

***Drosophila melanogaster*에 있어서 Methyl methane sulfonate의 영향에 대한 생리유전학적 연구**

최혜영 · 최영현 · 이원호 · 최주수*
부산대학교 생물학과 · 동의대학교 생물학과
(1996년 4월 9일 접수)

Physiological Genetic Studies on the Effects of Methyl methanesulfonate in *Drosophila melanogaster*

Hye-Young Choi, Yung-Hyun Choi, Won-Ho Lee, and Joo-Soo Choi*

Dept. of Biology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*Dept. of Biology, Dongeui University, Pusan 614-714, Korea

(Manuscript received 9 April 1996)

Methyl methanesulfonate (MMS) was fed to *Drosophila melanogaster* in order to investigate its toxic capability at developmental and adult stages, and the hereditary effect of toxicity and the potency for induction of sex-linked lethal mutation during the spermatogenesis by the means of an attached-X method.

In the control group, the egg to adult viability of *D. melanogaster* was 95.2%, while 3.5mM and 5.0mM treated groups were 90.0% and 84.1%, respectively. In the case of their progenies (F₁), the viability was 96.9% in the control group, while 3.5mM and 5.0mM treated groups were 54.5% and 1.6%, respectively. Therefore, these differences between two generations show significant physiological toxic effects in the next generation. In the parental generation, the developmental time was calculated 11.05 days in the control group, 12.43 days in 3.5mM treated group, and 13.23 days in 5.0mM. In the case of F₁ it was estimated 10.35 days in the control group, and 11.43 days in 3.5mM treated group. Compared with the control groups in two generations, the developmental time generally delayed as the dose of MMS increased. As to the sex-ratio, there was no differences between the control and MMS treated groups. The toxic values of adult stage showed which increased the frequency of mortality with MMS concentrations. The mortality at 120hr in the control group was 1.67% and it in 0.5mM MMS treated group 3.33%. In 2.5mM MMS treated group, it was 33.3% at 72hr, and it 95% at 120hr. The increase of the mortality was shown from 72hr in 4.0mM treated group which was 100% at 96hr. There was the concentration-dependent induction of sex-linked lethal mutation during the spermatogenesis by means of an attached-X method, MMS had more pronounced effect in sperm and spermaid stages in *D. melanogaster*.

Key words : *Drosophila melanogaster*, Methyl methanesulfonate, viability, Developmental time, Mortality

1. 서론

*Drosophila*를 이용한 주변 환경내 화학물질들의 돌연변이원성이나 유해성의 검정에 대한 연구는 sulfur mustard를 사용하여 돌연변이 생성을 Auerbach와 Robson(1947)가 보고한 이후 많은 학자들에 의해 연구되어져 왔다. 특히 강력한 돌연변이 유발 물질로 알려진 alkylating agents는 염기쌍 치환 및 염색체의 부분적 절단 또는 치환 등의 효과가 있는 것으로 알려져 왔다(Auerbach and Robson, 1947; Gerhardt et al., 1981). 이러한 alkylating agents를 이용한 열성 또는 우성 치사유발, 전좌, 염색체 결실 및 돌연변이원의 감수성 등에 관한 실험도 여러 연구팀에 의해 행해져 오고 있다(Vogel and Natarajan, 1979; Ryo and Kondo, 1981; Ikebuchi and Teranishi, 1981; Ikebuchi and Nakao, 1979; Bateman and Chandley, 1964). Alkylating agents는 그들의 돌연변이원성과 돌연변이원성의 작용상 크게 9가지로 분류되어 지는데(Auerbach, 1979), 돌연변이 유발능의 분석에 가장 널리 사용된 대표적인 것이 ethyl methanesulfonate(EMS), methyl methanesulfonate (MMS) 및 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MMNG)등(Alderson, 1965; Jenkins, 1967; Lim and Synder, 1970; Brink, 1970; Fahmy and Fahmy, 1961; Liu and Lim, 1974; Boyed et al., 1976)이다. Epler(1966)와 Alderson(1965)등은 *Drosophila*에 EMS의 처리에 의해 반성 치사 돌연변이가 높게 유도됨을 보고하였으며, Lim과 Synder(1970), Liu와 Lim(1974) 및 Boyed et al.(1970)은 MMS를 초파리에 처리하여 성염색체의 열성 치사 돌연변이가 높게 나타났음을 보고하였다. Mukai(1969) 및 Ohnishi(1977) 등은 EMS에 의한 생존도에 미치는 다유전자성 돌연변이의 효과를 분석하여 낮은 EMS의 농도에서 저 생존력 다유전자가 높게 유발되었음을 밝혔다. Brink(1970)는 X-염색체상 돌연변이 유전자를 가진 계통을 이용하여 EMS에 의한 유전자 돌연변이와 염색체상의 이상 및 완전 또는 가시성 돌연변이의 빈도를 조사 보고한 바 있다. Lee와 Park(1982)은 EMS에 의한 *D. melanogaster*에 미치는 생리 유전학적 영향을

분석하였으며, 제2염색체상의 열성인자에 관한 변이유전학적 영향을 Cy/Pm법을 통하여 분석 비교한 바 있다.

일반적으로 초파리를 이용한 실험들에서 상염색체상에 생기는 돌연변이의 검출보다는 성염색체에서 유발되는 변이 검출이 실험조작 및 분석면에서 비교적 간단하며, CIB법을 개량한 Muller-5법이나 attached-X법을 주로 사용해 왔다. 특히 attached-X법은 단세대에서 분석이 가능하므로 경제적인 검출계로 알려지고 있다(Moriwaki, 1979; Choi et al., 1995). 본 실험에서는 MMS가 *D. melanogaster*에 미치는 생리유전학적 영향을 알아보기 위하여 발육단계상의 독성검사, 생존도, 발육속도, 성비 등을 대조구와 비교 분석하였고, 성체에서의 독성효과와 X 염색체상 반성 치사돌연변이 유발에 대한 반응성 등을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

MMS에 대한 발육단계상에서 미치는 독성검사, 생존도, 발육속도 및 성체에서의 독성 효과를 조사하기 위하여 *D. melanogaster*의 표준종인 Oregon-R(OR) 계통을 사용하였고, 반성 치사 돌연변이 유발효과의 검정을 위하여 attached-X 염색체를 가진 돌연변이체(yf=)를 사용하였다. 이들은 일본 국립유전학연구소로부터 분양받아 25℃ 항온 항명 사육실에서 계속 유지되어 온 종들이다. 사육을 위한 배지는 corn meal-agar 표준배지였고, MMS($\text{CH}_3\text{SO}_2\text{OCH}_3$, Sigma)는 5% sucrose 용액에 희석하여 사용하였으며, 대조구는 5% sucrose 용액만을 동일량 사용하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 발육 단계상의 영향

우화 후 2-3일령인 미교배 상태의 *D. melanogaster* 암수를 15-20쌍 정도로 표준 배지가 든 사육병(3×10cm)에서 교배시켜 24시간 경과 후 새 사육병으로 옮겨 10시간 동안 산란시킨 후 성체를 제거하였다. 성체를 제거한 즉시 쌍안 실체 현미경하에서 알을 계수하여 1일령 유충(12±5hrs)시기에 MMS를 각 농도별 사육병당 250μl씩 배지 표면에 투여하여(Ryo et al., 1984) 약 9일후부터 우화해 나

오는 성체를 17일까지 24시간 간격마다 계수 분석하였다. 독성효과의 유전성을 조사하기 위해 우화해 나온 F_1 의 암컷과 수컷개체를 농도당 15-20쌍 정도로 사육병에서 교배시켜 24시간 경과 후 새 사육병으로 옮겨 10시간 동안 산란 시킨 후 성체를 제거하였다. 성체를 제거한 즉시 알을 계수하고 약 9일경부터 우화해 나오는 성체를 24시간 간격으로 계수하였다. 실험과정에서 유충의 pupation 습성을 고려하여 MMS 처리 3-4일 후 배지상에 멸균지를 꽂아 주었다.

2.2.2. 성체에서의 독성효과

성체에서 MMS의 섭식을 위해서 Lewis와 Bacher(1968)의 방법에 준하여 멸균된 tissue paper를 사육병에 약 1cm 정도의 높이로 채우고 농도별 처리액을 4ml 정도 충분히 흡수시켜 둔 후 2시간 starvation시킨 2-3일령의 OR 수컷을 사육병당 40개체씩 넣어 3회 반복 준비하고 매 24시간 마다의 사체수를 계수하여 144시간까지의 누가 기록 결과로써 농도별 독성효과를 비교하였다.

2.2.3. 정자형성 단계상 반성치사 돌연변이 유발효과 조사

Attached-X법을 이용하여 반성 치사 유발정도에 대한 MMS의 영향을 조사하였다. 이 교배법에 의한 검정은 F_1 에서의 암수 성비를 이용하는데 만약 수컷이 유전적으로 정상이라면 성비는 1:1이 될 것이며, 처리된 수컷의 X염색체상에 치사 돌연변이가 유도되었다면 F_1 에서 수컷의 비율은 그 유발 정도에 따라 감소될 것이다.

처리액의 투여는 상기한 Lewis와 Bacher(1968)의 방법에 준하였으며, 2시간 starvation시킨 2-3일령의 수컷을 사육병당 40개체씩 넣어 24시간 동안 섭식시킨 후 실험에 사용하였다. 표준 배지상에서 미교배의 yf: 암컷과 MMS를 섭식시킨 수컷을 10:10으로 교배 후 24시간마다 새로운 사육병에 transfer를 계속하여 Sankaranarayan과 Sobel(1976)의 분류 기준에 따라 정자 형성 단계상의 brood 별로 미치는 반성치사의 정도를 비교 분석하였다. 즉, 생식세포 형성단계상 정자에 직접 영향을 끼친 것은 brood A(1일-4일),

제5-6일째의 것은 정세포에 대한 영향으로 하여 brood B, 제7-8일째의 것을 정모세포에 대한 것으로하여 brood C, 그리고 제9-10일째 얻은 것들은 정원세포에 대한 영향으로 brood D로 하여 비교 분석하였으며, 이상의 모든 실험은 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 항온 사육실에서 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 발육 단계상의 독성효과

*D. melanogaster*에 있어서 유충 발생기에 미치는 MMS의 효과를 비교하기 위하여 1령기 유충에 농도별 처리액을 투여한 후 성체까지의 생존율과 발육 속도를 조사하였다. 생존도는 총 산란수에 대한 우화한 성체의 비율로 나타내었으며, 발육 속도는 각 개체당 우화까지의 일수를 모두 합산하여 전체 개체수로 나누어 산출하였고, 성비는 우화한 총개체들 중 수컷의 비율을 구하여 비교하였다. 또한 이러한 조사들은 MMS를 투여한 실험구에서 사육된 성체들의 자손 즉 F_1 에 대해서도 실시하여 독성효과의 유전성을 조사하였다. 이상의 방법에 의한 결과를 Fig. 1에 나타내었는데, 이는 대조구를 기준(1)으로 한 상대값으로 표기한 것이다.

생존도의 경우, P세대에서 대조구가 95.2%였으며, MMS 2.5mM에서 4.0mM사이의 처리구들에서도 90% 수준이었으나, 5.0mM 처리구의 경우는 84.1% 정도로 낮아졌다. F_1 세대에서 대조구의 생존도는 96.9% 정도였으나 3.5mM 처리구의 경우는 54.5%, 4.0mM과 5.0mM 처리구에서는 0에서 1.6%의 극히 낮은 생존도를 보임으로써 P 세대에 비하여 농도의 증가에 따른 큰 차이를 나타내었다(Fig. 1A). 즉 MMS를 직접 처리한 개체들에서 비록 농도의 증가에 따른 생존도에 큰 영향을 미치지 않는 않았으나 그 다음 세대로의 독성 효과의 유전적 영향은 매우 큰 것으로 나타났다.

P 세대에서 대조구의 발육속도는 평균 11.05일이었으며, 3.5mM MMS 처리구에서는 12.43일이고, 4.0mM 및 5.0mM 처리구의 경우는 12.37일과 13.23일로 농도의 증가에 따라 성체까지의 발육이 상당히 지연되었음을 알 수 있었다. F_1 세대에서의 발육속도는 조사된 전 농도에 걸쳐 P세대보다는 전체적으로 빨라져(Fig. 1B) 생존도와는 달리 그 다음 세대로의

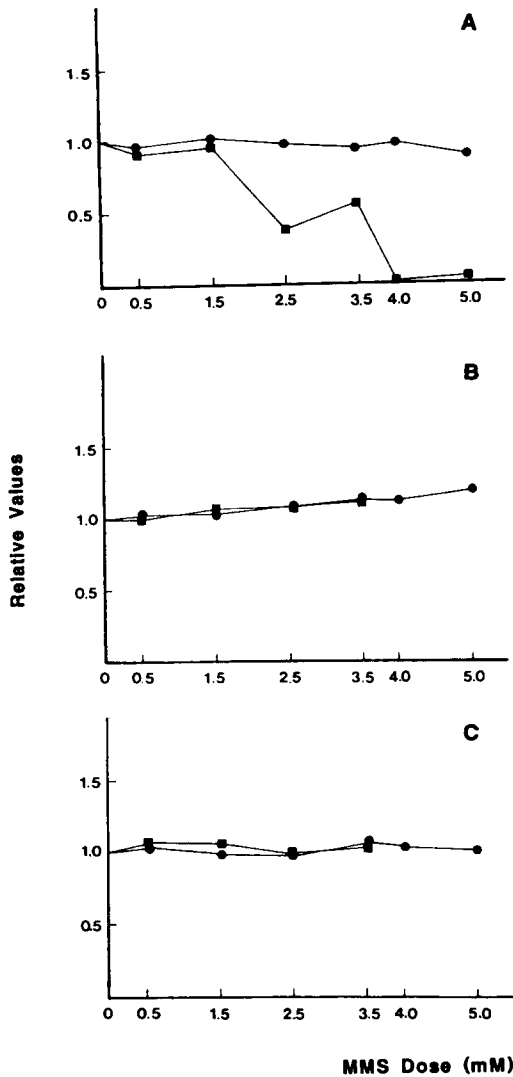


Fig. 1. Effects of methyl methanesulfonate on the viability (A), the developmental time (B), and the sex ratio (C), of *Drosophila melanogaster* in the parental (●) and the first filial generation (■).

유전적 독성 영향이 거의 나타나지 않았음을 시사하여 주었다. 그리고 발육단계상 MMS를 처리하여도 그들의 성비에는 P 및 F1 세대 모두에서 별다른 영향을 주지 않았는데, 이는 MMS에 의한 특정 성의 선택적인 치사 효과가

없음을 의미한다(Fig. 1C).

이상의 결과 중, 발육속도의 지연은 Luning (1966)이 *Drosophila* 배지 내에 첨가한 약품의 농도에 따른 발육속도의 상관 관계를 발표한 이래 여러 환경성 유해물질들이 적정 농도 이상에서는 발육속도의 지연 효과를 보여주는 것으로 나타났으며, 특히 Inoue 와 Watanabe (1978)는 화학물질의 독성을 검사하는데 가장 민감성을 보이는 요소를 발육속도의 지연이라고 한 바 있다. MMS를 처리한 본 실험에서 나타난 이러한 경향은 같은 alkylating agents인 MMNG, intercalating agents인 EtBr을 처리한 실험에서 F₁에 나타난 결과들(Choi and Lee, 1989; Lee et al., 1985; Choi and Lee, 1987), 즉, 생존율의 저하, 발육속도의 지연 등과 유사한 경향임을 알 수 있었다. 그러나 몇종의 중금속에 대한 경우는 특정 농도 증가에 따라 생존도면에서는 현저한 감소를 보였으나

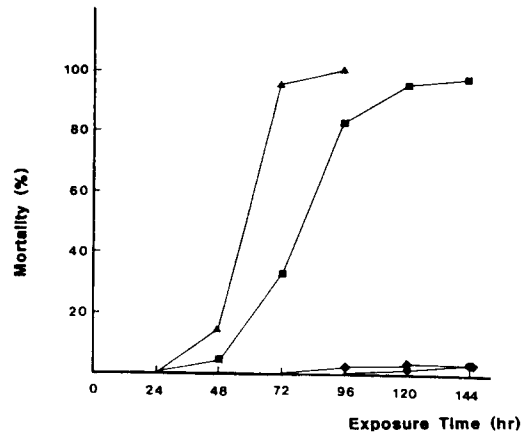


Fig. 2. Exposure-mortality relationship to methyl methanesulfonate of *Drosophila melanogaster* males after adult feeding. ●; control group, ◆; 0.5mM, ■; 2.5mM, & ▲; 4.0mM MMS treated group.

발육 속도는 오히려 빨라진다는 결과도 보고된 바 있다(Chung and Kim, 1986; Kim et al., 1987)

3.2. 성체에서의 독성 효과

MMS의 *D. melanogaster* 성체에 대한 독성

Table 1. Sex ratio of progenies from the crosses between attached-X females and males

Dose (mM)	No. of crosses	Total flies counted	Brood			
			A	B	C	D
0	6	5,105	0.4699	0.4808	0.5246	0.4808
1.0	10	4,218	0.4343	0.4174	0.4203	0.4558
2.0	10	3,444	0.4133	0.4298	0.4501	0.4291
4.0	8	718	0.3734	0.4124	-	-

정도를 비교하기 위하여 적정농도의 처리액을 Lewis와 Bacher(1968)의 방법에 준하여 투여하였다. Fig. 2은 이를 2회 반복한 평균치를 나타낸 결과로서 대조구에 비하여 MMS의 농도가 증가함에 따라 mortality도 급격히 증가되는 경향임을 알 수 있었다. 처리 120시간 경과 후 대조구의 치사율이 2%임에 비하여 0.5mM 처리구는 3% 정도였으며, 2.5mM 처리구는 72시간 경과 후 mortality가 차츰 증가하여 120시간 후에는 95%에 이르는 치사율을 보였다. 4.0mM 처리구에서는 72시간 이후부터 거의 96%에 이르는 급격한 증가를 보이다가 96시간 경과 후 전 개체가 치사되었다. 이러한 결과는 동일 방법에 의한 Lee et al.(1993)의 EMS 처리 결과, Marcos et al.(1981)의 EtBr 처리에 의한 결과 및 mitomycin C 처리에 의한 Choi et al.(1992)의 결과와 매우 유사하였다.

3.3. 정자형성 단계상 반성치사 돌연변이 유발 효과

MMS를 Lewis와 Bacher(1968)의 방법에 준하여 24시간 투여시킨 즉시 attached-X 염색체를 가진 미교배 암컷과 10:10의 비율로 교배시킨 후 F₁에서 나타난 결과에 의하여 MMS가 *D. melanogaster*의 생식 세포 형성 단계상의 각 brood별로 미치는 치사 돌연변이 유발의 정도를 비교 분석하였다(Table 1).

각 brood에 따른 대조구 및 MMS 처리구에서 나타난 성비에 있어서, 대조구는 0.4699에서 0.5246의 수준으로 전체 brood의 평균치는 약 0.489 정도였으며, 이 값은 선행 연구들(Lee와 Park, 1982; Inoue and Watanabe, 1978; Choi and Lee, 1987; Lee et al., 1993; Choi et al., 1992)의 대조구 평균치들에 비하여 비교적 낮거나 비슷한 비율이었다. MMS 1.0mM 처리구에서는 0.4174에서 0.

4558의 수준으로 평균치는 0.4320이었고, 2.0mM에서는 0.4133에서 0.4501사이로 0.4306의 평균치를 나타내어 이 경우에는 전기한 여러 연구 결과들과 유사한 경향이었다. 4.0mM 처리구에서는 brood A에서 0.3735 수준으로 대조구와 다른 처리구들에 비해 현저히 낮아졌으며, brood C와 D에서는 우화한 총 개체수가 너무 적어서 성비의 통계적인 조사가 불가능하였다.

Brood A에서 2.0mM 처리구는 0.4133, 4.0mM 처리구는 0.3734로, brood B에서는 2.0mM 처리구는 0.4298, 4.0mM 처리구는 0.4124를 보여 동일한 brood 내에서도 농도가 증가함에 따라 치사 돌연변이 유발 효과의 빈도도 증가됨을 보여주었는데, 이러한 결과들은 MNNG(Choi and Lee, 1989; Fujikawa and Kondo, 1986)의 경우와 EMS(Vogel and Natarajan, 1979; Sankaranayan and Sobel, 1976; Fujikawa and Kondo, 1986) 뿐만 아니라 다른 alkylating agents(Vogel and Natarajan, 1979; Ryo and Kondo, 1981; Vogel et al., 1982, Smith et al., 1982; Searle, 1982; Fujikawa and Kondo, 1986)에서 볼수 있었던 일련의 경향들과 유사한 양상임을 알 수 있었다. 1.0mM 처리구에서는 brood A가 0.4343, B가 0.4174, C 및 D 0.4203과 0.4558로서 각 brood에 대한 비교치로서는 정세포 형성단계에서 치사 돌연변이 유발 효과가 높게 나타났으며, 2.0mM 처리구에서는 brood A에 해당하는 정자 단계에서 가장 낮은 값을 보여 주었고, 4.0mM에서도 유사한 경향성을 보여 주었다(Table 1). 따라서 본 실험 방법에 의한 결과에서 MMS는 정자 형성과정에 있어서 정자와 정세포 단계에 비교적 높은 치사 효과가 있었음을 알 수 있었다.

Vogel et al.(1982)의 EMS를 처리한 *D. melanogaster*에 대한 보고에 의하면 X 염색체

상이나 제2염색체상의 열성치사 돌연변이의 유발빈도가 정자 단계에서 최고의 비율이며 그 다음은 정세포 단계였고, 전좌의 유도에서도 처리후 6일째까지 비교적 높게 유도되었다고 하였으며, Ikebuchi와 Teranishi(1981)도 이와 유사한 보고를 한 바 있다. MNNG의 경우 유도 정자 단계에서 높게 나타났으나 MNU나 DEN은 정세포 단계에서 오히려 더 높은 빈도를 보였고 ENU는 정자형성 전단계에 걸쳐 유의적인 차이점을 나타내지 않았다(Vogel et al., 1982, Smith et al., 1982). 생쥐의 생식세포에 대한 감수성의 실험에서는 EMS나 MMS의 경우는 *D. melanogaster*와 유사하게 정자와 정세포 단계에서 치사돌연변이의 유발빈도가 가장 높았으며 이상의 결과들은 동일 alkylating agents에 속하면서도 각 화학물질들에 따라 다소의 다른 결과를 보여줌을 알 수 있는데, 본 실험법에 의한 MMS는 EMS나 MNNG와 비슷한 단계에서 치사돌연변이를 유도한다고 할 수 있다.

4. 결 론

강력한 돌연변이 유발원인 methyl methanesulfonate(MMS)가 *Drosophila melanogaster*에 미치는 독성 정도를 유충발생기와 성체에 대한 비교 및 독성 효과의 유전성 조사 그리고 생식세포형성 단계상의 반성치사 돌연변이 유발의 정도를 attached-X 법에 의하여 비교 분석하였다.

유충발생시기에 있어서의 생존도는 대조구의 95.2%에 비하여 3.5mM MMS 처리구는 90.0%를 보였고, 5.0mM 처리구는 84.1%로 나타났다. F₁에서의 생존도는 대조구의 96.9%에 비하여 3.5mM 처리구는 54.5% 수준이었으며, 5.0mM에서는 1.6% 수준으로 극히 낮은 생존도를 보였다. 따라서 MMS의 독성효과에 있어서는 MMS를 직접 처리한 세대에서 보다 그 다음 세대의 생존도에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 발육속도는 P 세대에서 대조구가 11.05일이었고, 3.5mM과 5.0mM 처리구에서는 각각 12.43일 및 13.23일로, 농도 증가에 따른 성체까지의 발육 지연현상을 보였다. F₁ 세대에서는 대조구가 10.35일, 3.5mM에서는 11.43일로 역시 MMS 처리 농도가 증가될수록 지연되었고, 전

농도에 걸쳐 F₁이 P 세대에서 보다 발육속도가 빨라졌음을 알 수 있었다. 성비는 두 세대의 전 농도에 걸쳐 유의적인 차이를 나타내지는 않았다.

성체에서의 독성검사는 농도증가에 따라 mortality가 증가되었는데, 120시간 경과 후 대조구의 치사율이 1.67%인데 비하여 0.5mM 처리구는 3.33%로 나타났다. 2.5mM 처리구는 72시간 후에 33.3%, 120시간 후에는 약 95%의 치사율을 보였고, 40mM 처리구에서는 72 시간 경과 후부터 mortality의 높은 증가를 보이다가 96시간 후에는 전 개체가 치사되었다. *D. melanogaster*에 있어서의 attached-X 법에 의한 반성 치사 돌연변이의 유발에서 MMS의 농도가 증가할수록 높은 빈도의 치사를 유도하였으며, 특히 정자와 정세포 단계에서 비교적 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- Alderson, J., 1965, Chemically induced delayed germinal mutation in *Drosophila*, Nature, 207, 164-169.
- Auerbach, C., 1976, Mutation Research, Chapman and Hall, pp. 279-281.
- Auerbach, C. and J.M. Robson, 1947, The production of mutations by chemical, Proc. Roy. Soci. Edinb., 62, 271-283.
- Bateman, A. and A.C. Chandley, 1964, The sensitivity of the male germ cells of *Drosophila* to methyl methanesulfonate, Heredity, 19, 711-718.
- Boyed, J.B., M.D. Golino, T.D. Nguhen and M.M. Green, 1976, Isolation and characterization of X-linked mutants of *Drosophila melanogaster* which are sensitive to mutagens, Genetics, 84, 485-506.
- Brink, N.G., 1970, Complete and mosaic visible mutations produced by ethyl methanesulfonate in *Drosophila melanogaster*, Mutation Res., 10, 227-236.
- Choi, Y.H. and W.H. Lee, 1987, Studies on the physiological genetic effects of

- N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine in *Drosophila melanogaster*, J. Sci., Pusan Nat. Univ., 44, 127-135.
- Choi, Y.H. and W.H. Lee, 1989, Toxic and mutagenic effects of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and ethidium bromide in *Drosophila melanogaster*, J. Sci., Pusan Nat. Univ., 47, 211-216.
- Choi, Y.H., M.A. Yoo and W.H. Lee, 1992, Studies on the physiological toxic effects of mitomycin C in the *Drosophila melanogaster* complex, J. Environ. Studies, Pusan Nat. Univ., 10, 67-76.
- Choi, Y.H., M.A. Yoo and W.H. Lee, 1995, Comparative induction of sex-linked lethal mutations in *Drosophila melanogaster* males by Ethyl methanesulfonate, J. Korean Environ. Sci. Soc., 4, 543-549.
- Chung, H.J. and K.W. Kim, 1986, Study on the effects of antibiotic agents on the developmental time and mutagenicity in *Drosophila melanogaster* (Oregon Red Strain), Korean J. Genetics, 8, 237-238.
- Epler, J.L., 1966, Ethyl methanesulfonate-induced lethals in *Drosophila*-frequency-dose relations and multiple mosaicism, Genetics, 51, 31-36.
- Fahmy, O.G. and M.J. Fahmy, 1961, Cytogenetic analysis of the action of carcinogens and inhibitors in *Drosophila melanogaster*. X. The nature of the mutation induced by the mesyloxy esters in molecular cross linkage, Genetics, 46, 447-458.
- Fujikawa, K. and S. Kondo, 1986, DNA repair dependence of somatic mutagenesis of transposon-caused of white alleles in *Drosophila melanogaster* after treatment with alkylating agents, Genetics, 112, 505-522
- Gerhardt, P., R.G.E. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg and G.B. Phillips, 1981, Manual of methods for general bacteriology, Am. Soci. Micro., pp 222-226.
- Ikebuchi, M. and Y. Nakao, 1979, Storage effects on translocations and dominant lethal induced by ethyl methanesulfonate (EMS) in *Drosophila melanogaster*, Jpn. J. Genet., 54, 133-137.
- Ikebuchi, M. and Y. Teranishi, 1981, Storage effects on sex-chromosome losses induced by triethylene melamine (TEM) and ethyl methanesulfonate (EMS) in *Drosophila melanogaster*, Jpn. J. Genet., 56, 145-153.
- Inoue, Y. and T.K. Watanabe, 1978, Toxicity and mutagenicity of cadmium and furylfuramide in *Drosophila melanogaster*, Jpn. J. Genet., 53, 183-189.
- Jenkins, B.J., 1967, Mutagenesis at a complex locus in *Drosophila* with the monofunctional alkylating agents, ethyl methanesulfonate, Genetics, 57, 783-793.
- Kim, K.W., Y.T. Chung, S.T. Park and J.J. Kim, 1987, Effects of heavy metal compounds (As, Sr, and Se) on the development of *Drosophila melanogaster*, Korean J. Zoology, 30, 99-106.
- Lee, J.A., Y.H. Choi and W.H. Lee, 1993, Genetic studies on the effects of ethyl methanesulfonate in *Drosophila melanogaster* complex, J. Environ. Studies, Pusan Nat. Univ., 11, 57-65.
- Lee, W.H. and J.W. Park, 1982, Induced mutation and physiological genetic studies on the effects ethyl methanesulfonate in *Drosophila melanogaster*, J. Sci., Pusan Nat. Univ., 34, 263-274.
- Lee, W.H., S.J. Lee and J.T. Lee, 1985, Physiological genetic studies on the ef-

- fects of ethidium bromide in sibling species of *Drosophila melanogaster*, J. Sci., Pusan Nat. Univ., 40, 187-194.
- Lewis, F.B. and F. Bacher, 1968, Methods of feeding ethyl methanesulfonate (EMS) to *Drosophila* males, *Drosophila Inform. Serv.*, 43 : 193.
- Lim, J.K. and L.A. Synder, 1968, The mutagenic effects of two monofunctional alkylating chemicals on mature spermatozoa of *Drosophila*, *Mutation Res.*, 6, 127-137.
- Liu, C.P. and J.K. Lim, 1974, Complementation analysis of methyl methanesulfonate induced recessive lethal mutations in the zeste-white region of the X chromosome of *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 79, 601-611
- Luning, K.G., 1966, *Drosophila* tests in pharmacology, *Nature*, 209, 84-86.
- Marcos, R., J. Lopez de Soplveda, N. Xamena and A. Creus, 1981, Effects of ethidium bromide on *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*, *Experimentia*, 37, 559-560.
- 森協 大五郎, 1979, ショウジョウバエの 遺傳 實習, 培風館, pp. 110-116.
- Mukai, T., 1969, The genetic structure of natural population of *Drosophila melanogaster*. VII. Synergistic interaction of spontaneous mutant. Polygenes controlling viability, *Genetics*, 61, 749-761.
- Ohnishi, O., 1977, Spontaneous and ethyl methanesulfonate induced mutations controlling viability in *Drosophila melanogaster*. III. Heterozygous effect of polygenic mutations, *Genetics*, 87, 547-536.
- Ryo, H., K. Ito and S. Kondo, 1981, Increment kinetics of recessive lethal mutation and dominant lethals in offspring of *Drosophila melanogaster* on storage of methyl-methanesulfonate-treated sperm in females, *Mutation Res*, 83, 179-190.
- Ryo, H., S. Kondo and B. Rasmuson, 1984, Enhanced susceptibility of transposable-element-bearing strain of *Drosophila melanogaster* to somatic eye-color mutation by methyl methanesulfonate, methyl nitrosourea and X-rays, *Mutation Res.*, 122, 123-128.
- Sankaranarayan, K. and F.H. Sobel, 1976, Radiation Genetics, In; The genetics and biology of *Drosophila* (M. Ashburner and E. Novitski, editors), Academic Press, 1c, pp. 1089-1101.
- Searle, A.G., 1982, Germ-cell sensitivity in the mouse: A comparison of radiation and chemical mutagens, In: Environmental mutagens and carcinogens (T. Sugimura et al., editors), Alan R. Liss Inc., pp. 167-177.
- Smith, P.D., R.L. Dusenbery, S.F. Cooper and C.F. Baumen, 1982, Examining the mechanism of mutagenesis in DNA repair-deficient strain of *Drosophila melanogaster*, In; Environmental mutagens and carcinogens (T. Sugimura et al., editors), Alan R. Liss Inc., pp. 147-155.
- Vogel, E. and A.T. Natarajan, 1979, The relation between reaction kinetics and mutagenic actions of mono-functional alkylation agents in higher eukaryotic systems, *Mutation Res.*, 62, 51-100.
- Vogel, E., W.G.H. Blieven, M.J.H. Kortsehus and J. Azijlstra, 1982, A search for some common characteristics of the effects of chemical mutagens in *Drosophila*, *Mutation Res.*, 92, 69-87.