

제주재래마의 핵형분석; G-, C- 및 NOR-banding

박진식* · 조병욱** · 손시환*

진주산업대학교 동물생명과학과*, 부산대학교 동물생명자원학과**

Karyotype of Jeju Horse; G-, C- and NOR-banding

Jin Sik Park*, Byung Wook Cho** and Sea Hwan Sohn*

Department of Animal Science & Biotechnology, Jinju National University*,

Department of Animal Science, Pusan National University**

ABSTRACT

This study was carried out to establish the standard karyotype of Jeju horse by G-, C- and AgNOR-banding patterns. Blood samples were collected from 37 Jeju horses and 24 Thoroughbred that had been raised at the National Institute of Subtropical Agriculture in Jeju. The lymphocytes were cultured *in vitro* and then chromosomes prepared. The diploid chromosome number of Jeju horse is 64, which consists of 31 pairs of autosomes and X, Y sex chromosomes. The Jeju horse has 13 pairs of metacentric/submetacentric and 18 pairs of acrocentric autosomes. The X chromosome is the fifth largest submetacentric, while the Y chromosome is one of the smallest acrocentric chromosomes. The G-banding pattern of Jeju horse chromosomes showed a light band at centromeres in all autosomes, and also exhibited a typical and identical banding pattern in each homologous chromosome. Overall chromosomal morphology and positions of typical landmarks of the Jeju horse were virtually identical to those of International Committee for the Standardization of the Domestic Horse Karyotype. C-bands of Jeju horse chromosomes appeared on centromeres of almost all autosomes, but chromosome 8 showed a heterochromatin heteromorphism. The NORs in Jeju horse chromosomes showed polymorphic patterns within breed, individuals and cells. By the AgNOR staining, the NORs were located at the terminal of p-arm on chromosome 1 and near centromeres on the chromosome 26 and 31. The mean number of NORs per metaphase was 4.68 in Jeju horse.

(Key words : Jeju horse, G-banding, C-banding, AgNORs, Karyotype)

I. 서 론

제주의 기후와 풍토에 적응하면서 자라온 우리나라 재래종인 제주재래마는 본래 조랑말(pony)의 일종으로 과하마(果下馬), 제주마 또는 토종마(土種馬)라 불리었으며 1200년대 후반부터 1300년대에 걸쳐 제주도에 유입된 몽고마와 부분적으로 혼혈이 이루어져 형성된 품종으로 추정된다. 제주재래마는 경제성장과 더불어 농기계의 보급 확대로 사육두수가 급격히 감소되면서 한 때 멸종위기에까지 처한바 있는데 제주재래마의 순수 혈통을 보존하여야 한다는 공통적인 인식하에 제주재래마의 일제 실태 조사를 실시하고, 그 결과 학술적으로 순수하다고 판단되는 제주재래마 가운데 64두를 선발하여 1986년 천연기념물 제347호로 지정하였다. 제주재래마의 보호·육성 및 농가 소득 증대를 목적으로 1990년 제주 경마장이 개설되어 경마를 실시하면서 제주재래마의 수요가 늘어 현재는 수적으로 많이 증가된 상태이다(손 등, 2006).

최근 제주재래마의 사회적 관심의 증대나 유전자원으로서의 보존가치 등을 고려할 때 이들에 대한 학술적 연구는 상대적으로 매우 미흡한 실정이다. 지금까지 보고된 제주재래마에 대한 표현형적 연구로 제주재래마는 외래마와 교잡 정도에 따라 5등급으로 구분하고, 모색은 32종류로 분류하였으며, 체형은 지역별 또는 혈통등급에 따라 차이를 보인다고 하였다(Lee, 1961; 정 등, 1991; Yang 등, 1991, 1996). 혈통확인을 위한 연구에서 개체 간에 심한 혈액단백 다형성을 나타낸다고 하였고(Oh 등, 1992; Kim 과 Oh, 1995; Shin 등, 1999; 김 등, 2002), 제주재래마와 타 품종과의 혈연관계에 대한 연구에서는 mtDNA D-loop을 이용하여 현존하는 제주재래마의 모계 조상은 몽고마와 유사한 개체는 물론 Arabian 품종을 포함한 17개 품종의 모계조상과도 연계된 것으로 보고하고 있다(Kim 등, 1999). 또한 제주재래마의 개체식별 방법으로 genomic DNA의 microsatellite 좌위분석을 이용하여 제주재래마와 제주산마, 더버랫종은 일부 좌위에서 차이가 있는 것으로

Corresponding author : Sea Hwan Sohn, Department of Animal Science & Biotechnology, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea. Tel: +82-55-751-3264, E-mail: shsohn@jinju.ac.kr

확인한 바도 있다(임, 2002). 그럼에도 불구하고 품종의 가장 기본적인 유전 표지라 할 수 있는 제주재래마의 표준 핵형이 아직 설정되어 있지 않은 상태로 국제적으로 품종 등록이나 국가 유전자원의 학술적 기초 자료를 위하여 시급히 제시되어야 할 과제이다. 말의 핵형 연구는 1912년 Kirillow가 최초로 숫말의 염색체가 20~34개임을 제시한 이래 (Power, 1990) Makino (1942)가 66개로 수정 보고하였고, 1959년에 와서야 말의 핵형이 $2n=64$ 로 확립되었다 (Rothfels 등, 1958; Benirschke 등, 1962; Trujillo 등, 1962). 이 후 세포유전학적 기술이 개발되면서 여러 가지 banding 법이 소개되고 이에 따른 각 종(種)의 핵형이 명확하게 정립되면서 축종 별 국제표준핵형 명명법이 제시되었다 (Ford 등, 1980). 말에 대한 국제표준핵형 명명체계도 세 차례에 걸쳐 이루어진 바 2차 회합이 1989년 Paris에서 개최되었고 (Richer 등, 1990), 말의 G-, R-분염 핵형 (G-, R-banded karyotype)을 기초로 1996년 3차 회합에서 지금의 표준핵형이 설정되었다 (Bowling 등, 1997).

제주재래마가 국제적 품종 등록을 인증 받기 위해서는 우선 제주재래마의 표준핵형이 제시되어야 하고, 국제 표준핵형과의 비교분석이 이루어져야 한다. 따라서 본 연구에서는 제주재래마에 대한 종(種)의 기본적인 유전 표지 구명을 위해 염색체의 G-, C-, NOR-Banding 분석을 통해 이의 표준 핵형을 제시하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시축

본 시험은 제주도 축산진흥원에서 사육중인 천연기념물 지정 제주재래마를 대상으로 암수 37두와 대조축으로 더브렛종 24두의 개체 별 혈액으로 핵형분석을 수행하였다.

2. 혈액 배양을 이용한 염색체 분리

말의 혈액 배양을 이용한 염색체 분리는 손과 정 (1994)이 제시한 포유동물의 백혈구 배양법으로부터 염색체 분리 방법을 다소 변형시켜 다음과 같이 수행 하였다. Heparinized vacuum tube를 이용하여 각 개체의 경 정맥으로부터 10ml 정도의 혈액을 채취하여 배양액 10ml당 0.5ml의 전 혈액을 이용하여 배양하였다. 배양액은 RPMI 1640을 기본 배양액으로 하여 10% fetal bovine serum, 2% penicillin-streptomycin, 2% PHA mitogen (이상 Gibco, Invitrogen Corp, Grand Island, NY, USA)을 첨가하고, 37.5 °C, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 배양하였다. 중기상의 유도를 위하여 배양종료 50분전에 colcemid 0.1 µg/ml (Gibco)을 처리하였다. 세포 수확 후 저장처리는 0.06M KCl

(Sigma Chem, St Louis, MO, USA)로서 15분간 처리하고, 고정처리는 methanol과 acetic acid를 3:1로 혼합한 Carnoy's 액으로 3회 반복 실시한 후 표본액을 준비하였다. 표본 제작은 냉장 보관된 차가운 slide glass에 표본액 4~6방울을 떨어뜨려 도말하고 곧바로 60°C의 가온판에서 건조시켰다.

3. GTG-banding

G-banding은 하루 정도 가온판에서 건조된 표본을 이용하였다. 준비된 표본을 0.05% trypsin (Gibco)에 15초 정도 담근 후 Ca 이온과 Mg 이온이 없는 차가운 D-PBS (Gibco)로 행구어 내고, 10% Leishman (Sigma) 염색액에 5분간 염색하고 검경하였다.

4. C-banding

C-banding은 2일정도 건조시킨 표본을 0.2N HCl에 50분간 담근 후 초순수액으로 3회 이상 행구어 내었다. 이후 42°C의 1% Ba(OH)₂에 1분간 담근 후 0.05N HCl에 2회 정도 행구어 중화시키고, 초순수로서 3회 이상 씻어낸 다음 60°C의 2×SSC (0.3M Sodium chloride + 0.03M Sodium citrate) 용액에 1시간 동안 정치시켰다. 염색은 10% Leishman 염색액에 10분 동안 염색하였다.

5. AgNOR banding

AgNOR 염색은 Bloom과 Goodpasture (1976)가 제시한 방법을 다소 변형하여 실시하였다. 이를 간략하게 소개하면 2일간 건조시킨 염색체 표본 위에 50% AgNO₃ (Sigma)용액을 세 방울 정도 떨어뜨린 후 cover glass를 덮고 빛이 투과되지 않는 moist chamber안에 넣은 다음, 습도 60%, 37°C 배양기에서 24시간 정치하였다. 배양이 마치면 초자수로 2회 이상 행구고 검경하는데 만약 염색이 부족할 경우 재처리 후 일정시간 다시 배양 후 검경하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 제주재래마의 핵형분석

혈액 배양법에 의한 핵형 분석 결과 제주재래마의 염색체 수는 총 64개로서 31쌍의 상염색체와 2개의 성염색체로 구성되어 있다. 상염색체는 형태적 특징에 따라 13쌍의 metacentric 또는 submetacentric 염색체와 18쌍의 acrocentric 염색체로 구성되어 있으며, X 염색체는 5번째 크기의 submetacentric이며, Y염색체는 30번째 크기의 acrocentric 형태이다 (Fig. 1~Fig. 4). 이러한 제주재래마의 핵형양상을

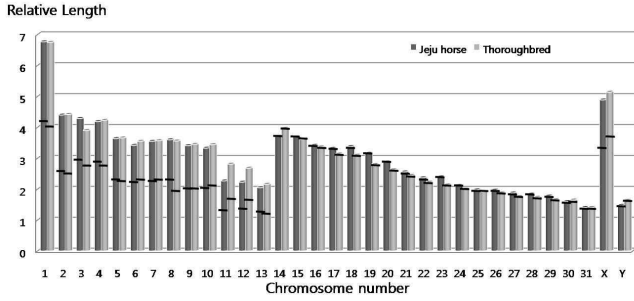


Fig. 1. Idiogram of the relative length and centromere position of the horse chromosomes; The horizontal bars indicate the centromere position.

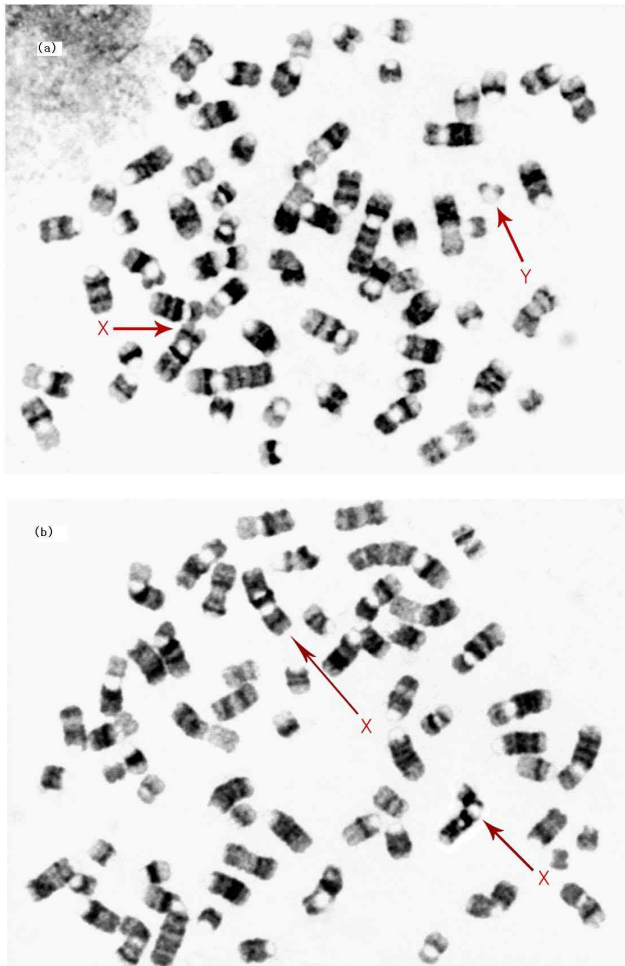


Fig. 2. G-banded metaphase spread of Jeju horse ; (a) male (2n=64, XY), (b) female (2n=64, XX).

검증하기 위하여 대조마로서 경종마인 더버렛종과 비교 검토하였다. 더버렛종의 핵형분석 결과 2n = 64로서 염색체의 수 및 형태적 양상에서 제주재래마와 거의 차이가 없었다. 염색체의 상대적 길이와 동원체 지수 (Levan 등, 1964)를 이용하여 이들 두 품종간의 차이를 비교 분석한

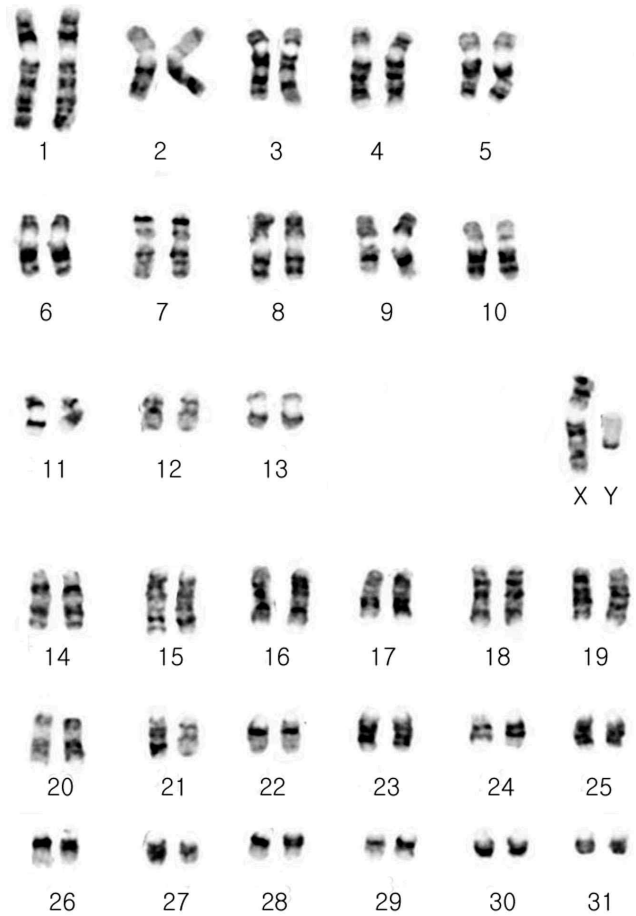


Fig. 3. G-banded karyotype of Jeju horse male.

바 Fig. 1에 나타난 바와 같이 품종 간 동원체 지수에 따른 염색체의 형태는 거의 동일하나 상대적 길이에서는 11, 12번 염색체가 더버렛종이 제주재래마보다 다소 길게 나타나는 양상을 보였다. 특정 염색체의 상대적 길이의 차이는 품종간의 유전적 조성에 의한 차이일 수도 있으나 이 보다는 개개 염색체들에 대한 측정 방법 및 분열 시점의 차이에 기인된 양상으로 사료되어 품종 간 일반 핵형의 차이는 없는 것으로 판단된다 (Power 1988).

한편, 제주재래마에 대한 핵형양상을 보다 구체적으로 제시하고 염색체의 분염 표지를 설정하기 위하여 이들의 G-banding 양상을 분석하였다. G-banding이란 염색체 표본에 단백질 분해효소를 처리함으로 각 염색체에 특이한 band가 형성되고, 이를 Giemsa 염색액으로 염색함으로써 개개 염색체에 고유한 분염상을 나타내게 하는 과정이다 (Comings, 1978; Burkholder와 Duczek, 1980; Harrison 등, 1981). 이러한 banding 양상을 이용하여 각 상동염색체의 식별을 용이하게 하고 또한 염색체의 구조적 이상과 같은 이상 양상을 판별할 수 있으며, 나아가 DNA의 개체특이성에 따라 품종에 대한 공통된 유전적 표지인자를 구명할

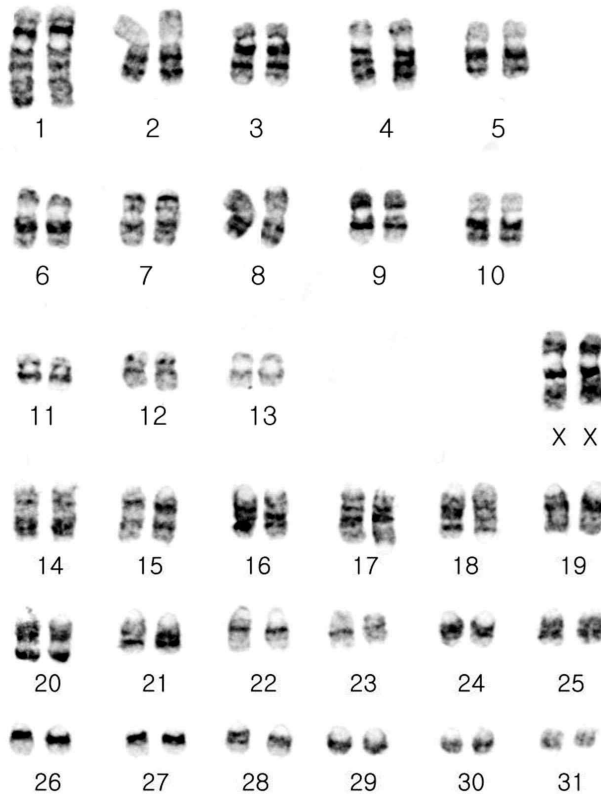


Fig. 4. G-banded karyotype of Jeju horse female.

수 있다. 제주재래마 암수개체의 증기상에 대한 G-band 양상은 Fig. 2와 같다. Fig. 3과 Fig. 4는 제주재래마의 암수 핵형으로 이는 제2차 국제 말 표준핵형위원회 (Richer 등, 1990)에서 설정한 말 핵형 분석법에 따라 나열한 것이다. 핵형의 나열은 먼저 염색체를 두 개의 group으로 나누고, metacentric 염색체는 첫 세 줄에 나열하고, acrocentric 염색체는 나머지 세 줄로 배치하였다. 제주재래마의 G-band 양상은 모든 상 염색체의 동원체 부위가 공히 light band로 나타나고, 그 이외의 부위는 상동 염색체간 동일한 고유 band 양상을 나타내었다. 제주재래마 염색체의 G-band 표지 (landmark) 양상은 제3차 국제 말 표준핵형위원회 (Bowling 등, 1997)에서 제시한 표지 양상과 거의 차이가 없는 것으로 나타났으나, 8번 염색체 동원체 (centromere) 부위의 light band가 개체에 따라 크기의 다형 양상을 보였다. 제주재래마 염색체의 G-분염표지 및 핵형 양상을 토대로 염색체 표준모식도를 작성하여 Fig. 5에 제시하였다.

2. 제주재래마의 C-banding 양상

제주재래마의 heterochromatin site 분포 양상과 종 특이적 염색체 다형성을 살펴보고자 C-banding을 시도하였고,

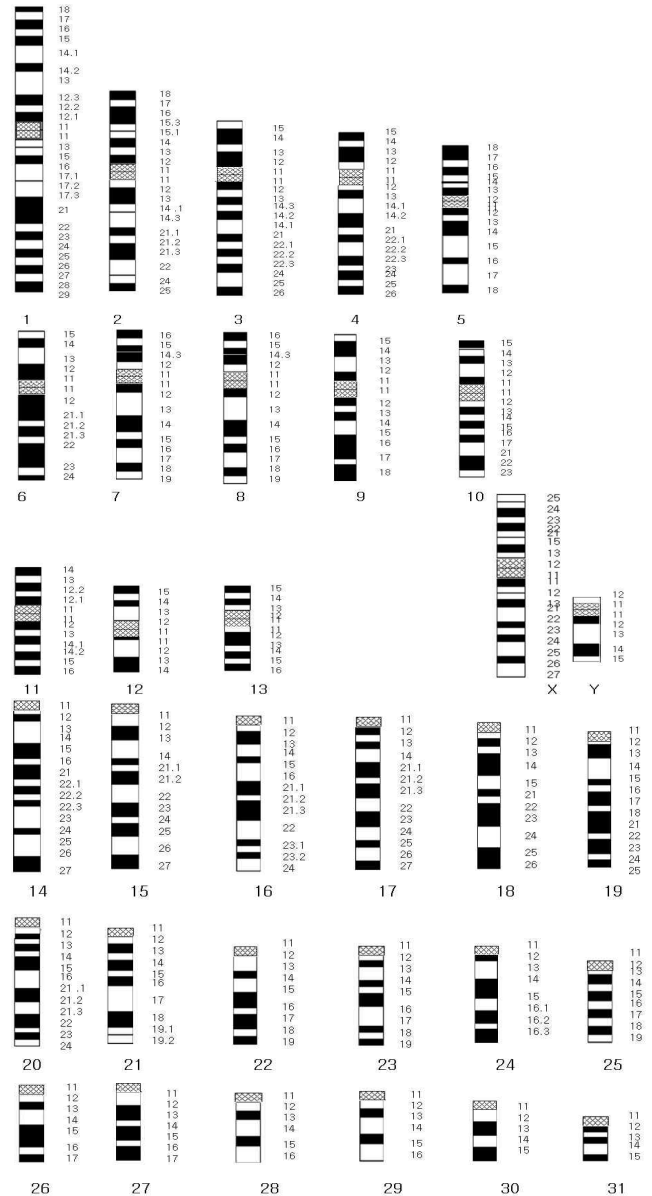


Fig. 5. Idiogrammatic representation of G-banded chromosomes of Jeju horse (2n=64, XY).

이의 양상을 Fig. 6에 제시하였다. 제주재래마의 C-banding 양상은 부분적으로 양적 다형성을 보이기는 하나 대부분 염색체의 동원체부분에서 일관된 heterochromatin 분포양상을 보이고 있다. 이러한 결과는 ISCNH에서 제시한 말의 heterochromatin 양상은 모든 염색체의 동원체 부위의 p11~q11와 X염색체 q21에서 발현양상을 나타낸다는 보고와 거의 일치되는 양상이다 (Bowling 등, 1997). 그러나 제주재래마에서 특이적으로 8번 염색체에서 명확한 heterochromatin site의 양적 다형성이 나타났는데 Fig. 7에서와 같이 상동염색체간 ++ 및 +/-의 양적 이형양상이 존재하였다. Table 1에서는 제주재래마 및 더브렛종의 개체 별



Fig. 6. Metaphase spread of C-banded chromosomes of the Jeju horse female.

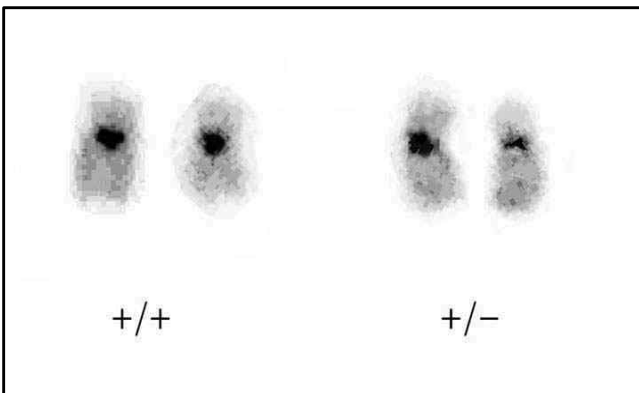


Fig. 7. C-band heteromorph pattern on Jeju horse chromosomes 8.

Table 1. The types and frequencies of C-band heteromorphism on the horse chromosomes 8

Breed	Number of horses	Number of horses on chromosome 8 with	
		+/+	+/-
Jeju horse	37(100)	18(48.6)	19(51.4)
Thoroughbred	24(100)	24(100)	0

Bracket is the percentage of the observed horse
 +, - : Increase (+) and decrease (-) in length of the heterochromatin.

8번 염색체 heterochromatin 이형양상의 발현 빈도를 분석한 것으로 제주재래마의 경우 +/- 형이 49%로 출현하였으나 더브렛종은 모든 개체에서 상동염색체 공히 +/형만을 나타내었다.

C-banding이란 염색체내 이질염색질(constitutive heterochromatin)의 분포양상을 나타내는 분석 방법이다. 이질염

색질(heterochromatin)은 세포분열과정 중 염색체상에서 지속적으로 응축된 부위로서 이를 구성하고 있는 DNA는 유전자로서의 기능이 거의 없는 것으로 알려져 있고, 고도의 반복 염기서열로 구성되어 있는 것으로 알려져 있다(Holmquist, 1979). Heterochromatin의 양적 다형성은 거의 모든 동물에서 나타나는데 사람(Craig-Holmes와 Shaw, 1971), 생쥐(Forejt, 1973), 돼지(Christensen과 Smedegard, 1978), 말(Buckland 등, 1976), 일본산 메추리(Sohn 등, 1995) 및 한국재래계(백 등, 2003) 등에서도 이러한 다형현상(polymorphism)이 보고됨에 따라 종 간 또는 개체 간 표지인자로서도 유용하게 이용될 수 있다(Comings 등, 1973: 손, 1990; 오 등, 1991). 본 연구에서 제주재래마에도 이러한 heterochromatin 양적 다형성이 발견되었고, 다형빈도를 분석한 결과 품종 간 특이성이 존재하는 것으로 나타났다. 따라서 8번 염색체의 heterochromatin 다형성은 제주재래마만의 종 특이적 유전적 지표로서 제주재래마 염색체표지로 개발 될 수 있는 marker로 사료된다.

3. 제주재래마 염색체의 NORs

AgNOR 염색법에 의한 제주재래마 염색체의 NORs 출현양상은 Fig. 8과 같다. 제주재래마의 NORs의 구체적인 분포양상을 제시하기 위하여 제주재래마 37두 및 더브렛종 24두를 대상으로 혈액배양으로부터 얻은 중기상 821개에 대하여 분석한 결과 Table 2와 같다. 제주재래마의 세포 당 평균 NORs는 4.68개이며, NORs가 1번, 26번 및 31번 염색체에 존재하며, 이들의 분포위치는 1번 염색체는 p-arm 말단부분, 26번 염색체와 31번 염색체는 동원체 부

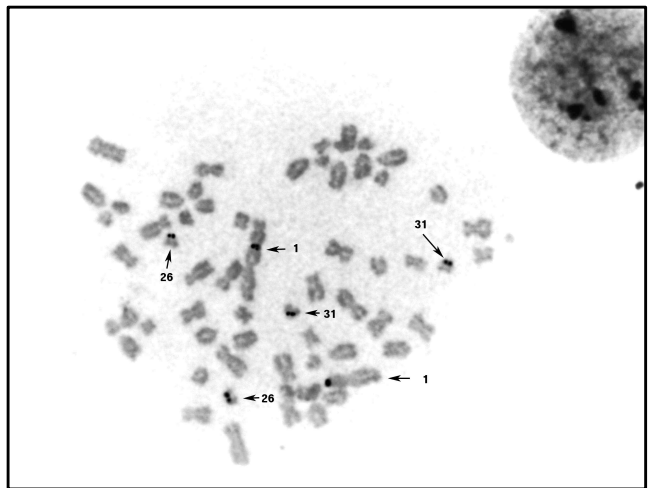


Fig. 8. AgNORs pattern on metaphase chromosomes of Jeju horse; NORs located on the p-terminals of chromosomes 1 and the centromeres of chromosomes 26 and 31.

Table 2. Number of AgNORs on chromosome 1, 26 and 31 in horse

Breed	No. of analyzed cells	Chromosome number			
		1	26	31	total
Jeju horse	450	1.87±0.03	1.38±0.08	1.41±0.08	4.68±1.47 ^b
Thoroughbred	371	1.83±0.08	0.72±0.04	0.98±0.07	3.54±1.23 ^a

Means ± standard deviation

^{ab} Means in the same column significantly differ at $p < 0.01$.

분에 나타났다. 또한 NORs의 수는 개체 간뿐만 아니라 동일 개체 내 세포 간에서도 달리 나타나고 있으며, 발현량 또한 차이가 있었다. 반면 더브렛종의 경우 평균 NORs는 3.54개로 제주재래마와 유의한 차이를 보였으나, NORs 출현 염색체는 동일하였다. 개체 별 NORs의 분포양상은 세포 당 최소 1개에서 최고 6개까지 나타나 동일 품종 내 개체들 간에도 NORs의 수적 차이가 있었다. 따라서 제주재래마의 NORs 분포 양상은 품종 간, 개체 간 및 세포 간에 수와 발현량의 다형 현상을 보이기는 하나 동일한 염색체에 NORs가 분포하고 있다. 말의 NORs의 분포 양상은 거의 모든 품종에서 유사하게 보고되고 있는데 제주재래마에서도 NORs의 품종 특이적인 양상은 나타나지 않았다 (Romagnano 등, 1987).

NORs는 핵인 형성부위로서 18s+28s rRNA 합성에 주된 역할을 하는 유전자를 함유하고 있는 곳으로 종 별 특정 염색체 부위에 존재한다. 염색체 상에 AgNOR 염색은 이전 간기 상태에서 단백질의 전사가 활성화된 NORs의 위치를 나타낼 뿐만 아니라 NORs의 활성도를 간접적으로 나타내기도 한다 (Zurita 등, 1998). 지금까지 사람을 포함한 여러 동물 종에 대한 NORs의 연구에서 품종 간, 개체 간 및 동일 개체 내 세포들 간에 NORs의 수적 다형 현상이 나타남을 보고하고 있으나 이의 분포 양상에 대해서는 연구자간에 많은 차이가 있었다 (Di Bernardino 등, 1981; Mayr and Czaker, 1981; Mayr 등, 1987, 1989). 가축의 NORs 수, 발현도 및 분포양상은 유전적 변이 분석의 중요한 부분이며 이러한 원인은 개체간 rRNA 함량의 차이 나 이들 유전자의 발현도의 차이 또는 AgNOR 염색과정 자체에 기인된 변이로 해석된다.

IV. 요약

본 연구는 제주재래마의 염색체 핵형을 제시하기 위하여 G-banding, C-banding 및 AgNORs를 분석하였다. 공식 축은 제주도 축산진흥원에서 사육중인 천연기념물로 지정된 제주재래마 37두와 대조축으로 더브렛종 24두를 대상으로 각 개체 별 혈액배양을 이용한 핵형분석을 수행하였다. 제주재래마의 핵형은 $2n=64$, XX 또는 XY로서 상염색

체는 13쌍의 metacentric 또는 submetacentric 염색체와 18쌍의 acrocentric 염색체로 구성되어 있으며, X 염색체는 5번째 크기의 submetacentric이며, Y염색체는 30번째 크기의 acrocentric 형태이다. 제주재래마의 전체적 G-band 양상은 모든 상 염색체의 동원체 부위가 공히 light band로 나타나고, 그 이외의 부위는 상동 염색체 별 동일한 특징적 band 양상을 나타내었다. 전반적인 제주재래마의 핵형 양상은 국제 말 표준핵형위원회에서 제시한 말의 염색체 표지와 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. 제주재래마의 C-banding 양상은 대부분 염색체의 동원체부분에서 일관된 heterochromatin 분포양상을 보이고 있고, 8번 염색체 동원체 부위에 heterochromatin 양적 다형성이 존재하였다. 제주재래마의 NORs 분포 양상은 품종 간, 개체 간 및 세포 간에 수와 발현량의 다형 현상을 보이기는 하나 모든 세포에서 1번 염색체 p-arm 말단부와 26, 31번 염색체의 동원체 부위에 나타나며, 세포 당 평균 NORs의 수는 4.68개로 분석되었다. 이상의 결과로부터 제주재래마에 대한 종의 기본적 유전 표지로서 제주재래마 염색체의 G-, C-, NOR-분염 표준 핵형을 제시하고자 한다.

V. 사 사

본 연구는 지식경제부/한국산업기술평가원 지정 진주산업대학교 동물생명산업센터의 연구비 지원에 의한 것입니다.

VI. 인용 문헌

1. Benirschke, K., Brownhill, L. E. and Beath, M. M. 1962. Somatic chromosomes of the horse, the donkey and their hybrids the mule and the hinny. J. Reprod. Fertil. 4:319-326.
2. Bloom, S. E. and Goodpasture, C. 1976. An improved technique or selective silver staining of nucleolar organizer region in human chromosomes. Humangenetik 34:199-206.
3. Bowling, A. T., Breen, M., Chowdhary, B. P., Hirota, K., Lear, T., Millon, L. V., Ponce de Leon, F. A., Raudsepp, T. and Stranzinger, G. 1997. International system for cytogenetic

- nomenclature of the domestic horse. *Chromosome Res* 5: 433-443.
4. Buckland, R. A., Fletcher, J. M. and Chandley, A. C. 1976. Characterization of the domestic horse (*Equus Caballus*) karyotype using G-, and C-banding techniques. *Experientia* 32:1146-1149.
 5. Burkholder, G. D. and Ducek, L. L. 1980. Proteins in chromosome banding. *Chromosoma* 79:29-41.
 6. Christensen, K. and Smedegard, K. 1978. Chromosome markers in domestic pigs. C-band polymorphism. *Hereditas* 88:269-272.
 7. Comings, D. E. 1978. Mechanisms of chromosome banding and implications for chromosome structure. *Ann Rev Genet* 12:25-46.
 8. Comings, D. E., Avelino, E., Okada, T. A. and Wyandt, H. E. 1973. The mechanism of C-and G-banding of chromosomes. *Exptl. Cell Res.* 77:469-493.
 9. Craig-Holmes, A. P. and Shaw, M. W. 1971. Polymorphism of human constitutive heterochromatin. *Science* 174:702-704.
 10. Di Berardino, D., Iannuzzi, L., Bettini, T. M., and Matassino, D. 1981. Ag-NORs variation banding homologies in two species of bovidae: *Bubalus bubalis* and *Bos taurus*. *Can. J. Genet. Cytol.* 23:89-99.
 11. Ford, C. E., Pollock, D. L. and Gustavsson, I. 1980. Proceeding of the first international conference for the standardization of banded karyotypes of domestic animals. *Hereditas* 92:145-162.
 12. Forejt, J. 1973. Centromeric heterochromatin polymorphism in the horse mouse; evidence from inbred strains and natural population. *chromosoma* 43:187-201.
 13. Harrison, C. J., Britch, M., Allen, T. D. and Hennis, R. 1981. Scanning electron microscopy of the G-banded human karyotype. *Exptl Cell Res* 134:141-153.
 14. Holmquist, G. 1979. The mechanism of C-banding depurination and β -elimination. *Chromosoma* 72:203-224.
 15. Kim, G. O. and Oh, M. Y. 1995. Polymorphism of plasma protein by two dimensional horizontal electrophoresis in Cheju native horse. *Kor J Anim Sci* 37(6):603-610.
 16. Kim, K. I., Yang, Y. H., Lee, S. S., Park, C., Ma, R., Bouzat, J. L. and Lewin, H. A. 1999. Polygenetic relationships of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D-loop sequence polymorphism. *Animal Genet* 30:102-108.
 17. Lee, K. M. 1961. Biostatistic study on the type of the Cheju horse in Quelport. *Kor J Anim Sci* 3:63-73.
 18. Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220.
 19. Makino, S. 1942. The chromosomes of the horse (*Equus caballus*). *Cytologia* 13:26-38.
 20. Mayr, B. and Czaker, R. 1981. Variable position of nucleolus organizer regions in Bovidae. *Experientia* 37:564-565.
 21. Mayr, B., Gruber, K., Brem, G. and Mayrhofer, G. 1989. Genetic studies on nucleolus organizer regions (NORs) in cattle. *Genet. Res.* 53:111-118.
 22. Mayr, B., Schleger, W. and Auer, H. 1987. Frequency of Ag-stained nucleolus organizer regions in the chromosomes of cattle. *Journal of Heredity* 78:206-207.
 23. Oh, M. Y., Ko, M. H., Kim, G. O., Kim, S. J., Chung, C. C. and Kim, K. I. 1992. Genetic variations of the blood proteins in Cheju native horses. *Kor J Genet* 14(1):39-50.
 24. Power, M. M. 1988. Y chromosome length variation and its significance in the horse. *Journal of Heredity* 79:311-313.
 25. Power, M. M. 1990. Chromosomes of the Horse. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* 34:131-167.
 26. Richer, C. L., Power, M. M. and Klunder, L. R. 1990. Standard karyotype of the domestic horse (*Equus caballus*). *Hereditas* 112:289-293.
 27. Romagnano, A., Richer, C. L., Messier, P. E. and Jean, P. 1987. Light and electron microscopy of Ag-NORs in domestic horse chromosomes identified after R-banding. *Cytobios* 49 (196):23-30.
 28. Rothfels, K. H., Alexrad, A. A., Siminovitch, L. et al. 1959. The origin of altered cell lines from mouse, monkey and man, as indicated by chromosome and transplantation studies. *Proc Can Cancer Res Conf* 3: 189-214.
 29. Shin, J. A., Kim, S. H., Kim, Y. H., Chun, C. I. and Lee, K. K. 1999. Genetic polymorphism of serum protein in horses on Cheju. *J Research Institute for Animal Biotechnology* 14:149-157.
 30. Sohn, S. H., Fechheimer, N. S. and Nestor, K. E. 1995. Transmission of C-band variants in Japanese quail. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 8:171-174.
 31. Trujillo, J. M., Stenius, C. and Christian, K. 1962. Chromosomes of the horse, donkey and the mule. *Chromosoma* 13:243-248.
 32. Yang, Y. H., Chang, C. C., Lee, H. J. and Kang, T. S. 1991. Studies on the classification for the registration of the Cheju native horse. II. The effect of the registration grade on the body measurements of Cheju native horse. *Kor J Anim Sci* 33(6):438-443.
 33. Yang, Y. H., Kim, J. and Cho, D. J. 1996. Estimation of the growth performance of Cheju native horse in Cheju island. *J*

- Research Institute for Animal Biotechnology 11:9-28.
34. Zurita, F., Jimenez, R., Burgos, M. and Diaz del la, G. R. 1998. Sequential silver staining and in situ hybridization reveal a direct association between rDNA levels and the expression of homologous nucleolar organizing regions, a hypothesis for NOR structure and function. *J. Cell Sci.* 111:1433-1439.
 35. 김남영, 이성수, 양영훈. 2002. 제주마 Transferrin Gene Exon 13, 15 및 16의 다형현상. *한국동물자원과학회지* 44(4):391-398.
 36. 백규흠, 이철영, 상병돈, 최철환, 김학규, 손시환. 2003. 한국 재래계의 염색체 분염표지 분석. *동물자원과학회지* 45(1):1-12.
 37. 손시환, 정구민. 1994. 혈액세포를 이용한 염색체 분리분석에 관한 방법적 고찰. *대한불임학회지* 21:207-214.
 38. 손시환, 조은정, 박진식. 2006. 제주마의 염색체 양상과 핵형 분석. *진주산업대 농업기술연구소보* 19:61-69.
 39. 손시환. 1990. 일본산메추리 (*Coturnix coturnix Japonica*)의 염색체 다형현상. *한국가금학회지* 17(4):275-280.
 40. 오봉국, 여정수, 손시환, 홍영호. 1991. 한우 염색체의 Constitutive Heterochromatin Banding 양상. *한국축산학회지* 33:359-369.
 41. 임성인. 2002. 제주재래마와 제주산마의 초성위체 (microsatellite) 다형성분석. 제주대학교 석사학위논문.
 42. 정창조, 양영훈, 김중계, 강민수. 1991. 제주 재래마 혈통정립 및 혈통등록을 위한 조사연구. 1. 제주마의 지역별, 성별, 연령별 체형측정치. *한축지* 33(6):418-422.
- (접수일자 : 2009. 9. 22. / 수정일자 : 2009. 10. 19. / 채택일자 : 2009. 10. 21.)