한국가금학회지 제 42권 제 1호, 15~26 (2015)
Korean J. Poult. Sci. Vol.42, No.1, 15~26 (2015)
http://dx.doi.org/10.5536/KJPS.2014.42.1.15

Microsatellite Marker를 활용한 한국 토종닭 품종의 유전적 다양성 및 유연관계 분석

서주희[1] · 오재돈[1] · 이준헌[2] · 서동원[2] · 공홍식[1]
[1]국립한경대학교 유전정보연구소, [2]충남대학교 농업생명과학대학 동물자원생명과학과

Studies on Genetic Diversity and Phylogenetic Relationships of Korean Native Chicken using the Microsatellite Marker

Joo Hee Seo[1], Jea-Don Oh[1], Jun-Heon Lee[2], Dongwon Seo[2] and Hong Sik Kong[1]
[1]*Genetic Informatics Center, Hankyong National University, Anseong 456-749, Korea*
[2]*Department of Animal Science and Biotechnology, Chungam National University, Daejeon 305-764, Korea*

ABSTRACT In this study, genotyping was executed by using 27 microsatellite markers for genetic diversity of 469 Korean Native Chickens [20 population, each population is 24 samples but Hanhyup A line is 13 samples). in total 469 samples were collected from National Institute of Animal Science (Korean Native Chicken (NR, NY, NG, NL and NW), Ogye (NO), Leghorn F,K (NF and NK), Black and Brown cormish (NH and NS), Rhode Island Red C, D (NC and ND), Total is 12 populations] and Hanhyup [H line (HH), F line (HF), G line (HG), V line (HV), S line (HS), W line (HW), Y line (HY), A line (HA), total is 8 populations]. [The allele number were observed 5 (ADL0268) to 20 (MCW0127) each markers. Observed heterozygostiy (H_{obs}), expected heterozygosity (H_{exp}), polymorphism Information Content (PIC) were observed 0.359 to 0.677, 0.668 to 0.881 and 0.646 to 0.869, respectively. Using these markers, the calculated the heterozygote deficit within chicken line (F_{is}) value each population from mean 0.117. Phylogenetic tree showing the genetic relationship among 20 population using standard genetic distance calculated from 27 microsatellite markers. genetic distances revealed the closest (0.175) between NC and ND. on the other hand, Farthest genetic distances (0.710) revealed between NF and HV. STRUCTURE analysis and Principal Components Analysis (PCA) showed that results of similar phylogenetic tree. The expected probability of identity values on random individuals (Total population and only Hanhyup line) was estimated at 8.80×10^{-83} and 3.87×10^{-117}, respectively. In conclusion, This study shows the useful data that be utilized as a basic data of Korean Native Chicken breeding and development for commercial chicken industry to meet the consumer's demand.

(Key words : microsatellite marker, Korean Native Chicken, polymorphism, genetic diversity, phylogenetic relationships)

서 론

국내 토종닭 소비시장은 전체 닭고기 소비시장에서 약 6천만 수 내외로, 차지하는 비율은 10% 정도로 아주 미미한 실정이다(Lee et al., 2010). 이는 최근 현대인의 식습관의 변화로 닭고기 선호도가 높아지고 소비량도 같이 증가하였지만(Heo et al., 2013), 닭고기 소비 패턴이 주로 일반 육계 및 수입산 닭고기를 이용한 치킨, 닭갈비, 닭가슴살 샐러드와 같은 음식에 치우쳐 있어 기인된 것으로 사료된다. 토종닭은 주로 계절에 영향을 많이 받는 백숙이나 삼계탕, 닭볶음탕 등에 한정적으로 이용되어 닭고기 소비시장에서 토종닭이 차지하는 비율이 상대적으로 낮은 것으로 추정되며, 토종닭으로 둔갑하여 유통되고 있는 백세미는 닭고기 소비시장에서 토종닭이 차지하는 자리를 더욱 좁게 만들었다(Oh et al., 2010).

Lee 등(2012)에 의해 보고된 연구에 따르면 토종닭이 일반 육계에 비해 풍미성분인 aspartic acid, threonine, serine, glycine, alanine, tyrosine, histidine, arginine의 함량이 유의적으로 높게 확인되었다(Lee at al., 2010). 토종닭은 풍미뿐만 아니라, 지방함량이 일반 육계보다 낮아, 담백하고, 육질이 단단하여 쫄깃하다고 알려져 있다(Lee at al., 2014). 많은 연구를 통해 토종닭의 우수성이 입증되었지만, 국내 계육의 소

† To whom correspondence should be addressed : kebinkhs@hknu.ac.kr

비 패턴과의 괴리감 등으로 토종닭 시장의 산업적 성장은 미진한 실정이다. 한협 3호와 우리맛닭은 토종닭의 장점과 경제성을 고려하여 개발된 실용계라 할 수 있다. 이 같은 실용계는 토종닭과 경제적 능력이 우수한 토착화 품종 간의 교배조합을 통해 생산되고 있다(Lee at al., 2010). 실용계를 이용한 토종닭의 산업화 전략은 변화하는 소비자의 요구와 경제적 측면에서 매우 효과적인 대응 방안으로 시장의 평가를 받고 있다. 하지만 토종닭 시장의 지속 가능한 성장을 위해서는 토종닭 품종에 대한 명확한 유전적 배경을 바탕으로 한 장기적인 개량 기반이 구축되어야 할 것이다. 우리맛닭의 경우, 축산과학원의 토종닭 순계 집단을 이용해 개발된 실용계로서 순계 집단에 대한 다양한 유전학적 연구가 진행되었고, 현재도 진행 중에 있다. 반면, 한협에서 생산되고 있는 토종닭 계통들의 유전적 배경이나 특성에 대한 연구의 진행은 매우 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 토종닭 시장에서 널리 사용되고 있는 한협의 실용계 계통과 축산과학원의 순계 집단 간의 유전적 구조 및 특성 분석을 통해 향후 소비자의 요구에 부합하는 토종닭의 개량 및 실용계 계통의 개발을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 공시 재료

본 연구에 사용된 공시재료는 한협의 실용계 8계통 국내 가금종자(HH, HF, HG, HV, HS, HW, HY, HA)와 국립축산과학원 가금과에서 보존하고 있는 토종닭 순계 12집단, 오골계를 포함한 재래닭 2품종 6계통과 토착화 3품종 6계통의 가금 종자(NR, NY, NG, NL, NW, NO, NF, NK, NH, NS, NC, ND)의 익하정맥에서 채혈하였으며, HA 계통(13수)을 제외하고, 모든 계통은 각 24수씩, 총 469수를 공시재료로 사용하였다(Table 1).

Table 1. Description of the 20 chicken breeds used in the present study

	Code	Line	No. of Sample
Han-hyup	HH	Hanhyup H line	24
	HF	Hanhyup F line	24
	HG	Hanhyup G line	24
	HV	Hanhyup V line	24
	HS	Hanhyup S line	24
	HW	Hanhyup W line	24
	HY	Hanhyup Y line	24
	HA	Hanhyup A line	13
		Sub-total	181
NIAS	NR	Red Korea Native Chicken	24
	NY	Yellow Korea Native Chicken	24
	NG	Gray Korea Native Chicken	24
	NL	Black Korea Native Chicken	24
	NW	White Korea Native Chicken	24
	NO	Ogye	24
	NF	Leghorn F	24
	NK	Leghorn K	24
	NH	Black Cornish	24
	NS	Brown Cornish	24
	NC	Rhode Island Red C	24
	ND	Rhode Island Red D	24
		Sub-total	288
		Total	469

2. DNA Extraction

공시받은 샘플은 SSC 처리하여 혈구를 분리했으며, 20 μL의 혈구샘플을 Genomic DNA isolation kit from blood (Genetbio, Korea)를 이용하여 제조사가 권장하는 방법에 따라 Genomic DNA를 추출하여 −20℃에 보관하였다.

3. MS Marker and PCR Amplification

본 연구에 이용된 27종의 MS marker는 Seo 등(2013)에 의해 보고된 150종의 MS marker를 토대로 대립유전자 크기, 형광물질의 색상 등을 고려하여 향후 개체식별 및 생산이력 시스템 활용에 유용한 MS marker를 선발하였다. 각각의 MS marker는 PCR 증폭산물의 크기를 고려하여 Primer에 FAM, VIC, NED, PET의 형광물질을 부착하여 제작하였다(Table 2). PCR(Polymerase Chain Reaction) 반응액은 DNA 5 ng, primer(10 pmole), 2.5 mM의 dNTP, 10 × Maxima Hot Start Taq buffer, 25 mM $MgCl_2$ 그리고 1.5 U의 Thermo Scientific Maxima Hot Start Taq DNA polymerase (Thermo Scientific, USA)을 포함하여 총 15 μL로 제조한 후, 95℃에서 10분간 pre-denaturation 후 95℃에서 30초간 denaturation, 55℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 30초간 extension을 30

Table 2. Primer information for 27 selected microsatellite markers in the study

No	Markers	Chr		Primer	Size	Dye
1	ADL0268	1	F	CTCCACCCCTCTCAGAACTA	105～117	PET
			R	CAACTTCCCATCTACCTACT		
2	MCW0111	1	F	GCTCCATGTGAAGTGGTTTA	90～118	NED
			R	ATGTCCACTTGTCAATGATG		
3	MCW0145	1	F	ACTTTATTCTCCAAATTTGGCT	178～214	FAM
			R	AAACACAATGGCAACGGAAAC		
4	MCW0288	2	F	GATCTGCTTCTCTGCCCCATG	102～122	FAM
			R	GGTACTGTCACCAGAATGAGC		
5	LEI0141	2	F	CGCATTTGATGCATAACACATG	218～244	FAM
			R	AAGGCAAACTCAGCTGGAACG		
6	MCW0063	2	F	GGCTCCAAAAGCTTGTTCTTAGCT	128～150	FAM
			R	GAAAACCAGTAAAGCTTCTTAC		
7	MCW0264	2	F	CTTACTTTTCACGACAGAAGC	225～243	FAM
			R	AGACTGAGTCACACTCGTAAG		
8	MCW0039	2	F	CATTGGACTGAGATGTCACTGCAG	128～148	VIC
			R	ACATTTGTCTAATGGTACTGTTAC		
9	MCW0087	2	F	ATTTCTGCAGCCAACTTGGAG	265～289	NED
			R	CTCAGGCAGTTCTCAAGAACA		
10	MCW0127	3	F	GAGTTCAGCAGGAATGGGATG	226～274	VIC
			R	TGCAATAAGAGAAGGTAAGGTC		
11	LEI0094	4	F	GATCTCACCAGTATGAGCTGC	232～282	FAM
			R	TCTCACACTGTAACACAGTGC		
12	ADL0317	4	F	AGTTGGTTTCAGCCATCCAT	178～204	FAM
			R	CCCAGAGCACACTGTCACTG		
13	MCW0029	5	F	GTGGACACCCATTTGTACCCTATG	131～187	VIC
			R	CATGCAATTCAGGACCGTGCA		
14	ADL0292	5	F	CCAAATCAGGCAAAACTTCT	110～140	FAM
			R	AAATGGCCTAAGGATGAGGA		
15	ROS0013	5	F	TGCTGCTCCTGGRAAATTG	220～262	NED
			R	GAAAAGCCATGGAGGAATCA		
16	ROS0019	7	F	ATGTACAGGTTCCAGTGTCCG	118～150	NED
			R	CCAGTTCATACAACCTTGAGTTGG		
17	ADL0259	9	F	CTCATTGCAGAGGAAGTTCT	107～147	VIC
			R	GTAATGGAGGATGCTCAGGT		

Table 2. Continude

No	Markers	Chr		Primer	Size	Dye
18	GCT0016	9	F	TCCAAGGTTCTCCAGTTC	108～168	NED
			R	GGCATAAGGATAGCAACAG		
19	MCW0228	10	F	GATCTCTGCATTACAAGCATG	220～248	PET
			R	TTGCTGACCTGCTCATGCAAG		
20	MCW0104	13	F	TAGCACAACTCAAGCTGTGAG	192～232	PET
			R	AGACTTGCACAGCTGTGTACC		
21	ROS0083	13	F	CATTACAGCTCAGTGTTGGCA	108～130	VIC
			R	TTGCAAGTGCTCTCCCATC		
22	MCW0123	14	F	CCACTAGAAAAGAACATCCTC	80～90	FAM
			R	GGCTGATGTAAGAAGGGATGA		
23	MCW0330	17	F	TGGACCTCATCAGTCTGACAG	252～286	VIC
			R	AATGTTCTCATAGAGTTCCTGC		
24	ADL0293	17	F	GTAATCTAGAAACCCCATCT	107～127	PET
			R	ACATACCGCAGTCTTTGTTC		
25	ADL0304	18	F	GGGGAGGAACTCTGGAAATG	138～162	FAM
			R	CCTCATGCTTCGTGCTTTTT		
26	LEI0074	26	F	GACCTGGTCCTGACATGGGTG	132～244	VIC
			R	GTTTGCTGATTAGCCATCGCG		
27	LEI0135	28	F	CACAATGAAGGATGAATAGTGC	132～152	NED
			R	AATTCACAGTTACACCTGAGG		

회 반복한 후 15분 간 72℃에서 final-extension을 수행하여 증폭산물을 확보하였다.

4. Genotyping

PCR 증폭산물은 결과에 따라 Hi-Di™formamide와 GeneScan™-500LIZ™sizestandard로 희석하여 Genetic Analyzer 3130Xl(Applied Biosystems, USA)를 사용하여 Fragment analysis를 수행하였다. MS marker별 대립유전자형의 정확한 크기는 GeneMapper ver 4.1(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 결정하였다.

5. 통계 분석

MS Toolkit software(Park, 2000)와 Cervus ver 3.0(Marshall et al., 1998) 프로그램을 이용하여 대립유전자의 수(No. of allele), 기대이형 접합율(expected heterozygosity, H_{exp}), 관측이형 접합율(observed heterozygosity, H_{obs}), 다형성 정보지수(Polymorphism information content, PIC)를 계산하였고, 집단 내 각 marker별 특성을 *F*-통계량($F_{it}(F)$, $F_{st}(\theta)$ 및 $F_{is}(f)$)을 이용하여 분석하였다(FSTAT ver 2.9.3). API-CALC ver 1.0(Ayres and Overall, 2004) 프로그램을 사용하여 동일개체 출현빈도를 계산하였으며, DISPAN(Ota, 1993, Nei, 1983) 프로그램을 통해 각 집단에 대하여 유전적 거리는 Neighbor-Joining 방법(Saitou and Nei, 1987)을 이용하여 genetic distances를 추정하고, 이를 근거로 Phylogenetic tree를 작성하였다. 집단 간의 유전적 상관을 확인하기 위해서 각 marker 별 대립유전자 빈도를 이용하여 PCA(Principal Components Analysis) 분석은 GenAlEx 6.4(Peakall and Smouse, 2006) 프로그램을 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. Microsatellite Marker의 다형성

본 연구는 한협축산의 한협 8 계통과 국립축산과학원에서 보존하고 있는 토종닭 순계 12 계통을 대상으로 27종의 MS marker를 활용하여 계통 간의 유전적 다양성을 분석하였다. 공시재료를 대상으로 27종의 MS marker에 대한 대립유전자수(No of alleles), 전체 집단의 관측이형 접합율(observed heterozygosity, H_{obs}), 기대이형 접합율(expected heterozygosity, H_{exp}), 다형성 정보지수(Polymorphism information content, PIC), *F*-통계량($F_{it}(F)$, $F_{st}(\theta)$ 및 $F_{is}(f)$)을 산출하여 Table 3에 제시하였다. 전체집단을 대상으로 27종 MS marker를 분석한 결과, 5개(ADL0268)부터 20개(MCW0127)까지 평균 11.7개의 대립유전자가 확인되었다. Seo 등(2013)은 한국 재래닭 5 계통의 유전적 특성 분석을 위해 다형성이 높은 15종 MS marker

Table 3. The statistical analysis of heterozygosity (H_{Obs} and H_{Exp}), polymorphism information content (PIC) and *F*-statistics value using selected 27 microsatellite markers among the native chicken lines

Locus	No. of allele	H_{obs}	H_{exp}	PIC	$F_{st}(\theta)$	$F_{it}(F)$	$F_{is}(f)$
ADL0268	5	0.515	0.768	0.731	0.272	0.338	0.091
MCW0111	10	0.494	0.735	0.688	0.130	0.333	0.234
MCW0145	11	0.677	0.838	0.817	0.156	0.199	0.051
MCW0288	9	0.507	0.688	0.646	0.284	0.273	−0.016
LEI0141	14	0.478	0.851	0.833	0.158	0.442	0.337
MCW0063	11	0.577	0.779	0.749	0.224	0.267	0.055
MCW0264	9	0.567	0.827	0.806	0.271	0.324	0.072
MCW0039	8	0.566	0.746	0.709	0.265	0.251	−0.019
MCW0087	15	0.565	0.878	0.865	0.176	0.362	0.226
MCW0127	20	0.594	0.859	0.843	0.173	0.314	0.170
LEI0094	18	0.609	0.843	0.825	0.119	0.282	0.185
ADL0317	11	0.612	0.831	0.811	0.261	0.274	0.017
MCW0029	15	0.677	0.859	0.845	0.249	0.222	−0.037
ADL0292	11	0.561	0.751	0.714	0.248	0.262	0.019
ROS0013	16	0.590	0.835	0.813	0.182	0.299	0.144
ROS0019	13	0.496	0.699	0.677	0.266	0.300	0.047
ADL0259	14	0.655	0.880	0.868	0.254	0.265	0.014
GCT0016	12	0.359	0.812	0.788	0.326	0.565	0.355
MCW0228	12	0.573	0.796	0.769	0.311	0.291	−0.029
MCW0104	17	0.629	0.881	0.869	0.251	0.295	0.059
ROS0083	8	0.560	0.750	0.716	0.260	0.264	0.006
MCW0123	6	0.451	0.729	0.683	0.382	0.394	0.020
MCW0330	12	0.481	0.746	0.715	0.151	0.361	0.248
ADL0293	10	0.499	0.779	0.746	0.271	0.368	0.133
ADL0304	9	0.508	0.788	0.757	0.232	0.364	0.171
LEI0074	13	0.537	0.846	0.826	0.150	0.370	0.259
LEI0135	7	0.443	0.728	0.681	0.307	0.400	0.135
Total/Mean	316/11.7	0.547	0.797	0.770	0.233	0.321	0.115

를 선발하여 분석에 활용하였는데, 그 중 10종의 MS marker (MCW0145, MCW0063, MCW0264, MCW0087, MCW0029, ADL0292, ADL0259, GCT0016, MCW0104, ADL0304)가 본 연구에서 사용된 marker와 일치하고 있다. Seo 등(2013)이 보고한 연구결과와 본 연구결과를 비교해 보면 다소 큰 차이를 발견할 수 있었다. 특히 MCW0104 경우 Seo 등(2013)은 11개의 대립유전자를 보유한 것으로 확인되었으나, 본 연구 결과에서는 17개로 상대적으로 많은 수가 확인되었다. 그 외에도 동일하게 이용된 대부분의 MS marker에서도 본 연구 결과의 대립유전자수가 상대적으로 많이 나타난 것으로 확인되었다. 이는 공시재료로 이용된 집단이 Seo 등(2013)은 5계통의 재래닭 집단만을 사용하였고, 본 연구에서는 재래닭과 토착화 품종 및 실용계 집단을 포함한 20계통을 사용한 것에서 기인된 것으로 사료된다. H_{obs}는 0.359(GCT0016)부터 0.677(MCW0145와 MCW0029)까지 나타났으며, 평균 0.547로 확인되었다. 또한 H_{exp}와 PIC는 MCW0288에서 각각 0.688과 0.646으로 가장 낮았고, MCW0104에서 각각 0.881과 0.869로 가장 높게 확인되었다. MCW0145와 MCW0029는 각각 11개와 15개의 대립유전자를 보유하고 있으며, H_{obs}, H_{exp} 그리고 PIC 모두 비교적 높은 값을 확인할 수 있었다. ADL0268은 가장 적은 대립유전자(5개)를 보유한 것으로 확인되었지만, H_{obs}는 0.515, H_{exp}는 0.768 그리고 PIC는 0.731로 각각의 평균보다 약간 낮은 것으로 확인되었다. 반면, MCW0111, LEI0141, POS0091, GCT0016, MCW0330 그리고 ADL0293은 10개 이상의 대립유전자를 보유하고 있지만, ADL0268보다 낮은 H_{obs}를 확인할 수 있었다. 이는 ADL0268는 5개의 대립유전자가 균일한 빈도로 전체 집단에서 분포하고 있는 것이 확인되었으며, MCW0111, LEI0141, POS0091, GCT0016, MCW0330 그리고 ADL0293는 계통 특이적인 대립유전자의 존재 또는 몇몇 계통에서 특정 대립유전자의 분포가 편중되어 존재하는 것에서 기인되는 것으로 확인하였다.

각 MS marker의 집단별 유전적 고정에 따른 근친도와 집단 간의 차별성 여부를 확인하기 위하여 *F*-statistics 분석 결과를 제시하였다(Table 3). $F_{is}(f)$는 각 집단별 이형접합체 감소 정도를 나타내는 척도로써 집단 내 유전적 고정 정도에 따른 근친화 정도를 파악할 수 있는 지수로, 수치가 클수록 집단 내 개체 간 상관 정도가 높은 것을 의미하며, 반대로 수치가 낮을수록 근친도가 낮음을 의미한다. 본 연구를 통해 MS marker별 $F_{is}(f)$ 값은 평균 0.115로 확인되었으며, 그 중 GCT0016이 0.355로 집단 내 개체 간 상관 정도가 가장 높게 나타났다. 반면에, MCW0029가 −0.037로 가장 낮게 확인되었다. $F_{it}(F)$는 전체집단에 대한 유전적 고정 정도를 나타내는 지수로 평균 0.321로 확인되었다. $F_{st}(\Theta)$는 서로 다른 집단 내에 개체들 간 이형접합체 감소 정도를 나타내는 지수로 집단 간의 유전적 유사도를 나타내며, 본 연구에서는 평균 0.233로 확인되었다.

2. 계통별 유전적 다양성

계통별 평균 대립유전자수(mean number of alleles, MNA), H_{obs}, H_{exp}, PIC 그리고 $F_{is}(f)$ 값을 계산하여 Table 4에 제시하였다. 계통별 평균 대립유전자수(MNA)는 4.85로 확인되었고, 가장 많은 대립유전자를 보유한 계통은 재래닭 황색계통(NY)이 6.63으로 확인되었으며, 가장 적은 대립유전자를 보유한 계통은 레그혼 F 계통(NF)이 3.59개로 확인되었다. H_{obs}의 경우 평균 0.551로 확인되었고, 한협 A 계통(HA)이 0.713으로 가장 높았으며, 레그혼 K 계통(NK)이 0.358로 가장 낮은 것으로 확인되었다. H_{exp}와 PIC 값은 한협 F 계통(HF)이 각각 0.745, 0.686으로 가장 높았고, 가장 낮게 나타난 계통으로는 레그혼 K 계통(NK)이 각각 0.465, 0.412로 확인되었다. 집단의 유전적 고정 상태를 나타내는 지표인 $F_{is}(f)$은 NK 집단에서 0.234로 가장 높게 나타났으며, HH 집단이 −0.017로 가장 낮게 나타났다. 분석된 H_{exp}와 H_{obs}를 비교한 결과, HH 집단을 제외한 모든 집단에서 H_{obs}가 H_{exp}에 비해 상대적으로 낮게 나타나고 있음을 확인하였다. H_{exp}와 H_{obs} 간의 편차가 가장 큰 집단은 NS(Brown Cornish)로 편차가 0.134인 것으로 확인되었으며, 다음으로는 NR(적갈색 재래닭)이 편차가 0.124로 확인되었다. 전반적으로 토착화된 품종(Leghorn-NF, NK, Cornish-NH, NS, Rhode Island Red-NC, ND)에서 한협의 실용계 계통과 재래닭 순계 계통들에 비해 MNA, H_{obs}, H_{exp} 그리고 PIC 값이 낮은 것으로 확인되었으며, $F_{is}(f)$는 상대적으로 높은 경향치를 보이고 있음을 확인하였다. 토착화 품종(NF, NK, NH, NS, NC, ND)에서 상대적으로 높은 $F_{is}(f)$값이 나타나는 것은 국내에 유입된 한정된 숫자의 개체들이 토착화 과정을 거치면서 유전적 고정이 이루어진 것에서 기인한 것으로 사료된다. 또한 실용축군인 한협의 계통들(HH, HF, HG, HV, HS, HW, HY 그리고 HA)은 상대적으로 낮은 $F_{is}(f)$값을 나타내고 있는 경향을 보이고 있으며, 이는 특정 교배조합에 따른 영향일 것으로 사료된다.

3. 계통 간의 유전거리 및 유연관계

본 연구에 활용된 20계통 간의 유전적 유연관계를 계산하여 Table 5에 제시하였으며, 이를 근거로 계통 간의 유전적 거리에 대한 Phylogenetic tree를 작성하여 Fig. 1에 제시하였다. 분석된 결과에 따르면 전체 20계통 중 로드 아일랜드

Table 4. mean number of alleles (MNA), Heterozygosity (H_{Obs} and H_{Exp}), and polymorphism information content(PIC) and F_{is} (within inbreeding) observed across 27 microsatellite loci for each population

Population	MNA	H_{obs}	H_{exp}	PIC	F_{is}
HH	5.44	0.695	0.684	0.626	−0.017
HF	5.78	0.705	0.745	0.686	0.055
HG	4.70	0.539	0.593	0.531	0.091
HV	4.30	0.453	0.503	0.447	0.102
HS	4.22	0.548	0.581	0.515	0.057
HW	4.30	0.565	0.600	0.532	0.060
HY	4.59	0.507	0.583	0.523	0.132
HA	5.26	0.713	0.717	0.643	0.007
NR	6.22	0.597	0.721	0.665	0.176
NY	6.63	0.636	0.716	0.660	0.113
NG	5.44	0.561	0.646	0.592	0.134
NL	5.96	0.675	0.734	0.677	0.082
NW	4.93	0.580	0.624	0.562	0.073
NO	4.89	0.550	0.628	0.570	0.126
NF	3.59	0.416	0.478	0.417	0.131
NK	3.78	0.358	0.465	0.412	0.234
NH	4.52	0.501	0.615	0.55	0.188
NS	4.81	0.489	0.623	0.558	0.220
NC	3.63	0.440	0.555	0.481	0.211
ND	3.96	0.493	0.584	0.512	0.159
Total	4.85	0.551	0.620	0.558	0.117

레드 계통(NC와 ND) 간이 가장 가까운 유전적 유연관계를 가지고 있는 것으로 확인되었으며, 한협 V 계통(HV)은 레그혼 계통(NF와 NK)과의 유전적 거리가 각각 0.710와 0.701로 확인되어 본 연구결과에서는 가장 먼 것으로 확인되었다. 한협의 8개 계통 간의 유전적 거리를 확인해 보면 HH와 HF 간이 가장 가까운 것(0.303)으로 확인되었으며, HV와 HY 간이 이 가장 먼 것(0.583)으로 확인되었다. 한협의 8개 계통 간의 유전적 거리의 편차가 다양하게 나타나고 있는 것은 각 계통별 비슷하거나, 서로 다른 활용 목적을 가지고 실용 축군을 조성한 것에서 기인한 것으로 사료된다. Fig. 1을 참고해 보면 HW, HS 그리고 HY는 겸용종인 로드 아일랜드 레드와 유전적 거리가 가까운 것을 확인할 수 있으며, 다른 계통들(HG, HV, HA, NF 그리고 HH)은 육용종인 코니쉬 계통들(NH와 NS)과 가까운 것을 확인할 수 있다. 한편, 한국 재래닭 집단인 5개 계통(NR, NY, NG, NL 그리고 NW)간의 유전적 거리는 NR과 NY가 가장 가까운(0.396) 것으로 확인되었으며, NW와 NL 간이 가장 먼 것으로 확인되었다. 레그혼 계통간(NF와 NK)의 유전적 거리는 0.375로 상대적으로 가까운 것으로 확인되었다. 반면, 코니쉬 계통(NH와 NS)간의 유전적 거리가 0.511로 계산되어 같은 계통이지만 비교적 먼 것으로 확인되었다. 계통별 유전적 구조를 비교 분석하기 위해 STRUCTURE software를 이용하였다. Cluster (K)를 2부터 20까지 설정하여 분석을 수행하였고, Cluster(K)가 4, 10 그리고 20으로 설정된 분석 결과를 Fig. 2에 제시하였다. K=20과 10의 분석 결과에서 한협의 8개 계통을 확인한 결과, 3개의 cluster로 구분되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 Fig. 2의 K=4 결과와 Fig. 1의 결과를 비교해 보면 한협의 8개 계통의 유전적 특성이 두 개의 분석 결과에서 유사하게

Table 5. DA genetic distance matrix estimated from the frequencies of 27 microsatellite loci among the 20 population of chicken

	HH	HF	HG	HV	HS	HW	HY	HA	NR	NY	NG	NL	NW	NO	NF	NK	NH	NS	NC
HF	0.303	-																	
HG	0.536	0.529	-																
HV	0.550	0.542	0.404	-															
HS	0.534	0.541	0.562	0.560	-														
HW	0.477	0.504	0.546	0.579	0.352	-													
HY	0.534	0.507	0.550	0.583	0.387	0.399	-												
HA	0.409	0.432	0.496	0.532	0.509	0.489	0.507	-											
NR	0.472	0.475	0.512	0.553	0.516	0.473	0.507	0.451	-										
NY	0.474	0.478	0.502	0.546	0.481	0.454	0.490	0.472	0.396	-									
NG	0.569	0.583	0.579	0.579	0.529	0.487	0.540	0.584	0.458	0.416	-								
NL	0.535	0.526	0.487	0.502	0.493	0.499	0.528	0.494	0.411	0.447	0.452	-							
NW	0.551	0.543	0.555	0.591	0.515	0.472	0.506	0.539	0.493	0.430	0.460	0.498	-						
NO	0.556	0.553	0.599	0.620	0.594	0.604	0.631	0.550	0.522	0.481	0.556	0.491	0.552	-					
NF	0.616	0.623	0.674	0.710	0.644	0.635	0.687	0.612	0.568	0.600	0.645	0.599	0.644	0.607	-				
NK	0.626	0.610	0.671	0.701	0.614	0.631	0.645	0.629	0.570	0.571	0.631	0.592	0.640	0.584	0.375	-			
NH	0.471	0.484	0.523	0.540	0.521	0.474	0.540	0.491	0.419	0.474	0.510	0.471	0.513	0.557	0.580	0.601	-		
NS	0.539	0.489	0.572	0.601	0.574	0.556	0.584	0.530	0.529	0.501	0.559	0.534	0.572	0.557	0.655	0.619	0.511	-	
NC	0.556	0.571	0.643	0.639	0.426	0.410	0.472	0.545	0.563	0.518	0.557	0.541	0.562	0.628	0.677	0.680	0.588	0.603	-
ND	0.568	0.584	0.614	0.619	0.448	0.425	0.492	0.545	0.553	0.513	0.561	0.525	0.544	0.615	0.668	0.659	0.574	0.603	0.175

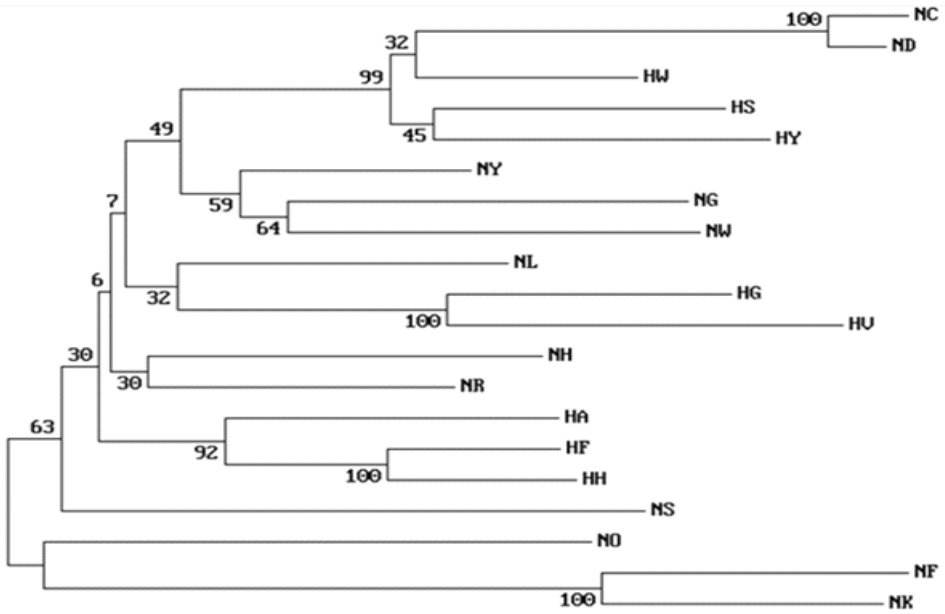

Fig. 1. Phylogenetic tree showing the genetic relations among 20 population based on DA genetic distance. The number indicate bootstrap values in percentage after 1,000 re-sampling.

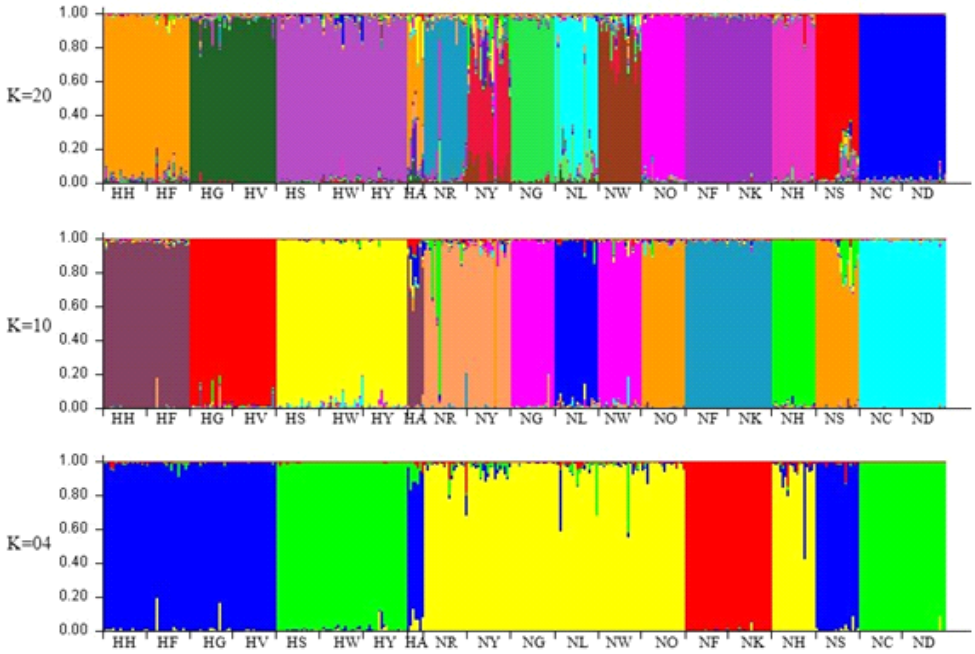

Fig. 2. Construction of genetic structure using individual cluster(K=20,10,4) among the chicken lines.

나타나고 있음을 확인할 수 있었다. 특히 Fig. 2의 K=4의 분석결과에서 로드 아일랜드 레드 계통(NC와 ND)과 HS, HW 그리고 HY 계통이 하나의 Cluster로 묶이면서 Fig. 1의 분석결과와 매우 유사한 것이 확인되었다.

27종 MS marker의 대립유전자의 빈도를 기반으로 계통별 주성분분석(Principal Components Analysis, PCA)을 수행하여 Fig. 3에 제시하였다. PCA 분석 결과는 본 연구를 통해 얻은 Phylogenetic tree(Fig. 1)와 Structure(Fig. 2) 분석을 통해 얻은 결과와 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 레그혼 계통(NK와 NF)은 다른 계통들과는 별도로 가장 멀리 떨어져 분포하고 있어, 다른 계통들과의 유전적 구성이 가장 많은 차이를 가진 것으로 확인되었다. 또한 재래닭 계통과 토착화 품종 계통들은 유전적 구성의 유사한 경향치를 가지고 분포하고 있으나, 한협의 8개 계통은 상대적으로 혼재되어 넓게

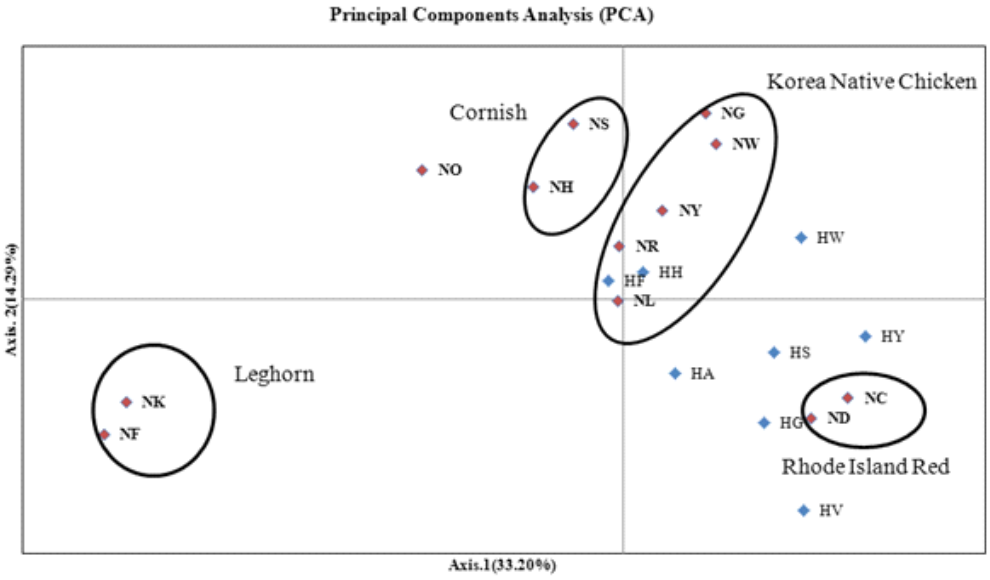

Fig. 3. PCA of allele frequencies from 27 MS marker typed in 20 population using the GenAlEx.

분포하고 있음을 확인할 수 있었다.

4. 27종의 Microsatellite Marker의 동일개체 출현확률

본 연구에 이용된 27종 MS marker의 개체식별 및 생산이력 시스템 활용 효율성을 검증하기 위해 동일개체 출현확률(Probability of Identity, PI)을 분석하여 Table 6에 제시하였다. 전체 20계통에 대한 동일개체 출현확률(PI)과 한협 8개 계통 내에서의 동일개체 출현확률(PI) 분석 결과, 총 27종의 MS marker를 사용하였을 경우, 각각 8.80×10^{-83}과 3.87×10^{-117}으로 확인되었다. 서상원 등(2013)은 토종닭 브랜드 2품종과 토착화된 화이트 레그혼, 로드아일랜드 레드 집단을 대상으로 26종의 MS marker를 분석하여 동일개체 출현확률(PI)을 1.17×10^{-49}로 보고하였으며, Choi 등(2012)은 한국 재래닭 집단을 대상으로 28개의 MS marker를 분석하여 동일개체 출현확률(PI)을 1.21×10^{-52}으로 보고하였다. 또한 Seo 등(2013)은 한국 재래닭을 대상으로 다형성 정보지수(PIC)가 높은 15 및 12개의 MS marker를 분석한 결과, 각각 7.98×10^{-29}, 1.01×10^{-20}으로 확인되었다. 본 연구에서는 한협 8개 계통을 대상으로 동일개체 출현 확률은 MS marker 15개는 1.94×10^{-66}으로, 12개는 1.58×10^{-53}으로 확인되었다. 선행된 여러 연구들에 비해 본 연구를 통해 계산된 동일 개체 출현 확률이 더 낮게 확인된 것은 본 연구가 보다 다양한 집단을 대상으로 하였으며, 다양한 교배조합을 통해 조성된 실용계 집단이 포함되어 있어 기인한 것으로 사료된다. 따라서 본 연구는 향후 소비자의 요구에 부합하는 토종닭의 개량 및 실용계 계통의 개발에 있어 토종닭 시장에서 높은 점유율을 보유한 한협의 실용계 계통의 유전적 배경과 특성 분석을 통해 개체식별 및 생산이력 시스템 활용의 기초자료로 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

요 약

Microsatellite(MS) marker는 가축의 유전적 특성 및 계통간의 유연관계 분석에 있어 많이 이용되고 있는 분자유전학적 유전표지로 유전체 상에 널리 분포하고 있으며, 높은 변별력과 검출이 간편하다. 본 연구는 한협 8개 계통과 토종닭 순계 12 계통을 대상으로 27종 MS marker의 유전자형을 분석하고, 이를 기반으로 유전적 특성 및 계통간 유연관계를 구명함으로써 한협에서 생산되고 있는 토종닭 계통들의 유전적 배경이나 특성에 대한 기초자료를 제공하고자 실시하였다. 연구 결과, 27종 MS marker 분석 결과, 평균 11.7개의 대립유전자가 확인되었으며, H_{exp}와 PIC의 경우 MCW0288이 각각 0.688, 0.646으로 가장 낮았고, MCW0104가 0.881, 0.869로 가장 높게 확인되었으며, 집단별 $F_{is}(f)$값을 통해 한협 H 계통(HH)은 집단 내 개체 간 상관 정도가 가장 적은

Table 6. The expected probability values among genotypes of random individual (PI) for discrimination chicken lines using markers

No. of marker	All Pop.	H Pop.
1	6.26×10^{-04}	3.01×10^{-05}
2	3.93×10^{-07}	1.05×10^{-09}
3	2.63×10^{-10}	3.75×10^{-14}
4	1.85×10^{-13}	1.40×10^{-18}
5	1.11×10^{-16}	5.40×10^{-23}
6	1.17×10^{-19}	2.17×10^{-27}
7	9.73×10^{-23}	9.00×10^{-32}
8	8.13×10^{-26}	3.74×10^{-36}
9	6.99×10^{-29}	1.60×10^{-40}
10	6.17×10^{-32}	7.28×10^{-45}
11	5.44×10^{-35}	3.37×10^{-49}
12	5.04×10^{-38}	1.58×10^{-53}
13	4.69×10^{-41}	7.60×10^{-58}
14	4.45×10^{-44}	3.79×10^{-62}
15	4.25×10^{-47}	1.94×10^{-66}
16	4.05×10^{-50}	9.73×10^{-71}
17	3.93×10^{-53}	5.06×10^{-75}
18	3.91×10^{-56}	2.66×10^{-79}
19	3.90×10^{-59}	1.44×10^{-83}
20	3.94×10^{-62}	7.95×10^{-88}
21	4.07×10^{-65}	4.57×10^{-92}
22	4.36×10^{-68}	2.76×10^{-96}
23	4.74×10^{-71}	1.72×10^{-100}
24	5.21×10^{-74}	1.07×10^{-104}
25	5.91×10^{-77}	7.21×10^{-109}
26	6.74×10^{-80}	5.01×10^{-113}
All 27 markers	8.80×10^{-83}	3.87×10^{-117}

All Pop: 20 Population(HH, HF, HG, HV, HS, HW, HY, HA, NR, NY, NG, NL, NW, NO, NF, NK, NH, NS, NC, ND).
H Pop : 8 Population(HH, HF, HG, HV, HS, HW, HY, HA).

것으로 확인되었다. 계통 간 유연관계를 분석한 결과, 전체 20계통 중 로드 아일랜드 레드 계통(NC와 ND)이 가장 가까운 것(0.175)으로 확인되었으며, 반면에 레그혼 F(NF)와 로드 아일랜드 레드 D(ND) 계통이 가장 먼 것(0.710)으로 확인되었다. MS marker의 효율성을 검증하기 위해 동일개체 출현확률(PI)을 분석한 결과, 전체 계통에 대한 동일개체 출현확률(PI)과 한협 8계통의 동일개체 출현확률(PI)은 27종의 MS marker를 사용하였을 경우, 각각 8.80×10^{-83}, 3.87×10^{-117}으로 확인되었다. 따라서 본 연구는 토종닭 시장에서 높은 점유율을 보유한 한협의 실용계 계통의 유전적 배경과 특성 분석을 통해 향후 소비자의 요구에 부합하는 토종닭의 개량 및 실용계 계통의 개발을 위한 기초자료로 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 Gold Seed Project 종축사업단(과제번호 : 213-005-04-WT731)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 공시축의 시료와 정보를 제공해 주신 국립축산과학원 및 한협 담당자 여러분께 감사를 드립니다.

REFERENCES

Ayres KL, Overall ADJ 2004 API-CALC 1.0: 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.

Barker JSF, Tan SG, Selvaraj OS, Mukherjee TK 1997 Genetic variation within and relationships among populations of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*). Anim Genet 28:1-13.

Choi NR, Hoque MR, Seo DW, Sultana H, Park HB, Lim HT, Heo KN, Kang BS, Jo C, Lee JH 2012 ISAG-recommended microsatellite marker analysis among five Korean native chicken lines. Journal of Animal Science and Technology 54(6):401-409.

Heo KN 2013 The importance of the origin of genetic resources and the preservation of our Korean native chickens. Korean Poultry Journal 12:130-133.

Heo KN, Choo HJ, Seo BY, Park MN, Jung KC, Hwangbo J, Kim HK, Hong EC, Seo OS, Kang BS 2011 Investigation of TYR and MC1R polymorphisms in Korean native chickens and the commercial chickens. CNU Journal of Agricultural Science 38(3):465-471.

Kong HS, Oh JD, Lee JH, Jo KJ, Sang BD, Choi CH, Kim SD, Lee SJ, Yeon SH, Jeon GJ, Lee HK 2006 Genetic variation and relationships of Korean native chickens and foreign breeds using 15 microsatellite markers. Asian-Aust J Anim Sci 11:1546-1550.

Lee HK, Oh JD, Park CH, Lee KW, Lee JH, Jeon GJ, Kong HS 2010 Comparison for genetic diversity between Korean native commercial chicken brand groups using microsatellite markers. Korean J Poult Sci 37(4):355-360.

Lee KH, Kim HJ, Lee HJ, Kang MG, Jo CU 2012 A study on components related to flavor and taste in commercial broiler and Korean native chicken meat. Korean J Food Preserv 19(3):385-392.

Lee KW, Oh JD, Lee JA, Cho KH, Nam IS, Lee JH, Seo OS, Jeon GJ, Lee HK, Kong HS 2010 Estimation of genetic characteristic and cumulative power of discrimination using the microsatellite markers in Korean native chicken. Korean J Poult Sci 37(1):81-87.

Lee MJ, Heo KN, Choi HC, Hong EC, Kim CD 2014 The performance test in crossbreds of Korean native chickens for the establishment of new lines. Korean J Poult Sci 41(1):39-44.

Oh JD, Lee KW, Seo OS, Cho BW, Jeon GJ, Lee HG, Kong HS 2010 Estimation of genetic characteristics and cumulative power of discrimination in Korean native chicken and Korean native commercial chicken. Journal of Life Science 20(7):1086-1092.

Ota T 1993. DISPAN. Pennsylvania State University, PA. USA.

Park MN, Kim TH, Lee HJ, Choi JA, Heo KN, Kim CD, Choo HJ, Han JY, Lee TH, Lee JH, Lee KT 2013 Genetic variations of chicken *MC1R* gene and associations with feather color of Korean native chicken (KNC) 'Woorimatdag'. Korean J Poult Sci 40(2):139-145.

Peakall R, Smouse PE 2006 GenAlEx 6 : Genetic analysis in excel population genetic software for teaching and research. Mol Ecol Notes 6(1):288-295.

Peelman LJ, Mortiaux F, Van Zeveren A, Dansercoer A, Mommens G, Coopman F, Bouquet Y, Burny A, Renaville R, Portetelle D 1998 Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle

breeds. Anim Genet 29:161-167.

Saitou N, Nei M 1987 The neighbor-joining method : A new method for reconstructing phylogenetic tree. Mol Biol Evol 4:406-425.

Seo DW, Hoque MR, Choi NR, Sultana H, Park HB, Heo KN, Kang BS, Lim HT, Lee, Jo C, Lee JH 2013 Discrimination of Korean native chicken lines using fifteen selected microsatellite markers. Asian-Aust J Anim Sci 26(3):316-322.

Suh SW 2014 Molecular genetic evaluation of Korean domestic animal genetic resources using microsatellite markers. Doctor's degree, Gyeongsang National University.

Suh SW, Cho CY, Kim JH, Choi SB, Kim YS, Kim H, Seong HH, Lim HT, Cho JH, KoYG 2013 Analysis of genetic characteristics and probability of individual discrimination in Korean indigenous chicken brands by microsatellite marker. Journal of Animal Science and Technology 55(3): 185-194.

Received Nov. 19, 2014, Revised Jan. 6, 2015, Accepted Jan. 29, 2015