

Drosophila melanogaster complex내의 유전적 유연관계에 관한 연구

최영현 · 이원호[†]

부산대학교 자연과학대학 생물학과

Genetic Relationship within the *melanogaster* Complex of the Genus *Drosophila*

Yung-Hyun Choi and Won-Ho Lee

Department of biology, College of Natural Sciences, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Abstract

Four species belonging to the *Drosophila melanogaster* complex were examined genetically and morphologically to analyze interspecific relationships. Insemination rates ranged from 96% to 99% within species crosses, but interspecific crosses among the four species exhibited a great variations in the frequency of successful matings. *D. melanogaster* females mated relatively well with males of other species and *D. sechellia* males were more successful in mating with females of other species. In the crosses among *D. simulans*, *D. mauritiana* and *D. sechellia*, hybrid flies were fertile in females, but sterile in males regardless of reciprocal matings. The phenogenetically relationship between this complex and their hybrids were investigated by the comparison of sex comb tooth number and genital arch of male. They were controlled by polygenic factors on the chromosome of both parents. The effects of temperature on viability of hybrids between *D. melanogaster* females and *D. simulans* males were investigated for detection of genes concerning the speciation. The temperature sensitivity of the hybrid was mainly controlled by genes located on the X chromosome of *D. simulans* males.

Key words : *D. melanogaster* complex, insemination rate, interspecific cross

서 론

Genus *Drosophila*에는 여러 방향으로 분화해온 많은 종들이 있고, 이들의 분포, 서식지역도 다양하여, 유전학 연구의 좋은 재료로 사용되어져 오고 있으며 특히 이들을 재료로 한 유전적 유연관계 해석을 통한 종의 분화 기구 해

명이 다각도로 진행되고 있다. 그 중에서도 Lemunier 등 [12]은 *Drosophila melanogaster* subgroup에 속하는 8종들에 대한 분류학적 수준과 염색체 및 생태학적 측면에서의 여러 특징을 조사하였다. 그들은 이 subgroup내의 8종들을 *D. melanogaster* complex와 *D. yakuba* complex의 2 complex로 구분하였고, *D. melanogaster* complex에는 *D. melanogaster*,

[†] Corresponding author

D. simulans, *D. mauritiana* 및 *D. sechellia*가 있고, *D. yakuba* complex에는 *D. yakuba*, *D. teissieri*, *D. erecta* 및 *D. orena*가 속하는 것으로 규정하였다. 이들 중 특히 여러 유연관계가 근연인 것으로 알려진 *D. melanogaster* complex에 속하는 4종에 대한 진화 유전학적인 여러 연구들을 볼 수 있는데, Lachaise 등 [10]은 이들 4종을 대상으로 잡종 형성 실험을 통한 격리기구와 분기 순서를 조사하였고, 특히 전 세계 분포종으로 알려진 *D. melanogaster*와 *D. simulans*를 대상으로 이들간의 잡종 형성에 관한 유전적 변이 [21]와 이들간의 분화에 관여 할 것으로 추정되는 유전자들의 해석에 관한 여러 실험들이 계속 되어져 오고 있다. 그 외 이들의 유연관계 해석을 위한 실험들에는 생식적 격리기구의 해석 [1], 염색체의 banding pattern에 근거한 계통수 작성, 여러 종류의 enzyme 분석을 통한 유전적 거리의 추정 [2, 7], 2차원 전기 영동에 의한 단백질 수준에서의 계통수 작성 [13], 근연종들간의 정역교배에 의한 교배선호도와 그 성공률에 의한 분화 방향성 제시 [20], Jallon과 David [8]에 의한 cuticular hydrocarbon의 생화학적 조성 비교에 의한 분석, Coyne [5]에 의한 중간 잡종에 있어서 testis color 등의 비교 및 mtDNA를 비롯한 분자 수준에서의 분석을 통한 중간 진화단계 해석 [14-16] 등의 여러 접근법들을 볼 수 있다.

본 실험에서는 *D. melanogaster* complex에 속하는 4종들을 대상으로 이들간의 premating 및 postmating isolation 분석, 이 complex내 수종과 이들간의 잡종에 있어서 sex comb과 genital arch의 형태 형성 문제 등 표현형적 관계 및 이들간의 분화등 유연관계 형성에 관여하는 유전자 해석등을 통하여 이 complex에 속하는 종들에 대한 유전적 유연관계의 특징을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 *D. melanogaster* complex내의 각 종들 중 *D. melanogaster*는 Oregon-R(OR) 계통이며, *D. simulans*는 일본의 Oita 외 몇 자연집단 유래의 계통과 돌연변이체들이었고, *D. mauritiana*는 Mauritius의 Riviere Noire 계통을, *D. sechellia*는 Seychelles 제도 유래의 Ja 계통을 일본 국립 유전학 연구소로부터 분양받아 본 항온실에서 계속 유지시켜온 계통들이었다.

교배의 성공률에 의한 premating isolation 실험을 위하여는 Spieth [17]에 의한 no-choice method에 준하여 교배 실험을 실시하되 각 계통으로부터 미교배 암수를 분리 수집하여 2일동안 경과시킨 후 정상 배지가 들어있는 3×10 cm의 사육병당 10 : 10의 종내 및 종간교배를 10~40 반복씩 실시하였다. 종간 교배의 잡종 형성에 의한 postmating isolation 실험에서는 1일령 암 5개체와 4일령 수 7개체를 1 사육병에 넣어 3일 간격으로 transfer하고, 각 교배당 10반복을 동시에 실시하여 잡종형성 여부를 조사하였다. 형태 형성 관련 실험에서는 잡종 형성이 가능한 조합으로부터의 수컷을 대상으로 sex comb의 치열수와 외부 생식기 각 부속기관의 특징을 부모 계통들과 표현형적으로 비교하였다.

온도 감수성 조절 유전자와 같은 분화 관련 유전자의 소재 분석을 위한 종간 교배는 25°C와 18°C의 두 조건하에서 실시하였으며 그 외의 모든 실험은 25°C, 항온 조건하에서 corn-meal agar배지를 사용하여 실시하였다.

결과 및 고찰

D. melanogaster complex내의 종내 및 종간 insemination rate

종간의 premating isolation 기구 해석의 목적으로 Spieth [17]의 no-choice method에 의하여 교배를 실시하고 교배 2일 경과 후 모든 암개체를 해부하여 저장낭 및 수정낭내의 정자 유무를 확인하여 insemination rate를 조사한 결과는 Table 1과 같았다.

Table 1에서 볼 수 있는 바와 같이 4종을 대상으로한 각 종내교배의 insemination rate는 약 96~99%의 높은 교배 성공률을 보여 이들 complex에 있어서는 2일간의 교배 기간이 적합함을 암시하고 있다고 보겠다. 이들 complex내의 종간 교배에 의한 교배 성공률은 심한 변이를 나타내고 있으며 특히 정역 교배간의 극심한 성공률 변이는 종간 교배의 특징을 잘 반영하고 있다고 볼 수 있다. *D. melanogaster* 암컷의 경우는 *sechellia* 수컷과의 교배에서 약 95% 정도의 높은 성공률을 나타내고 있으며 *simulans* 및 *mauritiana*와의 경우에는 약 40% 정도로 두 종에서 거의 유사한 비율을 나타내었다. *D. simulans* 암컷의 경우에는 *mauritiana*와 *sechellia*에서 약 90% 이상의 높은 성공률을 보여 이들간의 premating isolation장벽이 약하며 분화상의 유연관계가 비교적 근연임을 잘 나타내고 있다고 보겠다.

Table 1. Percent of successful matings between the four species of the *D. melanogaster* complex

Females \ Males	<i>melanogaster</i>	<i>simulans</i>	<i>mauritiana</i>	<i>sechellia</i>
<i>melanogaster</i>	98 (96)	39.6 (250)	38 (109)	95.2 (105)
<i>simulans</i>	2.5 (335)	99 (200)	99 (190)	90.1 (101)
<i>mauritiana</i>	0 (104)	1 (203)	96 (100)	26 (100)
<i>sechellia</i>	4.3 (300)	0 (266)	0 (209)	98 (106)

Number in parenthesis are females dissected.

다. *D. melanogaster*와 *sechellia*, *simulans*와 *mauritiana* 및 *simulans*와 *sechellia* 간의 중간 교배에서는 정역교배간 성공률이 극도로 심한 변이를 나타내고 있는데 이러한 정역교배간의 성공률 특징에 착안하여 Watanabe와 Kawanishi [20]는 이들에 대한 분화의 방향성을 제시한 바 있다.

본 complex내에서 *D. melanogaster* 암컷은 타 종 수컷과의 교배에서 전반적 성공률이 높으며 *sechellia* 수컷의 경우에는 타 암컷과의 교배 성공률이 비교적 높게 나타남은 이들 종들의 분화 순서와 유연관계를 결정할 수 있는 좋은 실험적 재료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

Postmating isolation 분석을 위한 중간 잡종 형성

D. melanogaster complex내의 4종에 대하여 교배와 정역교배를 실시하여 3일 간격으로 transfer 한 후의 잡종 형성 여부를 조사하고 잡종이 형성된 교배 조합의 경우, 각 잡종 암수별로 그 부모 계통과의 역교배를 통하여 유충의 출현 여부에 따라 그 잡종의 임성 여부를 확인하였다. Table 2는 교배와 정역교배에 의한 중간 잡종의 성별 형성 여부와 그들의 임성을 조사한 결과이다.

Table 2에서 볼 수 있는 바와 같이 총 12 조합의 중간

교배 중에서 잡종 암수가 동시에 형성, 출현되는 경우는 *D. simulans*, *mauritiana* 및 *sechellia*의 3종간의 교배 결과이고 잡종 암컷만 출현되고 수컷이 치사되는 경우는 *melanogaster*를 암컷으로 사용하고 나머지 3종을 수컷으로 사용한 교배 조합이었다. 이와는 반대로 잡종 수컷만 출현되고 암컷이 치사되는 교배 조합은 *melanogaster*를 수컷으로 선택하고 그 외 3종을 암컷으로 사용한 교배의 경우에서였다.

교배 조합중의 *mauritiana* 암컷과 *melanogaster* 수컷의 경우, premating isolation 기구를 조사하기 위한 앞의 insemination test에서는 정해진 일정기간 동안의 수정은 확인할 수 없었으나 본 잡종 교배 실험에서는 잡종의 수컷이 출현하고 *sechellia* 암컷과 *simulans* 및 *mauritiana* 수컷의 경우에서도 단기간내의 insemination은 확인되지 않았으나 잡종형성 실험에서는 잡종 암수가 출현하고 있었는데, 이런 결과는 일령과 개체수와 같은 교배조건과 시기 등과 관련된 premating isolation 기작과 본 실험에서의 postmating isolation 기작과는 각각 다른 유전적 요인에 의해 조절되고 있음을 알 수 있었다.

D. simulans, *mauritiana* 및 *sechellia* 3종간의 교배 조합으로부터 형성되는 잡종 암수의 임성 검사에 있어서 잡종

Table 2. Interspecific crosses between the four species of *D. melanogaster* complex

Females \ Males	<i>melanogaster</i>	<i>simulans</i>	<i>mauritiana</i>	<i>sechellia</i>
<i>melanogaster</i>	.	Female, Sterile Male, Lethal	Female, Sterile Male, Lethal	Female, Sterile Male, Lethal
<i>simulans</i>	Female, Lethal Male, Sterile	.	Female, Fertile Male, Sterile	Female, Fertile Male, Sterile
<i>mauritiana</i>	Female, Lethal Male, Sterile	Female, Fertile Male, Sterile	.	Female, Fertile Male, Sterile
<i>sechellia</i>	Female, Lethal Male, Sterile	Female, Fertile Male, Sterile	Female, Fertile Male, Sterile	.

수컷은 완전 불임이었으나 잡종 암컷의 경우에는 어느 조합의 교배에서도 임성이 완전함을 알 수 있었다. *D. melanogaster*를 암컷으로 한 교배 조합에서의 잡종 암컷은 모두 불임이었으며 *melanogaster*를 수컷으로 사용한 교배에서는 출현되는 수컷 모두가 완전 불임임을 확인 할 수 있었다. 이러한 결과는 분화과정 중에서 종간의 잡종 형성이 적용되는 Haldane's rule이 본 교배 결과에서 실험적으로 잘 증명된 결과라고 보겠다.

D. melanogaster 암컷과 *simulans* 수컷의 경우, 전기한 일반적인 잡종 출현 경향 이외에 예외적으로 *simulans*의 특이 계통(예 K18 strain)을 사용할 경우 치사 될 수컷 개체를 구제하는 유전자 *Lhr*를 가져 암수 잡종 모두를 출현하게 하는 Watanabe¹⁶⁾의 실험 결과를 볼 수 있으며 이러한 유전자들의 종분화 관련성연구도 진행중에 있다.

이상의 교배 실험 결과에서 본 complex내의 4종은 타 complex에 비하여 서로 유연관계가 비교적 가까우며 특히 *simulans*, *mauritiana* 및 *sechellia*는 그 유전적 유연관계가 더욱 근연인 것으로 보여진다. 이는 2 DE 분석에 의한 체내 단백질 비교에 따라 작성된 생화학적 계통수라도 잘 일치되는 결과라고 하겠다.

D. melanogaster complex 내의 4종 및 그들간 잡종에 대한 표현형적 유연관계

종간 잡종의 형태 형성에 관한 유연관계를 조사하기 위하여 각 교배 조합에서 형성된 잡종 수컷을 대상으로 본 종들의 분류기준에 있어 중요한 지표가 되는 sex comb의 치열수를 계수하여 상호 비교하였으며 외부 생식기를 구성하는 각 부속 기관 중에서 분류상 중요 기준이 되는 3형질을 대상으로 부모 계통과 비교하여 그 유연관계를 조사하였다. sex comb의 유전 양식 해석을 위한 연구로서는 종간 교배를 통한 잡종에 있어서의 그 형태와 치열수 변이를 부모계통과 비교하여 형태 형성 관여 유전자의 종류와 염색체상의 위치를 조사하는 방법들이 있어왔다. Table 3은 이들 4종 및 그들간 종간 잡종 수컷들에 있어서의 치열수의 변이를 나타낸 것이다.

Table 3에서 볼 수 있는 바와 같이 sex comb을 구성하는 치열의 수는 지역 계통간에 다소의 변이는 있으나 Coyne [5]의 보고에 의하면 *D. melanogaster*의 경우 평균 10.5개 정도로 조사되어 있는데, 본 실험에서의 OR계통의

Table 3. Number of male sex comb tooth in *D. melanogaster* complex and their interspecific hybrids

Species	No. of males	Mean tooth no±SD
<i>melanogaster</i>	75	10.73±0.90
<i>simulans</i>	165	9.09±0.44
<i>mauritiana</i>	100	12.90±0.08
<i>sechellia</i>	70	10.69±0.91
<i>sim/mel</i> hybrid	70	9.97±0.94
<i>sim/sech</i> hybrid	60	11.28±0.99
<i>sech/mel</i> hybrid	57	11.02±0.89
<i>sech/sim</i> hybrid	44	10.05±1.24
<i>sim/mau</i> hybrid	100	11.79±0.09

경우 약 10.73개로서 선행 보고들과 거의 유사하였다. *D. simulans*의 경우 Kim 등 [9]과 Choi 등 [3]의 보고에서 지역 계통에 따라 9.25~9.94개 정도의 범위로 보고되어 있으나 본 계통의 경우 약 9.09정도 였고, *sechellia*의 경우는 *melanogaster*와 유사한 10.69개 정도였다. 선행 연구 결과 *mauritiana*의 경우는 본 complex 내에서는 가장 많은 12.75~14.64 정도 였으나 [3, 5] 본 실험 결과에서는 약 12.90 정도였고, 본 재료 계통들 중에서도 가장 많은 치열수를 나타내었다.

종간 교배에 의한 잡종 수컷에 있어서는 Table 3에서와 같이 *simulans*를 모계로, *melanogaster*와 *sechellia*를 부계로 한 경우는 각각 9.97과 11.28 정도였고, *sechellia*를 모계로 그리고 *melanogaster*와 *simulans*를 부계로 한 경우에는 각각 11.02와 10.05 정도였으며 *simulans*를 모계로 *mauritiana*를 부계로 실시한 경우는 약 11.79 정도로서 뚜렷한 경향성을 결정하기는 곤란하며 이들과 같은 양적 형질은 Coyne [5] 및 Choi 등 [3]의 결과에서와 같이 X염색체의 경우보다는 상 염색체의 영향이 더 크게 작용함을 알 수 있었고, Coyne [5] 그리고 Coyne과 Kreitman [6]의 연구에서와 같이 제 2, 3 염색체를 포함한 5개 이상의 유전자가 관여할 것이라는 보고에서와 같이 polygene적 영향이 있음을 알 수 있었다.

다음으로 역시 종 분류상 주요 기준 중의 하나인 외부 생식기를 구성하는 부속기관들에 대한 부모계통과 잡종에서의 유사성을 조사하였는데 이 complex내의 외부생식기에서 가장 큰 차이는 생식공을 구성하는 posterial lobe의 형태로서 *D. melanogaster*의 경우는 부등사변형에 유사하였

고, *simulans*는 반월형, *mauritaniana*는 막대형 그리고 *sechellia*는 두껍고 긴 막대형의 형태를 나타내고 있다. Table 4는 중간 잡종 수컷에 대한 genital disc의 유사성을 나타낸 것이다.

Posterial lobe의 경우 *simulans*, *melanogaster* 및 *sechellia* 간의 교배 조합에서는 *simulans*의 형태와 유사하여 Coyne 과 Kreitman [6]의 결과와 거의 일치하였고 lateral plate의 경우는 부계성의 유형을 나타내었고, anal plate와 clasper에서는 부계성 또는 중간 표현형을 나타내는 경우들을 볼 수 있었다.

이런 결과들은 전반적으로 Tsacas [18]등과 Coyne [4]의 실험결과와도 유사하여 여러 유전자 관련 형질임을 조사할 수 있었다. 이들 형질들 또한 중간 유연관계 해석의 자료로 활용가능함을 시사하고 있다고 보겠다.

*D. melanogaster*와 *simulans*간 잡종의 온도 감수적 생존력

D. melanogaster complex 내의 *melanogaster*와 *simulans*간의 잡종 형성률의 유전적 변이를 조사한 Watanabe 등 [21]의 실험에서 *simulans*의 계통에 따라 형성된 중간잡종 암컷이 25℃의 정상 온도에서 거의 치사되는 온도 감수적 조합에서부터 생존력이 완전한 계통까지의 생존력에 대한 변이를 나타내고 있음이 조사되었다.

여기서는 이러한 온도 감수적 생존력을 지배하는 요인의 소재를 조사하기 위하여 예비 실험에서 형성시킨 여러 sublines 중에서 온도 감수적 잡종을 생산하는 계통으로서는 Fukuoka 유래의 F9 계통과 Naze 유래의 N13 계통을 사용하였고, 저항성 잡종을 생산하는 계통은 Oita 유래의 O9 계통을 사용하였다. *melanogaster* 암컷은 OR 계통으로

고정해두고 1일령의 OR과 3일령의 *simulans* 각 계통을 5 : 5 비율로 8반복씩 교배시켜 3일 간격으로 transfer 하면서 4반복씩으로 나누어 각각 25℃와 18℃ 조건에서 발생시켜 우화되는 성체수를 계수하고 25℃/18℃의 비교치로서 감수성 정도를 분석하였다. 예비 실험을 통하여 *simulans* O9과의 조합 결과에서는 1.0정도의 비교치를 보여 저항성 계통임이 확인되었고, F9과 N13과의 조합에서는 18℃에서는 모든 잡종이 우화 생존하였으나 25℃에서는 거의 모두 치사되어 그 비교치가 0에 가까운 감수성 계통임이 확인되었다. 또한 두 온도 조건을 이용한 감수성과 저항성 발현 시기 분석을 위한 온도 shift 실험에서는 3령기 유충 시기를 지나 pupation 시기가 그 감응시점인 점도 조사할 수 있었다.

여기에서 잡종의 온도 감수성을 조절하는 주 요인이 존재하는 염색체 확인을 위하여 *simulans*의 3 sublines을 대상으로 하는 정역교배를 실시하여 heterozygous *simulans* male(O9/F9, O9/N13, N13/O9 및 F9/O9)을 형성시켜 OR 암컷과의 교배를 거쳐 출현 잡종의 평균 개체수와 25℃/18℃의 비율을 조사하여 그 결과를 Table 5에 정리하였다.

Table 5에서와 같이 25℃/18℃ 비율의 결과를 비교하여 보면 O9계통의 X 염색체를 사용한 O9/N13과 O9/F9 hetero male과의 교배에서는 각각 0.84와 0.92의 비율로서 뚜렷한 온도 저항성 경향을 보인 반면 N13이나 F9을 X 염색체로 사용한 N13/O9과 F9/O9 male과의 경우는 각각 0.17과 0.25정도로서 온도 감수적 생존도 비율을 나타내었다. 이러한 결과들은 잡종의 온도 감수성에 관여하는 유전자는 *simulans*의 X염색체와 유관하다는 것을 강하게 시사하고 있다고 보겠다.

이와 같이 정상온도보다 다소 저온 상태에 있어서는 모

Table 4. Similarity of male genital disc between interspecific hybrids and species of the *D. melanogaster* complex

Characters	<i>sim/mel</i>	<i>sim/sech</i>	<i>sech/mel</i>	<i>sech/sim</i>
Genital arch				
Posterial lobe	sim	sim	inter	sim
Lateral plate	mel	sim	mel	sim
Anal plate	mel	inter	mel	inter
Clasper	mel	inter	inter	inter

*intermediate

Table 5. Average numbers of hybrids from the cross, 2 OR ♀ × 4 heterozygous *simulans* ♂, at two temperatures and the ratios, 25℃/18℃

Heterozygous <i>simulans</i> (X/Y)	25℃	18℃	25℃/18℃
O9/N13	142.7	170.1	0.84
O9/F9	114.4	124.0	0.92
N13/O9	16.7	97.5	0.17
F9/O9	33.5	132.3	0.25

든 잡종이 생존하나 정상온도에 있어서 저항성과 감수성이 나타나게 됨은 이들 두 종간의 분화과정에서 격리의 장벽을 높여 잡종생산을 억제하려는 분화관련 유전자의 한 종류로 간주할 수 있을 것이며 이들 두 종간 잡종에서 K18 line의 경우에서처럼 치사될 잡종 수컷을 구제할 수 있는 유전자의 발견 [19]과 함께 종 분화 관련 유전자의 탐색과 Haldane의 원리에 준한 분화 방향성 제시에도 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

Genus *Drosophila*에서 *melanogaster* complex내의 4종에 대한 유연관계 해석을 위하여, insemination test에 의한 premating isolation, 잡종형성 여부에 의한 postmating isolation, 형태 형성에 관한 영향 및 종 분화 관련 유전자의 특징 등을 대상으로 조사하였다. 종내 교배에서는 insemination rate는 96~99% 정도였고 종간 교배에서는 정액 교배간에 심한 변이를 보였으며 *D. melanogaster* 암컷은 타종 수컷과의 교배에서 전반적 성공률이 높으며 *D. sechellia* 수컷은 타종 암컷과의 교배에서 비교적 높은 교배 성공률을 보였다. 종간 잡종 형성에서는 특히 *simulans*, *mauritiana* 및 *sechellia* 사이에서 임성이 완전한 암컷과 불임의 수컷이 형성되어 이들 3종이 더욱 근연임을 시사하고 있다. sex comb과 genital arch에 대한 잡종의 형태 형성에 관한 영향은 대부분이 polygene에 의하여 조절되고 있음을 알 수 있었다. *D. melanogaster*와 *simulans*에 있어서 분화 관련 유전자로 추정되는 잡종의 온도 감수적 생존도는 주로 *simulans*의 X 염색체상의 유전자에 의하여 조절되고 있음이 분석되었다.

감사의 글

본 연구는 부산대학교 기성회 재원 학술 연구 조성비에 의한 연구임.

참 고 문 헌

1. Barker, J. S. F. 1967. Factors affecting sexual isolation between *Drosophila melanogaster* and *Drosophila sim-*

ulans. *Amer. Natur.* **101**, 277.

2. Cariou, M. L. 1987. Biochemical phylogeny of the eight species in the *Drosophila melanogaster* subgroup, including *D. sechellia* and *D. orena*. *Genet. Res.* **50**, 181.

3. Choi, Y. H., Kwon, Y. W., Yoo, M. A. and Lee, W. H. 1994. Comparative studies on sex comb variation in the *Drosophila* species. *Korean J. Appl. Entomol.* **33**, 216.

4. Coyne, J. A. 1983. Genetic basis of differences in genital morphology among three sibling species of *Drosophila*. *Evolution* **37**, 1101.

5. Coyne J. A. 1985. Genetic studies of three sibling species of *Drosophila* with relationship to theories of speciation. *Genet. Res.* **46**, 169.

6. Coyne, J. A. and Kreitman, M. 1986. Evolutionary genetics of two sibling species, *Drosophila simulans* and *D. sechellia*. *Evolution* **40**, 673.

7. Eisses, K. T., Van Dijk, H. and Van Delden, W. 1979. Genetic differentiation within the *melanogaster* species group of the genus *Drosophila* (Sophophora). *Evolution* **33**, 1063.

8. Jallon, J. M. and David, J. R. 1987. Variation in cuticular hydrocarbons among the eight species of the *Drosophila melanogaster* subgroup. *Evolution* **41**, 294.

9. Kim, N. W., Lee, T. J. and Hong, K. J. 1992. A systematic study on the eight species of the *Drosophila melanogaster* species group by taxometric analysis. *Korean J. Entomol.* **22**, 13.

10. Lachaise, D., David, J. R., Lemeunier, F., Tscacas, L. and Ashburner, M. 1986. The reproductive relationships of *Drosophila sechellia* with *D. mauritiana*, *D. simulans*, and *D. melanogaster* from the Afrotropical region. *Evolution* **40**, 262.

11. Lemeunier, F. and Ashburner, M. 1976. Relationships within the *melanogaster* species subgroup of the genus *Drosophila* (Sophophora). II. Phylogenetic relationships between six species based upon polytene chromosome banding sequences. *Proc. R. Soc. London B.* **193**, 275.

12. Lemeunier, F., David, J.R., Tsacas, L. and Ashburner, M. 1986. *The genetics and biology of Drosophila*, vol. 3e, pp. 147-256, Academic press, London.

13. Ohnishi, S., Kawanishi, M. and Watanabe, T. K. 1983. Biochemical phylogenies of *Drosophila*: protein differences detected by two-dimensional electrophoresis. *Genetica* **61**, 55.

14. Polan, M.L., Friedman, S., Gall, J.G. and Gehring, W. 1973. Isolation and characterization of mitochondrial DNA from *Drosophila melanogaster*. *J. Cell Biol.* **56**, 580.
15. Shah, D. M. and Langley, C. H. 1979. Inter- and intraspecific variation in restriction maps of *Drosophila* mtDNAs. *Nature* **281**, 696.
16. Solignac, M. and Monnerot, M. 1986. Race formation, speciation, and introgression, within *Drosophila simulans*, *D. mauritiana*, and *D. sechellia* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Evolution* **40**, 531.
17. Spieth, H. T. 1986. Evolutionary implications of sexual behavior in *Drosophila*. *Evol. Biol.* **2**, 157.
18. Tsacas, L., Bocquet, C. H., Daguzan, M. and Mercier, A. 1971. Comparason des genitalia males de *Drosophila melanogaster*, de *Drosophila simulans* et de leurs hybrides [Dipt. Drosophilidae]. *Ann. Soc. Ent. Fr.* **7**, 75.
19. Watanabe, T. K. 1979. A gene that rescues the lethal hybrids between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Japan. J. Genetics* **54**, 325.
20. Watanabe, T. K. and Kawanishi, M. 1979. Mating preference and the direction of evolution in *Drosophila*. *Science* **205**, 906.
21. Watanabe, T. K., Lee, W. H., Inoue, Y. and Kawanishi, M. 1977. Genetic variation of the hybrid crossability between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Japan. J. Genetics* **52**, 1.