

## MS 마커를 이용한 토종닭 브랜드의 유전적 특성 및 개체 식별력 분석

서상원<sup>1,2</sup> · 조창연<sup>1</sup> · 김재환<sup>1</sup> · 최성복<sup>1</sup> · 김영신<sup>1</sup> · 김 현<sup>1</sup> · 성환후<sup>1</sup> · 임현태<sup>2</sup> · 조재현<sup>3</sup> · 고응규<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원시험장, <sup>2</sup>경상대학교 농업생명과학대학 축산학과, <sup>3</sup>경상대학교 수의과대학 수의학과

### Analysis of Genetic Characteristics and Probability of Individual Discrimination in Korean Indigenous Chicken Brands by Microsatellite Marker

Sangwon Suh<sup>1,2</sup>, Chang-Yeon Cho<sup>1</sup>, Jae-Hwan Kim<sup>1</sup>, Seong-Bok Choi<sup>1</sup>, Young-Sin Kim<sup>1</sup>, Hyun Kim<sup>1</sup>, Hwan-Hoo Seong<sup>1</sup>, Hyun-Tae Lim<sup>2</sup>, Jae-Hyeon Cho<sup>3</sup> and Yeoung-Gyu Ko<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Animal Genetic Resources Station, National Institute of Animal Science, RDA, Namwon 590-832, Korea, <sup>2</sup>Department of Animal Science, Collage of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea,

<sup>3</sup>Institute of Life Science, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

#### ABSTRACT

Microsatellite markers have been a useful genetic tool in determining diversity, relationships and individual discrimination studies of livestock. The level of genetic diversity, relationships among two Korean indigenous chicken brand populations (Woorimatdag: WR, Hanhyup3: HH) as well as two pure populations (White Leghorn: WL, Rhode Island Red: RIR) were analyzed, based on 26 MS markers. A total of 191 distinct alleles were observed across the four chicken populations, and 47 (24.6%) of these alleles were unique to only one population. The mean  $H_{Exp}$  and PIC were estimated as 0.667 and 0.630. Nei's DA genetic distance and factorial correspondence analysis (FCA) showed that the four populations represented four distinct groups. However, the genetic distance between each Korean indigenous chicken brand (WR, HH) and the pure population (WL, RIR) were threefold that among the WR and HH. For the STRUCTURE analyses, the most appropriate number of clusters for modeling the data was determined to be three. The expected probabilities of identity among genotypes of random individuals (PI) were calculated as  $1.17 \times 10^{-49}$  (All 26 markers) and  $1.14 \times 10^{-15}$ ,  $7.33 \times 10^{-20}$  (9, 12 with the highest PI value, respectively). The results indicated that the brand chicken breed traceability system employing the own highest PI value 9 to 12 markers, and might be applicable to individual identification of Korean indigenous chicken brand.

(Key words : Microsatellite, Genetic relationship, Korean indigenous chicken brand, Identification)

#### 서 론

본래 재래닭은 전국의 농가에서 소규모로 사육되어왔지만 1960년대 이후 사육목적에 따라 생산성이 높게 육종 개량된 상업용 실용계 (commercial chicken)의 도입과 양계시설의 규모화 및 전업화가 시작되면서 대부분 멸실 되었다.

1992년 생물다양성협약 (Convention on Biological Diversity: CBD) 이후 전 세계적으로 자국의 재래가축 유전자원 중요성 부각과 국내 소비시장에서의 재래·토종닭에 대한 관심 및 선호도 증가로 농촌진흥청 국립축산과학원에서는 전국에서 수집된 토종닭을 바탕으로 토종닭 순수화 복원 및 순수계통조성 사업을 15년에 걸쳐 시행하였으며, 외모특성 및 주요형질의 유전능력에 따른 선발과 유전적 특성을 조사하여 2007년 토종닭 순계의 품종복원을 완성하였

다. 토종닭 순계는 크게 재래종과 토착종으로 구분된다. 재래종은 예로부터 국내에서 사육되어온 닭으로 근래에 다른 품종과의 섞임 없이 순수 혈통을 유지해온 품종으로 사육유래가 명확해야 하며, 토착종은 외국에서 품종이 성립되어 국내에 순계로 도입된 후 우리나라 기후 풍토에 적응된 품종으로 도입 경위가 명확해야 한다. 재래종과 토착종 공통적으로 매년 1세대 간격으로 계대를 유지하여 최소 7세대 이상 순수혈통으로 유지되어온 기록과 품종고유의 특징을 보유하고 있으며, 그 유전적 특성이 유지되는 집단을 토종닭 순계라 한다 (NIAS, 2008).

농촌진흥청 국립축산과학원에서는 복원된 토종닭 순계를 바탕으로 종계로서의 이용가치를 높이기 위해 산란능력이 좋고 육질이 우수한 검용종과 성장이 빠르고 육질이 우수한 육용 토착종 순계 및 맛이 좋은 재래종 순계를 3원 교배종 형태로 이용하여 맛이 좋고

\* Corresponding author : Yeoung-Gyu Ko, National Institute of Animal Science, R.D.A., Namwon 590-832, Jeonbuk, Korea. Tel: 063-620-3535, Fax: 063-620-3591, E-mail: kog4556@korea.kr

성장이 빠른 실용 재래닭 “우리맛닭”을 개발하였으며, 2011년 전국 11개 중계장에 기술이전으로 산업화하여 연간 500만수의 실용계를 생산하고 있다(NIAS, 2012).

닭의 품종구별은 일반적으로 외형적 특징인 모색, 정강이색, 체형 등의 표현형을 기준으로 이루어지는데 도계 후 육의 형태로 전환되면 표현형에 의한 품종식별은 거의 불가능하게 된다. 이러한 문제점의 발생을 제거하기 위하여 닭의 품종 및 브랜드를 명확히 구분할 수 있는 DNA 마커의 선정과 활용이 필요한 실정이다. 최근 한국 재래닭에서 나타나는 품종 특이적인 DNA 마커와 관련된 연구(Hoque 등, 2011; Sultana 등, 2012; Seo 등, 2013)가 보고되었지만 이미 실용화된 MS 마커를 활용한 DNA 동일성검사 방법에 의한 소고기 이력시스템 및 돈육의 브랜드 식별, 원산지추적 등(Lim 등, 2009a; Lim 등, 2009b; Lim 등, 2011)의 연구에 비하면 다소 부족한 실정이다.

Simple sequence repeats(SSR)로도 불리는 microsatellite는 non-coding 부위에 존재하는 1-6 bp의 단순 염기서열이 반복되는 부분으로 유전체상의 빈번한 분포, 높은 변별력 및 검출이 간편한 마커로써 집단유전학, 유연관계 분석, 친자확인 및 개체식별에 있어 유용한 DNA 마커로 알려져 있다(Tautz, 1998).

본 연구는 현재 국내에서 유통되고 있는 대표적인 토종닭 브랜드인 “우리맛닭”과 “한협 3호” 집단 및 도입 토착종 순계 화이트 레그혼, 로드 아일랜드 레드 집단을 대상으로 26종 MS 마커의 대립유전자형을 조사하였다. 이러한 분석을 기초로 집단간의 유전적 차이와 분자생물학적 유연관계를 분석 하여 토종닭 유전자원의 다양성 확보, 개체의 동일성 검정에 가장 적합한 마커 선별 및 마커에 따른 개체 식별확률을 통계적으로 제시하여 토종닭 브랜드의 생산 이력시스템에 활용 가능한 기초자료를 제시하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시재료 및 MS 마커

본 연구에서는 토종닭 브랜드 우리맛닭(WR), 한협 3호(HH)와 토착화된 토종닭 순계 화이트 레그혼(WL), 로드 아일랜드 레드(RIR) 집단에서 각각 80수씩 총 320수의 혈액을 시료로 공시하였으며, magnetic bead 기반의 DNA 추출 kit인 MagExtractor(Toyobo, Japan)를 이용하여 추출된 DNA를 분석에 이용하였다. 집단간의 유연관계 및 개체식별력 분석에 사용된 MS 마커는 FAO(2011)에서 권고한 닭 상염색체상의 MS 마커 13종과 이전의 연구에서 다형성이 높게 보고된 마커 13종을 선별하여 총 26종(Table 1)을 이용하였다.

### 2. PCR 및 대립유전자형 결정

3개의 마커(LEI0192, MCW0111, MCW0183)는 단일 PCR을 수행하였고, 나머지 23개 마커는 증폭조건, 증폭산물크기, 형광표지

를 고려하여 2~4개씩 multiplex 조합을 만든 후 Accupower-Dye PCR PreMix(Bioneer, Korea)를 이용하여 증폭하였다. 단일 및 multiplex PCR은 GeneAmp PCR system 9700(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 수행하였으며, 조건은 95°C에서 5분간 pre-denaturation을 실시하고, 95°C에서 60초 denaturation, 58~63°C에서 40초간 annealing, 72°C에서 60초간 extension을 35회 반복 후 72°C에서 15분 동안 final extension을 실시하였다.

PCR 산물은 Hi-Di Foramide(Applied Biosystems, USA)와 GeneScan 500Liz Size Standard(Applied Biosystems, USA)를 혼합하여 95°C에서 10분간 denaturation 후 ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer(Applied Biosystems, USA)에 loading 하여 POP-7 polymer(Applied Biosystems, USA)상에서 모세관 전기영동을 수행 하였다.

GeneMapper(ver. 4.0) software(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 MS 마커에 대한 대립유전자의 정확한 크기를 결정하였으며, 그 결과는 Microsoft Excel(Microsoft, ver. 2007, USA)을 이용하여 집단 별로 취합한 후 각 통계분석 방법에 적용 하였다.

### 3. 자료의 통계분석

MS tool Kit(Park, 2001)를 이용하여 다형성지수인 기대 이형 집합도(expected heterozygosity:  $H_{Exp}$ ) 및 다형정보 지수(Polymorphic Information Content: PIC)를 계산하였으며, CONVERT package(Glaubitz, 2004)를 이용하여 좌위특이 대립유전자의 수를 확인하였다.

집단간의  $D_A$  유전거리(Nei 등, 1983), 친자감정률(probability of exclusion: PE) 및 무작위 교배집단에서의 동일개체 출현가능 확률 값(probability of identity: PI)은 GeneAID ver. 6.4(Peakall and Smouse, 2006) 및 API-CALC ver. 1.0(Ayres and Overall, 2004)을 이용하여 계산하였다.

26개의 MS 마커의 대립유전자형에 대한 각 개체간의 유연관계 분석은 Genetix version 4.05(Belkhir 등, 2004)를 이용하여 요인 대응분석(Factorial correspondence Analysis: FCA)을 하고 그 결과를 3차원으로 도식화하였다.

공시된 4개 집단에 대한 유전적 균일성 및 실제분포 추정은 STRUCTURE software(Pritchard 등, 2000)를 이용하여 분석 하였다. 먼저 분류 가능한 집단 수( $K$  값)를 추정하기 위해 각각의  $K$  ( $K=2-6$ ) 값에 대한 평균 추정치  $Pr(X|K)$ 와 표준편차를 계산하고, burn-in 50,000회, MCMC(markov chain monte carlo) 반복 수 100,000회, 이를 20회 반복하여 계산된 결과를 Evanno 등(2005)의 방법이 적용된 STRUCTURE HARVESTER program(Earl and Holdt, 2012)을 사용하여  $\Delta K$  값을 계산하여 최적의  $K$  값을 결정 하고, 각 클러스터에 대한 집단의 실제분포를 추정 하였다.

Table 1. Number of alleles (private alleles) for 4 chicken populations

Locus	Number of alleles (private alleles)				Total alleles for individual site
	WR	HH	WL	RIR	
ADL0176 <sup>6</sup>	5(0)	4(0)	6(1)	4(0)	7(1)
ADL0262 <sup>2</sup>	3(0)	3(0)	3(0)	2(0)	3(0)
ADL0278 <sup>1,3,4,5</sup>	4(0)	6(1)	3(0)	4(0)	6(1)
LEI0092 <sup>2</sup>	5(0)	9(4)	3(0)	4(0)	9(4)
LEI0094 <sup>1,4,5</sup>	6(1)	8(3)	4(2)	5(2)	13(8)
LEI0096 <sup>2,3</sup>	5(0)	9(0)	7(0)	4(1)	10(1)
LEI0099 <sup>2,3</sup>	6(0)	6(0)	3(0)	3(0)	6(0)
LEI0135 <sup>2</sup>	5(0)	6(1)	2(0)	2(0)	6(1)
LEI0166 <sup>1,4,5</sup>	3(0)	3(0)	2(0)	3(0)	3(0)
LEI0192 <sup>1</sup>	10(3)	9(2)	2(0)	6(0)	13(5)
MCW0016 <sup>1,4,5</sup>	5(0)	6(0)	4(0)	4(0)	6(0)
MCW0037 <sup>1,3,4,5</sup>	4(0)	4(0)	2(0)	3(0)	4(0)
MCW0078 <sup>1,3,4,5</sup>	3(0)	4(1)	3(0)	3(1)	6(2)
MCW0103 <sup>1,4,5</sup>	2(0)	2(0)	2(0)	2(0)	2(0)
MCW0111 <sup>1,4,5</sup>	3(0)	4(0)	3(0)	5(1)	5(1)
MCW0145 <sup>3</sup>	7(0)	9(0)	10(2)	6(0)	11(2)
MCW0165 <sup>1,3,4,5</sup>	3(0)	3(0)	3(0)	2(0)	3(0)
MCW0183 <sup>1,2,3,4,5</sup>	8(0)	9(1)	4(2)	6(0)	12(3)
MCW0206 <sup>1,4,5</sup>	5(0)	5(0)	7(0)	6(1)	9(1)
MCW0214 <sup>2</sup>	7(1)	7(0)	8(2)	3(0)	10(3)
MCW0240 <sup>2,3</sup>	6(1)	10(4)	5(0)	5(0)	11(5)
MCW0252 <sup>2,3</sup>	5(0)	8(3)	4(0)	3(0)	8(3)
MCW0295 <sup>1,2,3,4,5</sup>	4(0)	6(0)	6(0)	2(0)	6(0)
MCW0301 <sup>2,3</sup>	7(1)	5(0)	6(2)	8(3)	13(6)
MCW0322 <sup>2</sup>	4(0)	5(0)	4(0)	3(0)	5(0)
MCW0330 <sup>1,2,3,4,5</sup>	4(0)	3(0)	3(0)	3(0)	4(0)
Total	129(7)	153(20)	109(11)	101(9)	191(47)
Mean ± S.E.	4.96±0.36	5.88±0.47	4.19±0.41	3.88±0.31	7.35±0.67

<sup>1</sup> Microsatellites recommended in the FAO-MoDAD program

<sup>2</sup> Markers used by Osman *et al.* 2006

<sup>3</sup> Markers used by Tadano *et al.* 2007

<sup>4</sup> Markers used by Chen *et al.* 2008

<sup>5</sup> Markers used by Muchadeyi *et al.* 2007

<sup>6</sup> Markers used by Kaya and Yildiz 2008.

## 결과 및 고찰

토종닭 브랜드로 유통되고 있는 2개 집단과 토착화된 토종닭 순계 2개 집단을 대상으로 26종의 MS 마커로 분석한 결과, 각 마커에서 관찰된 대립유전자의 빈도를 Table 2에 제시하였으며, 각 집단에서 관찰된 대립유전자의 수와 집단에서 특이적으로 나타나는 대립유전자의 수를 Table 1에 제시하였다. 총 191개의 대립 유전자가 확인되었으며, 그 중 47개 (24.6%)가 집단특이 대립유전자로, HH 집단에서는 타 집단에 비하여 약 2배 정도인 20개의 집단특이 대립유전자가 발견되었으며, LEI0092 및 MCW0252에서 발견된

7개는 타 집단에서는 전혀 발견되지 않은 집단특이 대립유전자였다. LEI0192 및 MCW0240에서는 토종닭 브랜드 2집단 (WR, HH)에서만 집단특이 대립유전자가 발견되었다. 3품종 중국 닭 (Ding, 2010), 24품종 영국 닭 (Wilkinson 등, 2011), 에디오피아 닭 (Goraga 등, 2011)의 결과와 비교해보면 집단특이 대립 유전자 수는 품종 및 분석된 마커에 따라서 상이하게 나타남을 확인할 수 있었다. 분석된 4개 집단에서 MS 마커의 평균 대립 유전자수는 7.35개로 관찰되었으며, 8개의 MS 마커 (LEI0094, LEI0096, LEI0192, MCW0145, MCW0183, MCW0214, MCW0240, MCW0301)에서는 10~13개의 많은 대립유전자가 관찰된 반면,

Table 2. Allele frequencies at 26 microsatellite markers in four chicken populations

Locus and allele size (bp)		Population				Locus and allele size (bp)		Population			
LEI0094	WR	HH	WL	RIR	LEI0192	WR	HH	WL	RIR		
245	0.00	0.00	0.00	0.63	258	55.00	42.76	75.32	0.00		
249	0.00	0.00	0.00	1.25	268	2.50	0.66	0.00	0.00		
251	0.00	0.00	36.08	0.00	272	1.25	14.47	24.68	10.00		
257	0.00	5.00	0.00	0.00	274	0.00	15.79	0.00	0.00		
259	0.00	0.00	2.53	0.00	276	2.50	4.61	0.00	7.50		
261	0.00	10.00	0.00	0.00	278	0.00	0.66	0.00	0.00		
263	42.50	33.13	19.62	18.75	288	0.63	0.00	0.00	0.63		
265	19.38	26.25	41.77	17.50	292	26.25	9.87	0.00	62.50		
267	31.88	16.25	0.00	61.88	296	6.25	0.00	0.00	0.00		
271	1.88	0.00	0.00	0.00	298	1.25	0.00	0.00	0.00		
277	0.00	2.50	0.00	0.00	300	1.25	0.00	0.00	0.00		
279	1.88	1.25	0.00	0.00	302	0.00	5.26	0.00	0.63		
283	2.50	5.63	0.00	0.00	304	3.13	5.92	0.00	18.75		
MCW0301	WR	HH	WL	RIR	MCW0183	WR	HH	WL	RIR		
256	0.00	0.00	0.66	0.00	282	0.63	0.00	0.00	0.63		
259	0.00	0.00	0.00	1.28	288	0.00	0.00	0.64	0.00		
261	0.00	0.00	0.66	0.00	290	0.00	0.63	0.00	0.00		
263	2.53	0.00	1.32	2.56	294	43.13	41.88	67.31	30.63		
265	37.97	38.51	30.92	56.41	296	10.00	16.88	0.00	5.00		
267	12.66	31.76	39.47	0.00	300	0.00	11.88	1.28	47.50		
269	0.00	0.00	0.00	1.28	302	32.50	4.38	0.00	0.00		
271	20.25	15.54	26.97	6.41	306	2.50	6.25	0.00	0.00		
273	0.00	2.70	0.00	0.64	310	0.00	0.00	30.77	0.00		
275	1.27	0.00	0.00	0.00	312	6.88	15.63	0.00	0.00		
277	14.56	11.49	0.00	0.00	318	3.13	1.88	0.00	15.63		
281	10.76	0.00	0.00	2.56	320	1.25	0.63	0.00	0.63		
283	0.00	0.00	0.00	28.85							
AD0278	WR	HH	WL	RIR	LEI0099	WR	HH	WL	RIR		
111	33.75	16.23	14.38	12.50	115	25.63	15.00	78.75	0.00		
113	1.88	4.55	0.00	0.00	119	9.38	15.00	0.00	30.63		
115	0.00	2.60	0.00	0.00	121	15.00	18.75	0.00	0.00		
117	38.13	34.42	0.00	60.00	123	40.00	44.38	16.25	41.88		
119	0.00	5.19	6.88	0.63	125	1.25	2.50	0.00	0.00		
121	26.25	37.01	78.75	26.88	131	8.75	4.38	5.00	27.50		
MCW0111	WR	HH	WL	RIR	MCW0322	WR	HH	WL	RIR		
98	24.38	27.50	6.96	13.13	250	1.88	16.88	22.50	3.75		
100	20.63	43.13	81.65	18.13	252	0.00	0.63	1.25	0.00		
102	55.00	28.13	11.39	66.88	254	63.75	42.50	40.63	35.63		
106	0.00	1.25	0.00	1.25	256	27.50	23.13	35.63	60.63		
112	0.00	0.00	0.00	0.63	258	6.88	16.88	0.00	0.00		
ADL0262	WR	HH	WL	RIR	LEI0166	WR	HH	WL	RIR		
105	23.13	15.00	39.24	0.00	346	30.38	18.35	86.67	19.87		
107	33.75	40.00	37.97	14.38	350	55.06	39.24	0.00	73.72		
109	43.13	45.00	22.78	85.63	356	14.56	42.41	13.33	6.41		

Table 2. Continued

Locus and allele size (bp)		Population				Locus and allele size (bp)		Population			
LEI0092	WR	HH	WL	RIR	MCW0206	WR	HH	WL	RIR		
236	0.00	0.63	0.00	0.00	227	38.13	32.50	0.63	25.63		
240	6.25	20.00	71.05	19.23	229	0.00	0.00	0.00	5.00		
242	27.50	35.00	0.00	3.21	231	0.00	15.63	10.76	0.00		
244	52.50	28.75	2.63	45.51	233	4.38	8.13	8.86	0.00		
248	0.00	2.50	0.00	0.00	235	33.13	43.13	14.56	23.13		
250	2.50	1.25	0.00	0.00	237	0.00	0.00	6.96	10.00		
254	11.25	5.63	26.32	32.05	241	8.13	0.63	0.00	0.00		
256	0.00	5.63	0.00	0.00	243	16.25	0.00	31.65	32.50		
258	0.00	0.63	0.00	0.00	245	0.00	0.00	26.58	3.75		
LEI0096	WR	HH	WL	RIR	MCW0214	WR	HH	WL	RIR		
216	0.00	1.28	1.88	0.00	274	15.63	13.13	41.77	0.00		
218	0.00	17.31	9.38	1.88	276	0.00	0.63	1.27	0.00		
220	0.00	0.00	0.00	0.63	278	1.25	16.25	5.70	3.75		
226	21.88	26.92	3.75	0.00	280	2.50	0.63	25.32	0.00		
232	13.13	5.13	0.00	0.00	286	47.50	40.00	6.33	21.88		
234	8.75	1.28	0.00	0.00	288	2.50	4.38	12.03	0.00		
236	50.63	32.69	28.75	82.50	290	25.63	25.00	0.00	74.38		
238	0.00	1.92	10.00	0.00	292	0.00	0.00	6.33	0.00		
240	5.63	5.77	0.63	15.00	298	0.00	0.00	1.27	0.00		
242	0.00	7.69	45.63	0.00	304	5.00	0.00	0.00	0.00		
MCW0165	WR	HH	WL	RIR	MCW0103	WR	HH	WL	RIR		
114	33.13	16.88	30.63	0.00	269	28.75	24.05	3.95	21.15		
116	35.00	39.38	45.63	13.75	273	71.25	75.95	96.05	78.85		
118	31.88	43.75	23.75	86.25							
MCW0145	WR	HH	WL	RIR	MCW0240	WR	HH	WL	RIR		
181	0.00	0.00	0.63	0.00	171	13.75	9.38	18.67	28.48		
192	0.00	0.00	0.63	0.00	173	0.00	14.38	0.00	0.00		
193	41.88	31.25	33.75	5.70	179	0.00	0.63	0.00	0.00		
203	21.88	14.38	9.38	10.76	181	2.50	9.38	0.00	0.00		
205	0.63	0.63	25.00	12.66	183	0.00	23.13	0.00	0.00		
207	18.75	20.63	9.38	26.58	185	25.63	11.88	10.00	29.11		
209	12.50	6.88	6.88	31.65	187	0.00	0.63	0.00	0.00		
211	0.00	1.25	5.00	12.66	189	0.00	3.13	5.33	5.06		
213	0.63	1.88	0.00	0.00	191	33.75	24.38	52.00	36.08		
215	3.75	17.50	8.13	0.00	193	23.75	3.13	14.00	1.27		
217	0.00	5.63	1.25	0.00	195	0.63	0.00	0.00	0.00		
MCW0016	WR	HH	WL	RIR	MCW0078	WR	HH	WL	RIR		
140	5.00	16.46	13.13	1.25	133	0.00	0.00	0.00	0.63		
142	0.00	1.27	0.63	0.00	137	22.50	18.13	20.00	0.00		
144	21.88	15.82	11.25	9.38	139	0.00	0.00	1.25	1.88		
146	36.88	22.15	75.00	72.50	141	76.25	68.13	78.75	97.50		
150	30.63	22.78	0.00	16.88	143	1.25	5.00	0.00	0.00		
152	5.63	21.52	0.00	0.00	145	0.00	8.75	0.00	0.00		

Table 2. Continued

Locus and allele size (bp)		Population				Locus and allele size (bp)		Population			
LEI0135	WR	HH	WL	RIR	MCW0295	WR	HH	WL	RIR		
132	11.88	29.38	0.00	37.66	84	0.00	0.63	4.73	0.00		
134	38.75	36.88	88.13	0.00	86	46.25	50.00	60.81	21.71		
136	0.00	1.88	0.00	0.00	88	24.38	26.88	1.35	78.29		
138	6.25	5.63	11.88	0.00	94	23.75	8.75	4.05	0.00		
142	1.25	12.50	0.00	0.00	96	5.63	1.88	2.70	0.00		
144	41.88	13.75	0.00	62.34	98	0.00	11.88	26.35	0.00		
MCW0252	WR	HH	WL	RIR	ADL0176	WR	HH	WL	RIR		
287	55.63	49.38	15.63	82.50	186	36.25	28.75	5.63	21.25		
289	22.50	8.13	17.50	0.00	190	12.50	26.88	14.38	0.00		
291	0.00	0.63	0.00	0.00	194	24.38	39.38	51.88	29.38		
293	18.75	9.38	0.00	16.88	196	0.00	0.00	11.88	6.88		
295	1.25	11.25	7.50	0.63	198	25.63	5.00	0.00	42.50		
297	1.88	0.63	59.38	0.00	200	0.00	0.00	1.88	0.00		
299	0.00	0.63	0.00	0.00	202	1.25	0.00	14.38	0.00		
303	0.00	20.00	0.00	0.00							
MCW0037	WR	HH	WL	RIR	MCW0330	WR	HH	WL	RIR		
152	15.82	27.94	0.00	41.14	269	23.13	19.38	0.00	27.85		
154	38.61	42.65	91.45	36.08	275	6.25	0.00	1.28	0.00		
156	39.87	23.53	8.55	22.78	277	60.00	46.25	60.26	61.39		
158	5.70	5.88	0.00	0.00	287	10.63	34.38	38.46	10.76		

4개 MS 마커(ADL0262, LEI166, MCW0103, MCW0165)에서는 3개 이하의 적은 대립유전자수가 관찰되었다. FAO (2011) 권고 마커인 MCW0103의 경우 중국 닭 15품종(Chen 등, 2008) 및 베트남 H'mong 닭(Cuc 등, 2006) 분석결과에서도 본 연구 결과와 동일하게 2개의 대립유전자가 관찰된 반면, 짐바브웨 닭(Muchadeyi 등, 2007)과 이탈리아 닭(Zanetti 등, 2007)은 4개가 관찰 되었다.

Botstein 등(1980)은  $PIC \geq 0.50$ ,  $H_{Exp} \geq 0.60$  이면 높은 다형정보량을 가지고 있는 마커 라고 보고하였는데, Table 3에서 보는 바와 같이 26개 마커의 평균은  $PIC = 0.630$ ,  $H_{Exp} = 0.677$ 로 계산 되었으며, Ding 등(2010); Bao 등(2007)의 보고와 동일하게 2개의 마커(MCW0078, MCW0103)에서 비교적 낮은 다형정보량을 확인할 수 있다. 이 결과로 분석에 공시된 품종 및 분석된 마커에 따라 대립유전자의 특성이 다양하게 나타남을 확인할 수 있었으며, 다양한 품종 및 집단을 공시하여 토종닭 브랜드 집단의 대립유전자 빈도 차이 및 특이성을 고려하여 마커를 다수 선별한다면 브랜드 계육의 식별 가능성이 높아질 것으로 판단된다.

토종닭 브랜드 및 순계 집단간의 유연관계를 구명하기 위하여 26개 MS 마커의 대립유전자출현 빈도를 근거로 4개 집단 간의  $D_A$  유전거리 계산 결과를 Table 4에 제시하였다. 분석결과 토종닭 브랜드 WR과 HH집단 간의 유전거리는 0.092로 가장 가까웠으며, 순계 집단인 WL과 RIR집단은 가장 먼 0.699였다. 토종닭 2집단

모두 WL과 비교적 먼 유전거리(WR: 0.381, HH: 0.317)를 보였으며, RIR과는 상대적으로 가까운 유전거리(WR: 0.211, HH: 0.279)를 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 토종닭 브랜드 2개 집단은 토착종 집단과는 유전적으로 확연히 구분된다는 것을 시사하며, 2개의 토종닭 브랜드 집단은 비교적 근접한 유전적 차이, 유전적 차이가 적다는 것을 의미한다.

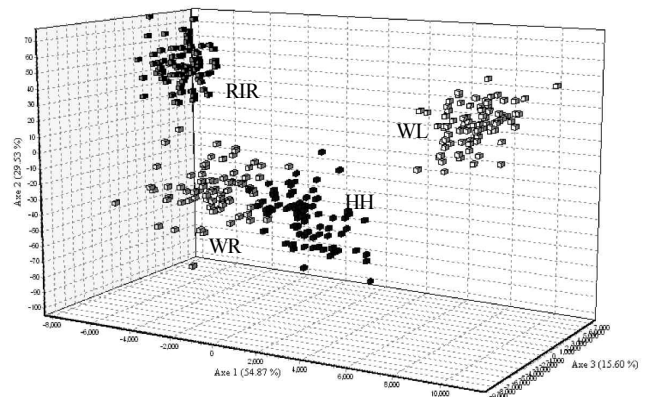


Fig. 1. Plot of factorial correspondence analysis shows the distribution of individual animals of the 4 Korean indigenous chicken populations. Woorimatdag (WR), Hanhyup3 (HH), White Leghorn (WL), and Rhode Island Red (RIR).

Table 3. The value of the expected heterozygosity ( $H_{Exp}$ ) and polymorphism information content (PIC) for 4 chicken populations

Locus	$H_{Exp}$	PIC	Allele size (bp)
ADL0176	0.762	0.725	111-121
ADL0262	0.622	0.548	216-242
ADL0278	0.674	0.612	140-152
LEI0092	0.749	0.705	256-283
LEI0094	0.766	0.726	236-258
LEI0096	0.715	0.690	114-118
LEI0099	0.746	0.704	171-195
LEI0135	0.702	0.650	287-303
LEI0166	0.637	0.559	181-217
LEI0192	0.729	0.692	84-98
MCW0016	0.669	0.631	269-287
MCW0037	0.627	0.564	186-202
MCW0078	0.334	0.303	105-109
MCW0103	0.316	0.266	274-304
MCW0111	0.639	0.562	245-283
MCW0145	0.828	0.805	115-131
MCW0165	0.633	0.557	132-144
MCW0183	0.743	0.719	250-258
MCW0206	0.805	0.777	282-320
MCW0214	0.776	0.742	258-304
MCW0240	0.784	0.755	98-112
MCW0252	0.687	0.655	133-145
MCW0295	0.676	0.621	227-245
MCW0301	0.749	0.715	346-359
MCW0322	0.642	0.573	152-158
MCW0330	0.590	0.529	269-273
All loci	0.677	0.630	

분석된 320수 개체간의 유연관계는 대립유전자형 출현빈도를 기반으로 요인대응분석(Factorial correspondence Analysis: FCA)을 하였으며, 그 결과를 Fig. 1에 3차원으로 도식화하여 나타냈는데, 그 결과 집단 별 군집을 형성함을 확인할 수 있었다. WL과 RIR 개체들이 서로 가장 먼 위치에서 군집을 형성하고, 2개의 브랜드 집단이 WL 보다는 RIR 집단에 비교적 가까운 것을 확인할 수 있었다. 브랜드 토종닭 WR과 HH 집단 각각의 군집을 형성하지만 매우 가까운 위치에 존재하며 일부 개체는 서로 중복되는 위치에 존재하는 것이 확인되었다. 이와 같은 결과는 Table 4의 결과와 동일하게 브랜드 집단과 토착종 집단은 브랜드 집단과 유전적으로 확연히 구분되는 것을 의미하며, 2개의 브랜드 집단 간의 유전적 차이는 상대적으로 적다는 것을 시사한다.

공시된 320수의 개체가 실제 몇 개의 군락으로 분류가 가능한지를 추론하기 위해 STRUCTURE software로  $K$  값을 2에서 6까지 설정하여 20회 분석하고, 그 결과를 Evanno 등(2005)의 방법으로

Table 4.  $D_A$  genetic distance matrix from the frequencies of 26 microsatellite loci among the 4 chicken populations

	WR	HH	WL	RIR
WR	—			
HH	0.092	—		
WL	0.381	0.317	—	
RIR	0.211	0.279	0.699	—

Woorimatdag (WR), Hanhyup3 (HH), White Leghorn (WL) and Rhode Island Red (RIR).

최적의  $K$  값을 의미하는  $\Delta K$  값을 계산 한 결과  $K=3$ 에서 가장 높은 수치(396.63)를 보였다(Table 5). 이 결과는 분석된 집단이 유전적으로 실제 3개의 집단으로 분류할 수 있음을 나타내는데 이는 WL 및 RIR 집단은 별개의 집단이며, 브랜드 WR과 HH 집단은 유전적으로 하나의 집단임을 시사한다. 하지만 실제 분석된 집단과 동일한  $K=4$ 에서는 4개의 집단이 별개의 군락을 형성하는 결과(Fig. 2)를 확인할 수 있었다. Table 6은 320수의 개체를 실제 집단 수와 동일하게 4개 군락으로 분류할 경우의 유전적 균일성 추정결과를 나타내고 있는데, 모든 집단에서 94% 이상의 균일성을 보였으며, 토착종 순계 집단은 98.6%(WL), 99.9%(RIR)의 높은 유전적 균일성을 나타냈다.

집단간의 유전적 거리, 개체간의 요인대응분석, Bayesian법에 의한 군락분류 및 균일성 추정결과를 종합하면 2개 토종닭 브랜드 집단은 유전적으로 유사하지만 도입종인 토종닭 순계와는 유전적으로 차이가 크며, 순계 2집단 또한 유전적으로 확연히 분리됨을 증명할 수 있다.

계육의 브랜드 식별력 및 생산이력 시스템에 활용 가능성 검정을 위해 본 연구에 공시된 320수 닭을 무작위 교배 집단으로 가정하

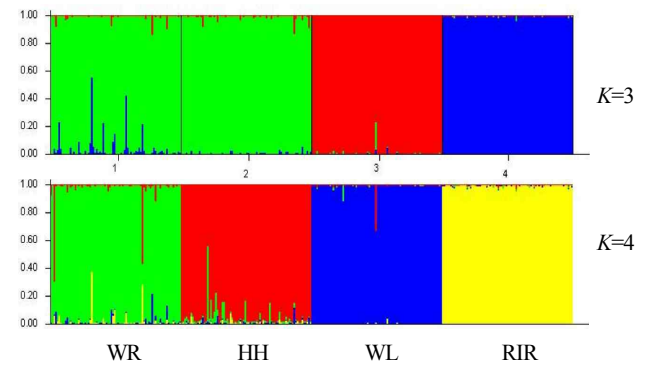


Fig. 2. The results of Bayesian inference based on clustering among 320 individuals from Woorimatdag (WR), Hanhyup3 (HH), White Leghorn (WL), and Rhode Island Red (RIR) chicken populations. The number of assumed genetic clusters ( $K$ ) ranges from 3 to 4. Each individual is represented by a vertical bar.

Table 5. The estimated Delta K values by Evanno method (2005)

K	Repeats	Mean LnP (K)	SD LnP (K)	Ln' (K)	Ln'' (K)	Delta K
2	20	-20331.52	1.31	-	-	-
3	20	-18930.17	2.27	1401.36	901.84	<b>396.64</b>
4	20	-18430.65	18.60	499.52	395.20	21.25
5	20	-18326.32	75.82	104.33	87.13	1.15
6	20	-18309.12	27.47	17.20	-	-

Bold shows the largest value in the Delta K, Delta K= Mean ( |Ln''(K)| ) / SD ( L(K) )

Table 6. Population membership of each of the 4 chicken population genotypes, with 26 microsatellites loci in the three inferred clusters using STRUCTURE analysis

Given pop.	Inferred Clusters				Pop. Size
	1	2	3	4	
WR	0.028	<b>0.941</b>	0.011	0.020	80
HH	<b>0.952</b>	0.031	0.008	0.009	80
WL	0.007	0.004	<b>0.986</b>	0.003	80
RIR	0.004	0.004	0.002	<b>0.990</b>	80

Pop: population, Maximum numerical value for each cluster is in bold

Table 7. Multi-locus probability of identity and cumulative probabilities of exclusion estimations for different microsatellite panels applied in Korean indigenous chicken genotyping

Marker set	PI	PE1 (%)	PE2 (%)
All 26 markers	$1.17 \times 10^{-49}$	99.988	99.999
15 with the highest PI value	$1.14 \times 10^{-25}$	99.882	99.999
12 with the highest PI value	$7.33 \times 10^{-20}$	99.684	99.999
10 with the highest PI value	$3.80 \times 10^{-17}$	99.282	99.999
9 with the highest PI value	$1.14 \times 10^{-15}$	98.922	99.999
8 with the highest PI value	$3.31 \times 10^{-13}$	98.362	99.999
7 with the highest PI value	$1.38 \times 10^{-8}$	97.439	99.997

PI: probability of identity, PE1 and PE2: combined probability of parentage exclusion knowing one (PE1) or both (PE2) parents.

여 26개 MS 마커 유전자형의 동일개체 출현확률(PI), 부모 중 한 쪽을 알 경우(PE1) 및 양 부모를 알고 있을 경우(PE2)의 친자감정확률을 추정하였으며, PI 값이 높은 순서대로 MS 마커 15, 12, 10, 9, 8, 7개를 선별하여 재분석한 결과를 Table 7에 제시하였다. 전체 26개의 마커를 사용하였을 경우 동일개체 출현확률은  $1.17 \times 10^{-49}$ , 7개 마커는  $1.83 \times 10^{-8}$ 로 추정되었다. Choi 등 (2012) 등은 한국 재래닭 집단을 대상으로 28개의 MS 마커를 분석하여 동일개체출현확률을  $1.21 \times 10^{-52}$ 로 보고 하였으며, Seo 등 (2013) 은 다형성지수가 높은 15 및 12개의 MS 마커를 선별하여 각각  $7.98 \times 10^{-29}$ ,  $1.01 \times 10^{-20}$ 으로 보고 하였다. 비록 본 연구에서 분석된 마커와 동일한 마커는 아니지만 12개의 마커를 분석한 본 연구의 결과( $7.33 \times 10^{-20}$ )와 유사함을 확인할 수 있다. Dalvit 등 (2007)은 다수의 연구자가 10~17개 MS 마커 대립유전자형 분석으로 소고기 이력시스템에 활용 가능성을 제시한 것을 보고하였으며, Lim 등 (2009b)은 13종의 MS 마커 및 성 감별이 가능한 2쌍

의 primer를 이용하여 효율적인 Multiplexing PCR 시스템을 확립하고, 동일개체 출현( $2.47 \times 10^{-18}$ ) 및 친자감별 확률(99.99%)을 기반으로 한 돈육 브랜드 식별 및 원산지 추적가능성을 제시하였다. 2011년 기준으로 닭 사육수수 149,511,309수(MIFAFF, 2012)를 고려한 동일개체 출현 및 친자감별 확률에 있어 Table 7의 결과와 같이 9~12개 정도의 MS 마커 조합과 효율성이 우수한 multiplexing PCR 시스템을 확립한다면 토종닭 브랜드 식별 및 생산 이력시스템에 활용이 가능할 것으로 판단된다. 그러나 계속적 식별에 있어서 소 및 돼지와 동일하게 MS 마커 조합을 이용할 경우 경제적 효율성 문제로 인해 실현가능성이 어려운 실정이다. 최근 이를 보완하기 위한 방법으로 nuclear DNA 보다 염기치환의 진화속도가 빠르고, 모계 유전을 하는 특징을 가진 mitochondrial DNA(mtDNA) 변이에 관한 연구가 다수 보고 되었다(Cuc 등, 2011; Dancause 등, 2011; Harumi 등, 2011; Mwacharo 등, 2011). Hoque 등(2011)은 토종닭 상용계 집단을 대상으로



mtDNA D-Loop 지역에서 발견한 3개 SNP (single nucleotide polymorphism)와 MHC (major histocompatibility complex) 지역에 위치한 MS 마커 (LEI0258)의 다형성을 이용하여 대략 86%의 품종 식별력을 보고하였다.

본 연구에서 분석된 MS 마커 및 기존의 연구에서 보고된 mtDNA의 SNP를 기반으로 효율적인 Multiplexing PCR 시스템을 확립하고 그를 검증하는 연구가 진행된다면 실제 국내 토종닭 산업에 적용할 수 있는 계육의 브랜드 식별 및 생산이력 시스템 개발이 가능할 것으로 사료된다.

## 요 약

MS 마커는 가축의 유전적 다양성, 유연관계 및 품종식별의 연구에 있어서 매우 유용하다. 본 연구는 26개의 MS 마커를 이용하여 토종닭 브랜드 2집단(우리맛닭, 한협 3호)과 토착종 순계 2집단(화이트 레그혼, 로드 아일랜드 레드)을 대상으로 집단내 및 집단간의 유전적 다양성, 계통유전학적 관계, 유전적 균일성 등을 검증하여 고유 유전자원으로서의 가치 구명 및 개체식별력이 높은 마커를 선별하여 토종닭 브랜드 계육의 생산이력시스템에 활용 가능한 기초 자료를 제시하고자 실시 하였다. 대립 유전자형 분석결과 총 191개 중 47개 (24.6%)가 집단 특이 대립 유전자였으며, 다형성지수의 평균은  $H_{Exp}=0.667$ ,  $PIC=0.630$ 으로 산출 되었다. 공시된 320수 개체에 대한 요인대응분석(FCA) 결과 4개의 군집을 형성하였지만 2개 토종닭 브랜드 집단은 타 집단에 비해 매우 가까운 거리에 위치하고 있었으며, 집단간의  $D_A$  유전거리 결과 또한 이와 동일했다. 각 집단에 대한 유전적 균일도는 모든 집단에서 94% 이상으로 높았다. 이상의 결과는 2개 토종닭 브랜드 집단은 유전적으로 유사하지만 토종닭 순계 집단과는 유전적인 차이가 크며, 순계 2집단 또한 유전적으로 확연히 분리됨을 증명 할 수 있다. 26개 MS마커 사용자 동일개체 출현확률(PI)은  $1.17 \times 10^{-49}$ 였다. 2011년 기준으로 닭 사육수수 149,511,309수를 고려해 PI 값이 높은 마커 9~12개 정도를 선별 및 분석에 이용 한다면 동일개체 출현확률(PI)이  $1.14 \times 10^{-15}$ 에서  $7.33 \times 10^{-20}$ 이므로 개체식별 및 친자 감별이 가능할 것으로 사료된다. 향후 경제적 효율성을 고려하여 MS 마커 및 mtDNA의 SNP를 기반으로 multiplexing PCR 시스템을 확립을 위한 연구가 이행된다면 토종닭 브랜드육의 생산이력시스템에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

(주제어: 초위성체, 유연관계, 토종닭 브랜드, 동일성검사)

## 인 용 문 헌

Ayres, K. L. and Overall, A. D. J. 2004. API-CALC 1.0: a computer program for calculating the average probability of identity allowing for substructure, inbreeding and the presence of close relatives. *Mol. Ecol. Notes* 4(2):315-318.

Bao, W. B. Shu, J. T., Musa, H. H. and Chen, G. H. 2007. Analysis

of Pairwise Genetic Distance and its Relation with Geographical Distance of 15 Chinese Chicken Breeds. *Int. J. Trop. Med.* 2(3):107-112.

Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. and Bonhomme, F. (2004). GENETIX 4.05, Logiciel Sous Windows TM Pour la Génétique des Populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier

Botstein, D., White, R. L., Skolnik, M. and Davis, R. W. 1980. Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms *Am. J. Hum. Genet.* 32(3): 314-331.

Chen, G., Bao, W., Shu, J., Ji, C., Wang, C., Eding, H., Muchadeyi, F. and Weigend, S. 2008. Assessment of Population Structure and Genetic Diversity of 15 Chinese Indigenous Chicken Breeds Using Microsatellite Markers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21(3): 331-339.

Choi, N. R., Hoque, M. R., Seo, D. W., Sultana, H., Park, H. B., Lim, H. T., Heo, K. Y., Kang, B. S., Cho, C. and Lee, J. H. 2012. ISAG-recommended Microsatellite Marker Analysis Among Five Korean Native Chicken Lines. *J. Anim. Sci. & Technol.* 54(6):401-409.

Cuc, N. T. K., Muchadeyi, F. C., Baulain, U., Eding, H., Weigend, S. and Wollny, C. B. A. 2006. An assessment of genetic diversity of Vietnamese H'mong chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 5(10):912-920.

Cuc, N. T. K., Simianer, H., Groeneveld, L. F. and Weigend, S. 2011. Multiple Maternal Lineages of Vietnamese Local Chickens Inferred by Mitochondrial DNA D-loop Sequences. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24(2):155-161.

Dancause, K. N., Vilar, M. G., Steffy, R. and Lum, J. K. 2011. Characterizing Genetic Diversity of Contemporary Pacific Chickens Using Mitochondrial DNA Analyses. *PLoS ONE.* 6(2):e16843.

Ding, F. X., Zhang, G. X., Wang, J. Y., Li, Y., Zhang L, J., Wei, Y., Wang, H. H., Zhang, L. and Hou, Q. R. 2010. Genetic Diversity of a Chinese Native Chicken Breed, Bian Chicken, Based on Twenty-nine Microsatellite Markers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23(2):154-161.

Earl, D. A. and Holdt, B. M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4:359-361.

Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14:2611-2620.

- FAO. 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. Rome. No. 9:84-85.
- Glaubitz, J. C. 2004. CONVERT: A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Mol. Ecol. Notes* 4(2):309-310.
- Goraga, Z., Weigend, S. and Brockmann, G. 2012. Genetic diversity and population structure of five Ethiopian chicken ecotypes. *Anim. Genet.* 43(4):454-457.
- Harumi, T., Sano, A., Minematsu, T. and Naito, M., 2011. Allele-specific typing and sequencing of the mitochondrial D-loop region in four layer breeds. *Anim. Sci. J.* 82:223-226.
- Hoque, M. R., Lee, S. H., Jung, K. C., Kang, B. S., Park, M. N., Lim, H. K., Choi, K. D. and Lee, J. H. 2011. Discrimination of Korean Native Chicken Populations Using SNPs from mtDNA Polymorphisms. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24(12):1637-1643.
- Kaya, M. and Yildiz, M. A. 2008. Genetic Diversity Among Turkish Native Chickens, Denizli and Gerze, Estimated by Microsatellite Markers. *Biochem. Genet.* 46:480-491.
- Lim, H. T., Seo, B. Y., Jung, E. J., Yoo, C. K., Yoon, D. H. and Jeon, J. T. 2009a. A Comparison of Discriminating Powers Between 14 Microsatellite markers and 60 SNP Markers Applicable to the Cattle Identification Test. *J. Anim. Sci. & Technol.* 51(5):353-360.
- Lim, H. T., Seo, B. Y., Jung, E. J., Yoo, C. K., Zhong, Tao., Cho, I. C., Yoon, D. H., Lee, J. G. and Jeon, J. T. 2009b. Establishment of a Microsatellite Marker Set for Individual, Pork Brand and Product Origin Identification in Pigs. *J. Anim. Sci. & Technol.* 51(3):201-206.
- Lim, H. T., Kim, B. W., Cho, I. C., Yoo, C. K., Park, M. S., Park, H. B., Lee, J. B., Lee, J. G. and Jeon, J. T. 2011. An Empirical Study on Verifying the Estimated Discrimination and Parentage Test Powers of the 13 Traceability Microsatellite Markers for Commercial Pigs Produced by a Three-way Cross. *J. Anim. Sci. & Technol.* 53(1):29-34.
- Mwacharo, J. M., Bjornstad, G., Mobegi, V., Nomura, K., Hanada, H., Amano, T., Jianlin, H. and Hanotte, O. 2011. Mitochondrial DNA reveals multiple introductions of domestic chicken in East Africa. *Mol. Phylogenet. Evol.* 58(2):374-382.
- MIAFF. 2012. Primary statistics of food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Korea
- Muchadeyi, F. C., Eding, H., Wollny, C. B., Groeneveld, E., Makuza, S. M., Shamseldin, R., Simianer, H. and Weigend, S. 2007. Absence of population substructuring in Zimbabwe chicken ecotypes inferred using microsatellite analysis. *Anim. Genet.* 38(4):332-339.
- Nei, M., Taima, F. and Tateno, Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J. Mol. Evol.* 19:153-170.
- NIAS. 2008. Korean Native Chicken Certification Standard Institution Research.
- NIAS. 2012. Livestock Research Leading Result.
- Osman, S. A. M., Sekino, M., Nishihata, A., Kobayashi, Y., Takenaka, W., Kinoshita, K., Kuwayama, T., Nishibori, M., Yamamoto, Y. and Tsudzuki, M. 2006. The Genetic Variability and Relationships of Japanese and Foreign Chickens Assessed by Microsatellite DNA Profiling. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19(10):1369-1378.
- Park, S. D. E. 2001. The Excel microsatellite toolkit (version 3.1). Animal Genomics Laboratory, University College Dublin, Ireland. <http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit/>.
- Peakall, R. and Smouse, P. E. 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in excel population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6(1):288-295.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2):945-959.
- Seo, D. W., Hoque, M. R., Choi, N. R., Sultana, H., Park, H. B., Heo, K. N., Kang, B. S., Jo, C. and Lee, J. H. 2013. Discrimination of Korean Native Chicken Lines Using Fifteen Selected Microsatellite Markers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 26(3):316-322.
- Sultana, H., Hoque, M. R., Seo, D. W., Kang, B. S., Heo, K. N., Cho, C. and Lee, J. H. 2012. Mitochondrial D-Loop Variations for discrimination of Commercial Korean Native Chicken Population. *Korean J. Poult. Sci.* 39(4):311-315.
- Tadano, R., Sekino, M., Nishibori, M. and Tsudzuki, M. 2007. Microsatellite Marker Analysis for the Genetic Relationships Among Japanese Long-Tailed Chicken Breeds. *Poult. Sci.* 86(3):460-469.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17:6463-6471.
- Wilkinson, S., Wiener, P., Teverson, D., Haley, C. S. and Hocking, P. M. 2012. Characterization of the genetic diversity, structure and admixture of British chicken breeds. *Anim. Genet.* 43(5):552-563.
- Zanetti, E., Dalvit, C., Marchi, Md., Zotto, R. D. and Cassandro, M. 2007. Genetic characterisation of Italian chicken breeds using a panel of twenty microsatellite markers. *Poljoprivreda* 13:197-200.

(Received May 15, 2013; Revised Jun. 27, 2013; Accepted Jun. 28, 2013)