Z	1	cc	CC	418	0
	2	cc	CC	199	0
Z×G	1	CC	cc	461	0
	2	CC	cc	296	0
Z×Z	1	CC	CC	391	0
	2	CC	CC	266	0

G: parental golden danio; Z: parental zebra danio.

3 : 1과 유의차는 나타내지 않았다( $P>0.05$ ).  $F_1(GZ) \times F_1(GZ)$ 의 경우에도 각 실험구에서 2.70 : 1, 3.30 : 1, 3.00 : 1을 보여 3 : 1의 기대치와의 유의차는 없었다( $P>0.05$ ).  $F_1(ZG) \times F_1(GZ)$ 은 첫 번째 실험구는 2.63 : 1로 기대치와 차이가 없었지만( $P>0.05$ ), 세 번째 실험구는 2.68 : 1로 3 : 1의 기대치와 차이가 있었고( $P<0.05$ ), 두 번째 실험구에서도 4.03 : 1로 나타나 3 : 1의 기대치와는 현저히 차이가 있었다( $P<0.01$ ). 그러나 세 개의 관찰치를 합하였을 경우에는 그 비율이 3.04 : 1로 유의차가 없었다( $P>0.05$ ).  $F_1(GZ) \times F_1(ZG)$ 의 교배실험에서 세 번째 실험구는 3.14 : 1로 차이가 없었으나, 세 번째 반복실험구에서는 3.60 : 1로 차이가 있었고( $P<0.05$ ), 첫 번째 반복실험구에서도 2.38 : 1로 나타나 3 : 1이라는 기대치와 현저한 차이를 나타냈으나( $P<0.01$ ), 전체합계에서는 2.90 : 1로 3 : 1의 기대치와 유의차가 없었다( $P>0.05$ ).

### 3) $F_1$ 세대와 부모( $P_0$ )세대 간의 역교배 및 검정교배 실험

zebra danio와 golden danio의 체색을 결정하는 유전자 행동에 대한 보다 구체적인 검증을 위하여 zebra danio 또는 golden danio 친어와  $F_1$ 세대의 역교배 및 검정교배를 실시하였다(Table 4).

$F_1(ZG) \times G$ 의 wild type과 golden type 비율이 1.15 : 1이었던 두 번째 실험을 제외하고는 1.34 : 1, 1.40 : 1로 기대치와 차이를 나타내었으며( $P<0.01$ ), 전체합계에서도 1.28 : 1로 기대치인 1 : 1과는 유의차를 보였다( $P<0.01$ ).  $G \times F_1(ZG)$ 은 세 번째 반복실험의 결과인 1.22 : 1을 제외하고는, 0.89 : 1, 0.99 : 1로 기대치인 1 : 1 비율과 유의차가 없었다( $P>0.05$ ), 전체합계에서도 1.04 : 1로 기대치인 1 : 1 비율과 유의차가 없었다( $P>0.05$ ).  $F_1(GZ) \times G$ 는 네 번의 반복실험구가 각각 1.08 : 1, 0.93 : 1, 1.19 : 1, 0.95 : 1로서 1 : 1이라는 기대치와 유의차가 없었다( $P>0.05$ ).  $G \times F_1(GZ)$ 는 두 번째 실험의 경우 1.32 : 1로 유의하였으나( $P<0.01$ ), 나머지 두 반복실험구에서는 각각 1.13 : 1과 1.02 : 1로서 유의차는 없었다( $P>0.05$ ). 그리고 전체 합계에서는 1.14 : 1를 나타내어 기대치와 유의차를 보였

Table 3. Results of progeny test from matings between F<sub>1</sub> progenies and their reciprocal crosses 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	Golden type			
F <sub>1</sub> (ZG) × F <sub>1</sub> (ZG)	1	Cc	Cc	1115	407	2.74 : 1		0.25 - 0.10
	2	Cc	Cc	245	77	3.18 : 1	3 : 1	0.75 - 0.50
	3	Cc	Cc	1022	353	2.90 : 1		0.75 - 0.50
	Total			2832	837	2.85 : 1		0.25 - 0.10
F <sub>1</sub> (GZ) × F <sub>1</sub> (GZ)	1	Cc	Cc	946	351	2.70 : 1		0.50 - 0.10
	2	Cc	Cc	1265	384	3.30 : 1	3 : 1	0.50 - 0.10
	3	Cc	Cc	769	258	3.00 : 1		0.50 - 0.10
	Total			3062	1019	3.00 : 1		-
F <sub>1</sub> (GZ) × F <sub>1</sub> (ZG)	1	Cc	Cc	999	420	2.38 : 1**		< 0.01
	2	Cc	Cc	621	172	3.60 : 1*		< 0.05
	3	Cc	Cc	764	243	3.14 : 1	3 : 1	0.75 - 0.70
	Total			2384	835	2.90 : 1		0.50 - 0.25
F <sub>1</sub> (ZG) × F <sub>1</sub> (GZ)	1	Cc	Cc	347	142	2.63 : 1		0.50 - 0.25
	2	Cc	Cc	862	205	4.03 : 1**	3 : 1	< 0.01
	3	Cc	Cc	1081	404	2.68 : 1*		< 0.05
	Total			2254	751	3.04 : 1		0.75 - 0.50

F<sub>1</sub>(ZG): F<sub>1</sub> progeny from cross between zebra danio female and golden danio male; F<sub>1</sub>(GZ): F<sub>1</sub> progeny from cross between golden danio female and zebra danio male.

\*\* : P < 0.01; \* : P < 0.05.

Table 4. Results of progeny test from 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	Golden type			
F <sub>1</sub> (ZG) × G	1	Cc	cc	760	569	1.34 : 1**		< 0.01
	2	Cc	cc	610	531	1.15 : 1*		< 0.05
	3	Cc	cc	444	318	1.40 : 1**	1 : 1	< 0.01
	Total			1814	1418	1.28 : 1**		< 0.01
G × F <sub>1</sub> (ZG)	1	cc	Cc	415	419	0.99 : 1		0.95 - 0.90
	2	cc	Cc	528	590	0.89 : 1		0.10 - 0.05
	3	cc	Cc	693	569	1.22 : 1**	1 : 1	< 0.01
	Total			1636	1578	1.04 : 1		0.50 - 0.25
F <sub>1</sub> (GZ) × G	1	Cc	cc	411	379	1.08 : 1		0.25 - 0.10
	2	Cc	cc	402	430	0.93 : 1		0.50 - 0.25
	3	Cc	cc	566	477	1.19 : 1	1 : 1	0.05 - 0.01
	4	Cc	cc	268	283	0.95 : 1		0.75 - 0.50
Total			1647	1569	1.05 : 1		0.25 - 0.10	
G × F <sub>1</sub> (GZ)	1	cc	Cc	555	493	1.13 : 1		0.10 - 0.05
	2	cc	Cc	542	411	1.32 : 1**		< 0.01
	3	cc	Cc	583	571	1.02 : 1	1 : 1	0.75 - 0.50
	Total			1680	1475	1.14 : 1**		< 0.01

G: parental golden danio; Z: parental zebra danio; F<sub>1</sub>(ZG): F<sub>1</sub> progeny from cross between zebra danio female and golden danio male; F<sub>1</sub>(GZ): F<sub>1</sub> progeny from cross between golden danio female and zebra danio male.  
 \*\*: P < 0.01; \*: P < 0.05.

다( $P < 0.01$ ).

#### 4) 배(embryo) 발생단계에서의 체색 비율

zebra danio와 golden danio의 교배로 생산된  $F_1$ 세대 간의 상반교배실험에서 멜라닌색소의 출현에 의해 구분되는 두 danio의 출현비율은 Table 5에 나타내었다.  $F_1(ZG) \times F_1(ZG)$ 은 wild type과 golden type의 비율이 두 개의 실험구에서 각각 3.20 : 1, 3.22 : 1, 로서 3 : 1의 예상되는 체색비율과 차이가 없었으며 ( $P > 0.05$ ),  $F_1(GZ) \times F_1(GZ)$ 에서도 3.37 : 1, 3.57 : 1로서 3 : 1의 기대치와 차이는 없었다( $P > 0.05$ ).

$F_1(ZG) \times G$ 는 wild type과 golden type의 비율이 0.98 : 1과 0.94 : 1로서 1 : 1의 기대치와 차이가 없었고( $P > 0.05$ ),  $F_1(GZ) \times G$ 에서도 각각 1.08 : 1, 1.08 : 1로서 1 : 1이라는 기대치와 차이가 없었다( $P > 0.05$ ).

## 2. 반문의 유전



zebra danio와 leopard danio의 반문을 결정하는 유전자는 상염색체 상에 존재하며, zebra danio는 동형 우성(PP), leopard danio는 동형 열성(pp)이라고 가정하였다(Table 1). 이들 가정을 증명하기 위하여 부모세대간,  $F_1$ 세대 간, 그리고 역교배를 실시하였으며, 이 경우 나타날 수 있는 인자형과 그들의 각 표현형의 예상 출현 비율은 Figure 6에 나타내었다.

### 1) 부모( $P_0$ )세대의 zebra danio와 leopard danio의 상반교배

zebra danio와 leopard danio의 친어 간의 상반교배 실험의 결과는 Table 6에 나타내었다. zebra danio 암수 간에 행해진 두 번의 교배실험(각각 391개체, 266



Table 5. Results of progeny test from matings between F<sub>1</sub> progenies and reciprocal backcrosses showing putative parental genotypes, phenotypic frequency of progeny and their observed and expected ratio during the egg and early larval stage of zebrafish

Cross (♀ × ♂)	Trial no.	Putative parental genotype		Phenotypic frequency of progeny		Observed ratio	Expected ratio	P
		Female	Male	Wild type	Golden type			
F <sub>1</sub> (ZG) × F <sub>1</sub> (ZG)	1	Cc	Cc	189	59	3.20 : 1	3 : 1	0.75 - 0.50
	2	Cc	Cc	216	67	3.22 : 1	3 : 1	0.75 - 0.50
F <sub>1</sub> (GZ) × F <sub>1</sub> (GZ)	1	Cc	Cc	192	57	3.37 : 1	3 : 1	0.75 - 0.50
	2	Cc	Cc	75	21	3.57 : 1	3 : 1	0.75 - 0.50
F <sub>1</sub> (ZG) × G	1	Cc	cc	172	175	0.98 : 1	1 : 1	0.97 - 0.95
	2	Cc	cc	237	251	0.94 : 1	1 : 1	0.75 - 0.50
F <sub>1</sub> (GZ) × G	1	Cc	cc	194	179	1.08 : 1	1 : 1	0.50 - 0.25
	2	Cc	cc	212	196	1.08 : 1	1 : 1	0.50 - 0.25

G: parental golden danio; F<sub>1</sub>(ZG): F<sub>1</sub> progeny from cross between zebra danio female and golden danio male;  
 F<sub>1</sub>(GZ): F<sub>1</sub> progeny from cross between golden danio female and zebra danio male.

Table 6. Results of progeny test 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			Observed ratio		Expected ratio		P
		Female	Male	Wild type	Spotted type	Small spotted type	ratio	ratio			
Z × L	1	PP	pp	83	0	-	-	-	-	-	
	2	PP	pp	51	0	-	-	-	-	-	
	3	Pp	pp	25	30	-	0.83 : 1	1 : 1	0.75 - 0.50		
	4	PP/Pp	pp	27	15	-	1.80 : 1	3 : 1	0.25 - 0.10		
	5	PP	pp	210	0	-	-	-	-		
	6	PP/Pp	pp	71	36	-	1.98 : 1	3 : 1	0.50 - 0.25		
L × Z	1	pp	PP	78	0	5	-	-	-		
	2	pp	PP	125	0	-	-	-	-		
	3	pp	PP	80	0	-	-	-	-		
	4	pp	PP/Pp	36	17	-	2.10 : 1	3 : 1	0.50 - 0.25		
	5	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	-	-	-	-		

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

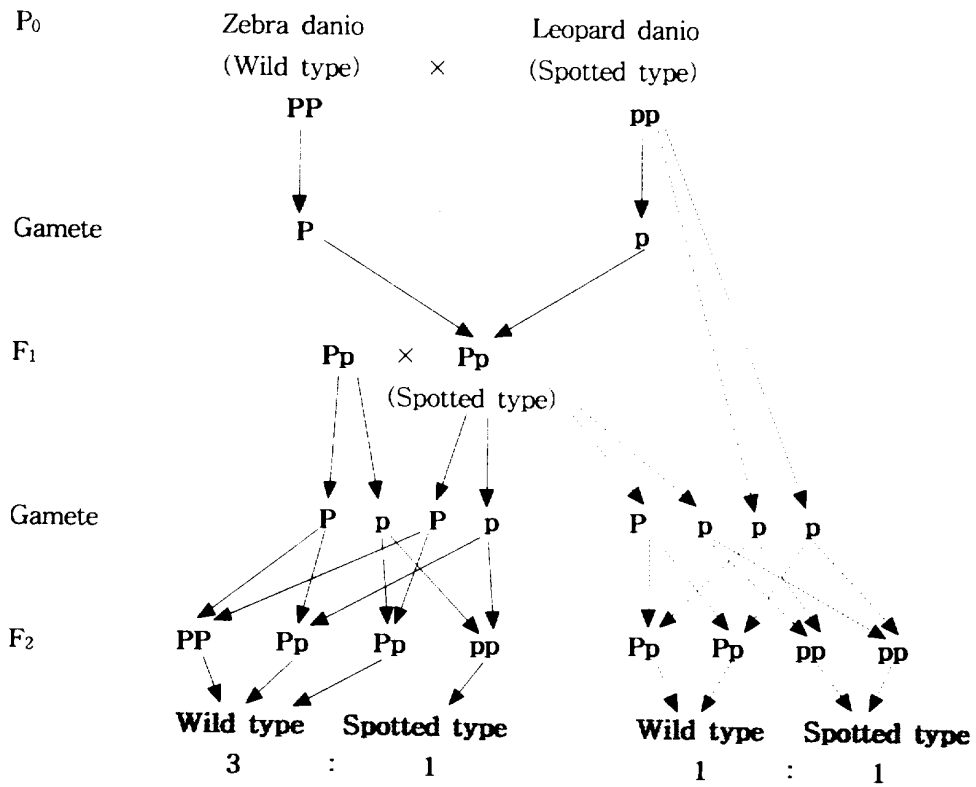


Figure 6. Mendelian inheritance of spotting observed from intraspecific crosses between zebra and leopard danio including test crosses.

개체)에서 생산된 자손들은 모두 wild type으로 나타났고, leopard danio 암수와 의 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 나타났으나, 나머지 세 개의 반복실험구는 wild type과 spotted type이 함께 출현하였으며, 그중에 3번 실험구는  $\chi^2$  분석 결과 1 : 1의 비율과 유의차가 없었고( $P>0.05$ ), 네 번과 여섯 번째 실험구는 3 : 1의 비율과 유의차가 없었다( $P>0.05$ ). leopard danio 암컷과 zebra danio 수컷과의 교배실험에서는 첫 번째 반복구에서 5마리의 small spotted type 개체가 출현한 것과 네 번째 반복구를 제외하고는 모두 wild type의 자손이 출현하였다. 그런데 네 번째 반복구의 경우 wild type과 spotted type의 출현 비율이 2.1 : 1로 나타나 기대치인 3 : 1의 비율과 유의차가 없었다( $P>0.05$ ).

## 2) F<sub>1</sub>세대 간의 교배실험

zebra danio와 leopard danio와의 실험에서 생산된 F<sub>1</sub>세대 간의 상반교배의 실험 결과는 Table 7에 나타내었다. F<sub>1</sub>(ZL)과 F<sub>1</sub>(ZL)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( $P>0.05$ ). F<sub>1</sub>(ZL)×F<sub>1</sub>(LZ)의 경우에도 각각 3.39 : 1, 2.96 : 1, 4.18 : 1로 나타나서 기대치와의 유의차를 나타내지 않았다( $P>0.05$ ).

## 3) F<sub>1</sub>세대와 부모(P<sub>0</sub>)세대 간의 역교배 및 검정교배

zebra danio와 leopard danio 친어와 F<sub>1</sub>개체를 대상으로 하여, 상반교배를 병행한 역교배와 검정교배의 결과는 Table 8에 나타낸 바와 같다. Z×F<sub>1</sub>(ZL)의 교

Table 7. Results of progeny test from matings between F<sub>1</sub> 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 <sub>1</sub> (ZL) × F <sub>1</sub> (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 <sub>1</sub> (ZL) × F <sub>1</sub> (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

F<sub>1</sub>(ZL): F<sub>1</sub> progeny from cross between zebra danio female and leopard danio male; F<sub>1</sub>(LZ): F<sub>1</sub> progeny from cross between leopard danio female and zebra danio male.

Table 8. Results of progeny test from the reciprocal backcrosses showing putative parental genotypes, phenotypic frequency, and observed and 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 <sub>1</sub> (ZL)	1	PP	Pp	217	-	-	-	-	-
	2	PP	Pp	187	-	-	-	-	-
Z × F <sub>1</sub> (LZ)	1	PP	Pp	178	1	-	178.00 : 1	-	-
	2	Pp	Pp	79	29	1	2.70 : 1	3 : 1	0.75 - 0.50
	3	Pp	Pp	51	13	1	3.90 : 1	3 : 1	0.50 - 0.25
F <sub>1</sub> (ZL) × Z	1	Pp	PP	257	0	-	-	-	-
	2	Pp	PP	357	0	-	-	-	-
	3	Pp	PP	243	0	-	-	-	-
L × F <sub>1</sub> (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 <sub>1</sub> (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 <sub>1</sub> (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 - 0.10

L: parental leopard danio; Z: parental zebra danio; F<sub>1</sub>(ZL): F<sub>1</sub> progeny from cross between zebra danio female and leopard danio male; F<sub>1</sub>(LZ): F<sub>1</sub> progeny from cross between leopard danio female and zebra danio male.

배에서 반복실험구는 각각 217개체와 187개체 모두 wild type을 나타냈다.  $Z \times F_1(LZ)$ 에서 첫 번째 반복구는 1개체의 small spotted type과 1개체의 leopard danio를 제외한 178개체가 wild type으로 출현하였고, 두 번, 세 번째 반복실험구에서는 반문의 출현 비율이 각각 2.7 : 1과 3.9 : 1로 나타나, 기대치인 1 : 1과는 차이가 있었으나( $P < 0.01$ ), 3 : 1의 비율과는 유의차를 나타내지 않았다( $P > 0.05$ ).  $F_1(ZL) \times Z$ 의 교배실험에서는 세 개의 실험구(각각 257개체, 357개체, 243개체) 모두 wild type으로 출현하였다.  $L \times F_1(LZ)$ 에서는 첫 번째 실험구에서 40개체의 small spotted type이 출현한 것을 제외하면, 나머지 두 개의 실험구에서 각각 1.27 : 1, 0.75 : 1로 1 : 1이라는 기대치와 유의차가 없었다( $P > 0.05$ ).  $L \times F_1(ZL)$ 과  $F_1(ZL) \times L$ 에서도 1 : 1의 기대치와 유의차를 보이지 않았다.

### 3. 체색과 반문에 관한 두가지 유전자의 전달 양상

zebra danio, golden danio, 그리고 leopard danio의 교배실험중에 출현한 golden danio와 leopard danio의 두 형질을 가진 golden leopard danio의 체색과 반문을 결정하는 두가지 유전자가 독립적으로 자손에게 전달되는지 알기 위하여 golden danio, leopard danio 그리고 golden leopard danio와의 교배실험을 하였다. 그리고 그들의 교배를 통하여 나타날 수 있는 인자형과 각 표현형의 예상 출현 비율을 Figure 7에 나타내었다.

golden danio와 leopard와의 교배( $G \times L$ )에서는 세 번의 반복실험구에서 각각 371개체, 210개체, 91개체 모두 wild type만이 출현하였고,  $L \times G$ 의 반복실험에서도 각각 53개체, 117개체, 103개체 모두 wild type만이 나타났다(Table 9). 한편,  $GL \times L$  교배에서는 실험구(110개체, 75개체) 모두 spotted type만이 나타났으며,  $GL \times GL$ 은 두 실험구(72개체, 72개체) 모두 golden spotted type만이 나타났다.  $GL \times G$ 는 두 실험구(84개체, 75개체) 모두 golden type만이 나타났다(Table 10).

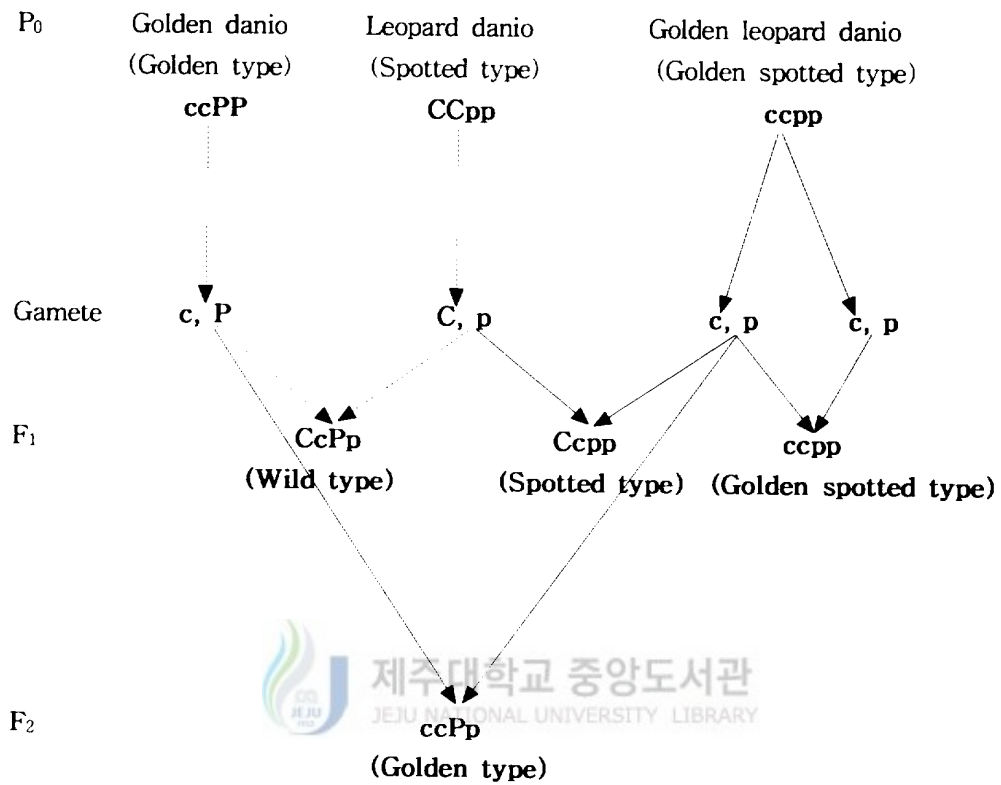


Figure 7. Mendelian inheritance of body color and spotting observed from intraspecific crosses among golden, leopard and golden leopard danio.



Table 9. Results of progeny test from matings between golden (golden 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
G × L	1	ccPP	CCpp	371	0
	2	ccPP	CCpp	210	0
	3	ccPP	CCpp	91	0
L × G	1	CCpp	ccPP	53	0
	2	CCpp	ccPP	117	0
	3	CCpp	ccPP	103	0

G: parental golden danio; L: parental leopard danio.

Table 10. Results of progeny test from matings between golden leopard (golden spotted type), leopard (spotted type) and golden danio (golden type) showing putative parental genotypes and phenotypic frequency of progeny

Cross (♀ × ♂)	Trial no.	Putative parental genotype		Phenotypic frequency of progeny		
		Female	Male	Golden spotted type	Golden type	Spotted type
GL × L	1	ccpp	CCpp	0	0	110
	2	ccpp	CCpp	0	0	75
GL × GL	1	ccpp	ccpp	72	0	0
	2	ccpp	ccpp	72	0	0
GL × G	1	ccpp	ccPP	0	84	0
	2	ccpp	ccPP	0	75	0

GL: parental golden leopard danio; L: parental leopard danio; G: parental golden danio.

#### 4. 체색과 반문 돌연변이와 생존율 간의 관계

zebra danio와 golden danio의 자연수정과 인공수정 방법에 의한 교배실험 결과와 자연수정에 의한 zebra danio와 leopard danio의 교배 후 15일까지의 알과 자치어의 생존율은 Table 11과 12에 나타내었다.

zebra danio와 golden danio의 자연수정에 의한 15일까지의 일간 생존율은 수정 후 이틀째부터 Z×Z, Z×G, G×Z, G×G의 순으로 점차 낮아졌으며, 15일까지의 생존율은 Z×Z ( $83.8 \pm 6.7\%$ ), Z×G ( $81.0 \pm 5.9\%$ ), G×Z ( $76.9 \pm 2.2\%$ ) 그리고 G×G ( $71.8 \pm 5.1\%$ )의 순을 나타내었다. 수정 1일에서 15일까지의 평균생존율은 Z×G와 G×Z간에는 유의차가 없었으나( $P > 0.05$ ), 이들과 Z×Z, 그리고 G×G와는 유의차가 있었다( $P < 0.05$ ). 인공수정 방법에서 15일까지의 일간 생존율은 수정 이틀후 부터 Z×Z, Z×G, G×Z, G×G의 순으로 점차 낮아졌으며, 15일까지의 생존율은 Z×Z ( $85.5 \pm 2.6\%$ ), Z×G ( $81.6 \pm 5.3\%$ ), G×Z ( $73.7 \pm 5.1\%$ ), G×G ( $71.4 \pm 2.9\%$ )의 순을 나타내었다. 수정 1일에서 15일까지의 평균생존율은 Z×Z와 Z×G는 유의성이 없었고( $P > 0.05$ ), G×Z와 G×G도 차이를 나타내지 않았다( $P > 0.05$ ). 그러나, Z×Z, Z×G와 G×Z, G×G와는 유의성을 나타내었다( $P < 0.05$ ). 한편 자연수정과 인공수정 방법에 의한 각각의 같은 교배실험구 간의 15일까지의 생존율은 통계학적인 차이를 발견할 수 없었다(Table 11).

자연수정 방법에 의한 zebra danio와 leopard danio의 15일까지의 일간 생존율은 수정후 4일째 부터 Z×Z, L×L, Z×L, 그리고 L×Z의 순으로 점차 낮았다. 15일까지의 생존율은 Z×Z ( $83.8 \pm 6.7\%$ ), L×L ( $80.6 \pm 4.8\%$ ), Z×L ( $73.2 \pm 2.0\%$ ), L×Z ( $70.6 \pm 4.2\%$ )의 순을 나타내었다. 수정 1일에서 15일까지의 평균생존율은 Z×Z와 L×L는 유의성이 없었으나( $P > 0.05$ ), 이들과 Z×L 또는 L×Z와는 유의성이 있었다( $P < 0.05$ ). 그리고, Z×L과 L×Z 사이에도 차이를 나타내었다(Table 12).

Table 11. Daily survival rates (%) of progenies from the cross between zebra and golden damio based on natural and artificial fertilization

Methods	Natural fertilization				Artificial fertilization				
	$Z \times Z^a$	$Z \times G^b$	$G \times Z^b$	$G \times G^c$	$Z \times Z^a$	$Z \times G^a$	$G \times Z^b$	$G \times G^b$	
Cross Days	1	95.1±2.2	90.4±4.6	93.9±1.5	91.7±2.2	90.0±1.7	91.9±1.8	91.3±2.6	87.6±2.7
	2	92.2±3.3	88.7±3.9	87.6±3.2	84.0±6.2	88.8±2.7	88.2±4.9	86.5±1.7	85.2±2.3
	3	90.6±3.8	87.2±3.6	85.1±2.9	80.5±6.4	88.7±2.8	87.0±5.4	84.0±3.4	82.6±3.5
	4	89.4±4.3	86.3±3.8	84.5±3.4	78.6±6.4	87.9±2.9	86.4±5.6	83.3±3.0	82.6±3.5
	5	88.0±5.3	85.2±4.7	83.7±3.6	78.2±6.4	87.9±2.9	86.3±5.5	82.0±2.9	80.3±4.1
	6	87.9±5.1	84.8±5.0	82.7±4.0	77.0±6.7	87.5±2.6	84.9±4.9	81.4±2.6	78.4±2.9
	7	87.7±5.0	84.2±5.1	82.6±3.9	76.3±6.1	86.8±2.2	84.9±4.9	80.4±2.2	76.0±2.5
	8	87.7±5.0	83.2±5.4	82.0±4.3	75.6±5.7	86.8±2.1	84.9±4.9	78.5±2.5	76.0±2.5
	9	86.2±5.4	83.2±5.4	81.3±3.9	75.6±5.7	86.2±3.3	84.8±5.0	78.0±2.7	75.8±2.7
	10	85.7±5.4	82.4±5.5	79.4±3.5	75.0±6.9	86.2±2.6	84.0±5.1	77.7±2.9	73.2±2.4
	11	85.4±5.2	82.4±5.5	78.3±2.8	74.2±6.2	85.9±2.8	84.0±5.1	77.2±2.9	72.5±2.6
	12	85.4±5.2	82.0±5.6	78.2±3.1	73.8±5.9	85.7±2.8	82.8±5.8	75.9±4.0	72.5±2.6
	13	83.8±6.7	81.6±6.1	77.3±2.4	73.1±6.4	85.7±2.4	82.6±6.0	74.3±4.8	71.8±2.4
	14	83.8±6.7	81.0±5.9	76.9±2.2	72.8±6.0	85.5±2.6	81.6±5.3	74.1±5.1	71.8±2.4
	15	83.8±6.7	81.0±5.9	76.9±2.2	71.8±5.1	85.5±2.6	81.6±5.3	73.7±5.1	71.4±2.9

Data (mean ± SD) of survival rates were calculated based on 6 replicates; the columns having same superscripts are not significantly different each other (P>0.05).

Table 12. Daily survival rates (%) of progenies from the cross between zebra and leopard danio based on natural fertilization

Method	Natural fertilization				
	Z × Z <sup>a</sup>	Z × L <sup>b</sup>	L × Z <sup>b</sup>	L × L <sup>a</sup>	
Cross Days	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 ± 7.8	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

Data (mean ± SD) of survival rates were calculated based on 6 replicates; the columns having same superscripts are not significantly different each other (P > 0.05).

## IV . 고 찰

체색과 반문에 대한 표현형의 분리비에 대하여 Gordon (1953)은 gray guppy (wild type), golden guppy 그리고 blond guppy의 교배실험에서 gray guppy가 나머지 두 종류 guppy가 가지는 동형 열성인 인자형(gg, bb)에 대해 GG 또는 BB인 동형우성을 나타내며, F<sub>1</sub>세대 간의 교배실험에서 그 비율이 각각 3 : 1로 나타나 전형적인 단성교배(monohybrid) 유전 양상을 나타낸다고 보고하였다. 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<sub>1</sub>세대와 검정교배실험에서 각각 3 : 1과 1 : 1의 비율로 나타나고, 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 aa일 경우에 나타난다고 보고하였다(Frankel, 1987).

zebra danio와 golden danio의 부모세대(P<sub>0</sub>) 간의 상반교배를 병행한 교배실험에서 전 개체가 wild type으로 나타났으며, F<sub>1</sub>세대간의 상반교배 실험에서는 각각 3회 반복한 F<sub>1</sub>(GZ)×F<sub>1</sub>(ZG)와 F<sub>1</sub>(ZG)×F<sub>1</sub>(GZ)의 교배실험구 중 각 실험구에서 두 개의 반복실험구의 경우에서 wild type과 golden type의 예상비율인 3 : 1과 차이를 나타냈으나, 전개체수에 대한 비율에서는 차이가 없었다. 또한, F<sub>1</sub>세대와 부모(P<sub>0</sub>)세대와의 상반교배를 병행한 역교배실험에서도 F<sub>1</sub>(ZG)×G의 1.34 : 1, 1.40 : 1, G×F<sub>1</sub>(ZG)의 1.22 : 1, 그리고 G×F<sub>1</sub>(GZ)의 1.32 : 1을 제외하고는 예상비율과 유의차가 없었다. 유의차를 보이는 4개의 실험구는 wild type의

출현비율이 높았으나, 초기 배(embryo)발생단계에 관찰된 체색 비율은 기대치와 유의차가 없었고(Table 5), 이러한 차이는 부화 후 초기 성장단계에서 golden type의 사망률이 wild type 경우 높은데서 기인한 것으로 생각된다. Streisinger 등 (1986)은 zebra danio의 체색에 영향을 미치는 *gol-1* (golden type), *gol-2* (golden type), *alb-1* (albino type), *spa-1* (spotted type)의 유전자좌는 연관되지 않는다고 보고한 바 있으며, 체색에 관련된 형질을 이용한 자성발생 golden danio의 동형접합개체(homozygote)와 clone개체를 유도하였다(Streisinger et al., 1981; Horstgen-Sehwark, 1993). 그리고, Thorgaard 등(1995)은 정상적인 체색의 무지개송어에 대해 완전 열성을 보이는 albino 무지개 송어의 유전형질을 삼배체 선발을 위한 표식으로 사용하였다.

어류의 반문에 관여하는 유전자의 전달 양상에 관하여 Frankel (1979)은 *Danio nigrofasciatus* (leopard type, SS)와 *D. frankei* (spotted type, ss)의 중간 교배실험에서 F<sub>1</sub>세대는 모두 leopard danio (Ss)로 출현하며, F<sub>1</sub>세대 간의 교배와 역교배실험에서 leopard type (SS, Ss, Ss)과 spotted type (ss)의 비율이 각각 3 : 1과 1 : 1로 나타난다고 보고하였다. 이들 반문에 관련된 유전자의 자손으로의 전달 양상은 동일 유전자의 두 개의 대립인자 형태를 보이고 있다. 이와 같은 결과를 볼 때 이들 두 종의 종(species)으로서의 위치를 다시 재조명하여야 할 필요성이 있는 것으로 사료된다. Petrovicky(1966)는 leopard danio 암컷과 zebra danio 수컷의 교배에서 wild type이 98개체와 spotted type이 1개체가 나타났다고 보고한 바 있다. 이 실험에서는 zebra danio와 leopard danio의 부모세대(P<sub>0</sub>) 간의 상반교배를 병행한 교배실험에서 교배실험구의 대부분이 wild type으로 나타났으나, Z×L 교배실험구 중 두 개의 반복구(1.80 : 1, 1.98 : 1) 과 L×Z 교배실험구 중 한 개의 반복구(2.10 : 1)에서 wild type과 spotted type의 비율이 2 : 1로 나타났다. 이는 전자의 경우 친어로 사용된 두 마리의 zebra danio 암컷 중 한 마리는 동형접합자(PP)였고, 다른 한 마리는 이형접합자(Pp)였다고 추정되었으며, 후자의 경우 친어로 사용된 zebra 수컷중 한 마리는 동형접합자(PP), 다른 한 마리는 이형접합자(Pp)였다고 추정되었다. 그리고 Z×L의 교배실

험구 중 1회의 반복구(0.83 : 1)가 1 : 1로 나타났으며, 이 경우에 있어서는 zebra danio 암컷이 이형접합자(Pp)였다고 추정되었다. 이러한 가능성은 F<sub>1</sub>간의 교배실험과 검정실험을 통해서 입증되었다. 그리고 F<sub>1</sub>세대 간의 상반교배 실험으로부터 F<sub>2</sub>자손의 wild type과 spotted type의 비율이 3 : 1의 기대치를 나타내어 반문을 결정하는 유전자는 상염색체 상에 존재함이 증명되었다.

한편, L×Z 교배실험구중 하나의 실험구에서 체색과 반문에 있어 zebra danio와 leopard danio의 small spotted type을 나타내는 개체가 5마리 출현하였다. Kavumpurath and Pandian (1992)은 같은 danio의 교배실험에서 생산된 모든 F<sub>1</sub>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<sub>1</sub>세대와 P<sub>0</sub>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×F<sub>1</sub>(LZ) 교배실험구 중 두 개의 반복구(각각 2.70 : 1, 3.90 : 1)의 wild type과 spotted type 비율이 3 : 1로 나타났으며, 이러한 경우 친어로 사용된 zebra danio 암컷은 이형접합자(Pp)였다고 추정되었다. 한편, Z×F<sub>1</sub>(LZ) 교배실험구에서 총 179개체 중 1개체 그리고 L×F<sub>1</sub>(LZ) 교배실험구에서 40개체에서 leopard danio에서 보이는 spot의 크기보다 작고 조밀한 형태를 보이는 small spotted type을 나타내었다. Tan and Phang (1995)은 zebra danio와 leopard danio의 역교배실험 중 Z×F<sub>1</sub>(ZL)에서 1,233개체 중 2개체가 spotted type으로 나타난 예외적인 결과를 보고 하였으며, 이는 이 실험의 Z×F<sub>1</sub>(LZ)의 교배실험구에서 나타난 179개체 중 1개체가 small spotted type으로 출현한 것과 유사한 결과를 보였다. 그러나 Tan and Phang (1995)의 결과에서 이들 spot의 크기 형태에 관한 언급은 없었기 때문에 그들이



보고한 spotted type과 이 연구에서의 small spotted type의 동일 여부는 알 수 없었다. Tan and Phang (1995)은 이러한 spotted type의 출현을 암컷배우자의 돌연변이에 의해 생산되었거나, 제한된 표본 크기내에서 발생한 오차이거나 돌연변이가 아닌 S대립유전자와 s 대립유전자의 조합과정에서 불완전한 표현을 (incomplete penetrance)에 기인한 것이라 추정하였으며, Kavumpurath and Pandian (1992)은 교배 실험중 출현한 중간 형질에 대해서 자연발생적인 돌연변이라고 추정하였다. 그리고, Angus (1983)는 sailfin mollies의 black과 spotted type은 melanin 색소 발현을 조절하는 enzyme이 온도에 민감하다라고 보고하면서, 사육환경에 의한 반문 형태의 변이에 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.

zebra danio, golden danio, 그리고 leopard danio와의 교배실험을 통해서 체색은 golden danio의 형질을 가지며, 반문 형태는 leopard danio의 형질을 갖는 개체가 출현하였다. 이러한 돌연변이 개체는 지금까지 보고된 바가 없는 새로운 돌연변이로, 그에 대한 명칭을 “golden leopard danio (golden spotted type)” 라고 하였고, 그들의 유전인자형은 ccpp로 추정되었다. G×L과 L×G의 교배실험에서 모든 개체가 wild type으로, GL×L에서는 spotted type으로, GL×GL에서는 golden spotted type으로, GL×G에서는 golden type으로 나타났다. 이러한 결과는 체색과 반문을 결정하는 유전자형이 zebra danio는 CCPP, golden danio는 ccPP, leopard danio는 CCpp 그리고 golden leopard danio는 ccpp이고, 체색과 반문을 나타내는 유전자는 각각 독립적으로 행동한다는 것을 입증하는 것이다.

Gordon (1953)은 wild gray guppy와 blond guppy와의 교배 실험에서 F<sub>2</sub>세대가 224 : 61로 나타나, 3 : 1의 이론치와 차이가 있었다고 보고하였고, 이러한 차이는 blond guppy의 생존율에 의한 차이라고 기술하면서, 표현형 실험에 있어서 생존율 실험의 중요성을 시사하였다. 따라서, zebra danio와 golden danio의 자연수정에 의한 15일까지의 평균생존율을 조사한 결과 교배에 사용된 danio의 종류에 따라 생존율에 차이가 있음을 알 수 있었다. 그리고 다른 교배에 비해서 G×G의 생존율이 낮은 것은 이들의 유전인자형이 열성 동형접합자(cc)로서 유해한 열성유전자의 발현 빈도가 높아, 초기 사망률이 높았기 때문으로 사료된다.

자연수정에 의한 wild type zebrafish와 leopard danio와의 교배에서 추정된 평균생존율은 앞에서 언급된 결과와 아주 다른 경향을 보이고 있었다. leopard danio 간(L×L)에는 80.6±4.8%, leopard 암컷과 wild type 수컷 간(L×Z)에는 70.6±4.2%, wild type 암컷과 leopard 수컷 간(Z×L)에는 73.2±2.0%였고, wild type zebrafish 간(Z×Z)에는 83.8±6.7%였다. 이러한 결과에서 볼 때, 수십년 전에 처음으로 *D. frankei*로 알려졌다가 최근에는 zebrafish의 "aquarium morph"로 밝혀진 leopard danio는 wild type zebrafish와 마찬가지로 유전적으로 안정되어 있음을 알 수 있다.



## V. 요약

체색과 반문의 유전 양상을 이해하기 위하여 wild type zebrafish (zebra danio)와 이들의 morph (돌연변이)인 golden danio, leopard danio 그리고 golden leopard danio를 대상으로 교배실험을 하였다. 또한, 그러한 돌연변이가 수정 후 15일동안 zebrafish의 알과 자어의 생존율에 미치는 영향을 조사하였다.

zebrafish의 wild type과 golde type간의 상반 단성교배실험을 통해서 체색은 C와 c라는 두 개의 대립인자를 갖는 단일유전자에 의하여 조절된다는 것이 입증되었다. 부모세대로부터 자손으로의 이들 대립인자의 전달은 멘델 유전의 우성과 분리의 법칙을 따르고 있으며, 역교배실험을 통해서 체색을 결정하는 유전자는 상염색체상에 존재한다는 것이 입증되었다.

반문의 유전을 알기 위하여 zebrafish의 wild type과 leopard (spotted) type간의 상반 단성교배를 실시하였다. 반문은 P와 p라는 두 개의 대립인자를 가지는 단일 유전자에 의해 조절되었으며, 역교배실험으로부터 이들의 유전 전달 양식은 체색의 유전 양식과 같음이 입증되었다.

golden danio, leopard danio 그리고 golden leopard danio와의 양성교배는 그 자손에 있어서 두 유전자가 독립적으로 작용하는 지를 알기 위하여 수행하였으며, 실험결과 두 유전자는 멘델의 유전 양식에 있어 독립의 법칙을 따르고 있었다. 따라서, zebrafish 또는 zebra danio의 인자형은 CCPP, gold danio는 ccPP, leopard danio는 CCpp 그리고 golden leopard danio는 ccpp라고 입증되었다.

zebrafish의 돌연변이가 수정 후 15일동안의 알과 자어의 생존율에 끼치는 영향을 알기 위하여 6회 반복실험한 결과 wild type인 zebra danio와 golden danio간의 교배에서 추정된 평균 생존율은 체색에 있어서 돌연변이의 영향을 받아 감소하는 경향을 보였다. 즉, golden danio 간( $G \times G$ )에는  $78.1 \pm 5.1\%$ , golden 암컷과 wild type 수컷 간( $G \times Z$ )에는  $76.9 \pm 2.2\%$ , wild type 수컷과 golden type 암

컷 간( $Z \times G$ )에는  $81.0 \pm 5.9\%$ , 그리고 wild type zebrafish 간( $Z \times Z$ )에는  $83.8 \pm 6.7\%$ 였다. 인공수정에 있어서  $G \times G$ ,  $71.4 \pm 2.9\%$ ,  $G \times Z$ ,  $73.7 \pm 5.1\%$ ,  $Z \times G$ ,  $81.6 \pm 5.3\%$ ,  $Z \times Z$ ,  $85.5 \pm 2.6\%$ 였다. 자연수정과 인공수정 방법에 의한 생존율 사이의 통계적인 유의차는 없었다.

자연수정에 의한 zebra danio와 leopard danio와의 교배에서 추정된 평균생존율은 앞에서 언급된 결과와 다른 경향을 보였다. 즉, 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, 수십년 전에 처음으로 다른 종인 *D. frankei*로 알려졌다가 최근 "aquarium morph"로 밝혀진 leopard danio는 wild type zebrafish와 마찬가지로 유전적으로 안정되었음을 알 수 있었다.

## VI. 참고 문헌

- Angus, R.A., 1983. Genetic analysis of melanistic spotting in sailfin mollies. J. Hered., 74: 81~84.
- Axelrod, H.R. and L.P. Schultz, 1955. A handbook of tropical aquarium fishes, New York, McGraw-Hill Book Co.
- Bhimachar, B.S. and A. Subra Rau, 1942,. The fishes of Mysore State, I. Fishes of Kadur District. Half-yearly J. Mysore Univ., Sect. B. 1: 141~153.
- Bridges, W.R. and B. Limbach, 1972. Inheritance of albinism in rainbow trout. J. Hered., 63: 152~153.
- 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.
- Fischer, G. and E. Schmatolla, 1972. Axonal transport of tritium-labelled tescine in the embryonic visual system of zebrafish. Science, 176: 1327~1329.
- 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.
- Frankel, J.S., 1992. Inheritance of trunk coloration in the three-spot gourami,

- Trichogaster trichopterus* Pallas. J. Fish Biol., 41: 663~665.
- 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.
- Hanneman, E., B. Trevarrow., W.K. Metcalfe, C.B. Kimmel and M. Westerfield, 1988. Segmental pattern of development of the hindbrain and spinal cord of the zebrafish embryo. Development, 103: 48~58.
- Hisaoka, K.K., and C.F. Firlit, 1962. Ovarian cycle and egg production in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. Copeia, 4: 788~792.
- Horstgen-Schwark, G., 1993. Production of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). Aquaculture, 112: 25~37.
- Housz, I.F.M., 1964. Was is *Brachydanio frankei*? DATZ, 1: 9~12.
- Kavumpurath, S. and T.J. Pandian, 1992. Hybridization and gynogenesis in two species of the genus *Brachydanio*. Aquaculture, 105: 107~116.
- Kohei, H., B. Ruth, W. Monte and B.K. Charles, 1991. Diversity of expression of engrailed-like antigen in zebrafish. Development, 112: 821~832.
- Krauss, S., M. Maden, N. Holder and S.W. Wilson, 1992. Zebrafish *pax [b]* is involved in the formation of the midbrain-hindbrain boundary. Nature, 360: 87~89.
- 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.
- Mrakovic, M. and L.E. Haley, 1979. Inbreeding depression in the zebrafish *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan). J. Fish Biol., 15: 323~327.
- Petrovicky, I., 1966. Hybridization between *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan) and *Brachydanio frankei* Meinken. Ichthyol. Aquarium J., 37: 53~62.

- Piron, R.D., 1978. Spontaneous skeletal deformities in the zebra danio (*Brachydanio rerio*) bred for fish toxicity tests. J. Fish. Biol., 13: 79~83.
- Razani, H., R. Nanba and S. Murachi, 1986. Acute toxic effect of phenol on zebrafish *Brachydanio rerio*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fisheries, 52(9): 1547~1552.
- Rehnberg, B.G. and R.J.F. Smith, 1988. The influence of alarm substance and shoal size on the behaviour of zebra danios, *Brachydanio rerio* (Cyprinidae). J. Fish Biol., 33: 155~163.
- Steel, C.W., A.D. Scarfe and D.W. Owens, 1991. Effects of group size on the responsiveness of zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan), to alanine, a chemical attractant. J. Fish Biol., 38: 553~564.
- Streisinger, G., F. Singer, C. Walker, D. Knauber and N. Dower, 1986. Segregation analyses and gene-centromere distance in zebrafish. Genetics, 112: 311~319.
- Streisinger, G., C. Walker, N. Dower, D. Knauber and F. Singer, 1981. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). Nature, 291(28): 293~296.
- Tan, J.C.S. and V.P.E. Phang, 1995. Inheritance of body pigmentation pattern in *Brachydanio rerio*. J. Hered., 86(3): 231~232.
- Thorgaard, G.H., P. Spruell, P.A. Wheeler, P.D. Scheerer, A.S. Peek, J.J. Valentine and B. Hilton, 1995. Incidence of albinos as a monitor for induced triploidy in rainbow trout. Aquaculture, 137: 121~130.
- Tave, D. 1986. Genetics for fish hatchery managers. The Avi Publishing Company, Inc., pp. 21~22.

## 감사의 글

제가 공부를 하면서 나태하고, 방황할 때 희망과 용기를 주셨고, 학문을 하는 사람으로서의 진정한 자세를 일깨워 주시고, 논문이 나오는 그 날까지 세심하게 지도해주신 송춘복 선생님께 깊은 감사를 드립니다.

논문이 완성되기까지 지도해 주신 정상철 선생님, 이기완 선생님께 감사드리고, 또한 항상 아버지의 마음같은 인자함으로 용기를 주신 이정재 선생님, 노섭 선생님 그리고 항상 관심을 가지고 조언을 해 주신 이영돈 선생님, 최광식 선생님, 이제희 선생님께 깊은 감사를 드립니다.

실험과 자료정리를 하는 데 많은 도움을 준 어류 유전, 육종학 연구실 가족들 (강거영, 김연희, 강인국, 정창용, 현은실, 양철호, 고봉균, 오지원, 강윤석, 고범석, 김지예, 강영관, 변정선) 그리고 졸업생 실원들(김경택, 윤현식, 유원주, 문선우, 강행수, 강성보, 고영균), 자료 정리는 물론 세심한 관심으로 항상 지켜봐 주신 박무억 선배님, 현재민 선배님, 원승환 선배님, 어려울 때 항상 곁에 있어준 송인선, 강세훈 후배님께 고마움을 전하며, 늘 옆에서 격려해 준 대학원 선후배님들과 해양생물공학과 학생들에게도 깊은 감사를 드립니다.

마지막으로 늘 믿음과 사랑으로 저를 보살피 주신 사랑하는 부모님, 나의 진로에 대해 관심과 성원을 아끼지 않았던 형님, 늘 따스한 미소로 나를 반겨주신 형수님, 객지에서 고생하면서도 이 못난 형을 늘 걱정해주는 동생 병식이 그리고 내가 이제는 결혼해야 할 때가 됐음을 깨닫게 해 준 귀염둥이 조카 제원이에게 이 작은 결실을 바칩니다.

이 작은 결실이 학문의 끝이 아닌 시작이라 생각하며, 더욱 정진할 것을 다짐해 봅니다.