

## 국산 종계 개발을 위한 토종 계통들의 스트레스 반응 정도 분석

손시환<sup>1\*</sup> · 조은정<sup>1</sup> · 박지애<sup>1</sup> · 홍영호<sup>2</sup> · 김종대<sup>3</sup>

<sup>1</sup>경남과학기술대학교 동물생명과학과, <sup>2</sup>중앙대학교 생명자원공학부, <sup>3</sup>농촌진흥청 국립축산과학원 가금과

### Analysis of Stress Response of Domestic Chicken Breeds for the Development of a New Synthetic Parent Stock

Sea Hwan Sohn<sup>1\*</sup>, Eun Jung Cho<sup>1</sup>, Ji Ae Park<sup>1</sup>, Young Ho Hong<sup>2</sup> and Chong Dae Kim<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science and Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Korea

<sup>2</sup>School of Bioresource and Bioscience, Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea

<sup>3</sup>Poultry Science Division, National Institute of Animal Science, RDA, Seonghwan 330-801, Korea

**ABSTRACT** We compared the degrees of stress response of 12 domestic purebred chicken strains that have been bred at National Institute of Animal Science, RDA, Korea since 1980. As a physiological marker of stress response, the expression levels of heat shock protein (HSP)-70, HSP-90 $\alpha$ , HSP-90 $\beta$ , hydroxyl-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase (HMGCR) genes and telomere length were measured by quantitative real-time polymerase chain reaction using the lymphocytes of 1,101 chickens. There was significant difference in HSP-70, HSP-90 $\alpha$ , HMGCR expression and telomere length among the strains. There was also significant difference in HSP-90 $\alpha$ , HSP-90 $\beta$ , and HMGCR expression between male and female chickens. Different age groups of chicken exhibited different expression levels of HSP-70, HSP-90 $\alpha$  and telomere length. The results of the HSPs expression level suggested that, the strains of R, L and Y were highly resistant to stress, whereas the strains of S, O and W were susceptible to stress. Although the statistical differences in some of HSPs gene expression existed between genders, the HSP expression results varied in different strains that some opposed to the others, and there might be interaction between strains and genders, which conclude that there was no difference in stress response between male and female chickens. Moreover, despite of significant difference in some of HSPs expression level, it was considered that there was no difference in stress response between ages due to the inconsistent trends among HSP markers.

(Key words : stress response, telomere length, heat shock proteins, Korean domestic chicken breeds)

## 서 론

현재 상업용 실용 육계 및 실용 산란계 생산을 위한 종계는 소수의 글로벌 육종 회사가 독점하고 있는 실정으로 국내에서도 실용계 생산을 위한 종계는 이들 기업들로부터 거의 전량 수입하고 있다. 또한 이들 기업이 보유한 종계에 대한 육종 정보나 순계 유전자원의 반출을 엄격히 제한함에 따라 도입 품종에 대한 개량은 거의 불가능한 실정이다. 그러므로 최근 국가별 자국의 유전자원을 활용한 신품종 개발 연구가 활발히 이루어지고 있고, 국내에서도 2013년부터 종자개발 중장기 계획(Golden Seed Project)을 수립하고 종축 분야에서도 국산 종계 개발사업을 추진하게 되었다. 본 사

업은 국내 가금종자의 해외 종속 문제를 해결하기 위하여 토착종을 포함한 국내 보유 토종닭의 유전자원을 이용하여 우수 품종 작출을 위한 국산 종계를 개발하고자 하는 것이다. 국내 보유 토종닭의 대표적 품종 및 계통들로서는 농촌진흥청 국립축산과학원에서 보유하고 있는 한국재래닭 5계통과 토착화된 7개의 외래품종이 있는데, 이들 중 한국재래닭 5계통은 1992년부터 1994년까지 전국 각지에서 수집한 재래닭을 대상으로 기초 계군을 조성하고, 선발에 의하여 10세대 이상 계대 번식하여 고정화된 계통이다(Kim et al., 2010). 한국재래닭 5계통은 깃털색에 따라 적갈색종, 황갈색종, 흑색종, 백색종 및 회갈색종으로 분류된다. 이들의 생산 능력은 1993년 축산시험장에서 보고한 바에 의하면 초산일

\* To whom correspondence should be addressed : shsohn@gntech.ac.kr

령은 147일, 270일령 산란 수는 76개, 초산 및 270일령 난중은 각각 32 g 및 48 g이며, 22주령 체중 및 38주령 체중은 각각 1,660 g과 1,850 g이었다. 이후 지속적 선발로서 2008년에 이들의 산란 수는 연간 180개 내외, 난중은 52 g정도, 16주령 체중은 1,240~1,711 g, 사료요구율은 3.78~5.21로 괄목할만한 개량의 효과가 있었음을 보고하였다(Park et al., 2010; Kang et al., 2011). 지금까지 이러한 재래닭을 이용하여 생산 능력이 우수한 실용계를 작출하고자 하는 다양한 교잡 시험들이 수행되어 왔고, 특히 토종닭의 우수한 육질을 이용하여 우리 입맛에 맞는 고기 맛을 살리면서 육용종으로서 생산성을 높이고 자 하는 많은 연구들이 수행되고 있다(Park et al., 2010; Kang et al., 2011; Hong et al., 2012; Lee et al., 2013). 그러나 토종닭에 대한 생리적 특성이나 환경 적응성 및 질병 저항성과 같은 질적 형질에 대한 연구는 상대적으로 미흡한 실정이다.

닭이 지속적 스트레스를 받게 되면 대사 복합체계의 균형이 무너지고 항산화 방어체계 기능이 약화되어 건강과 생산성이 저하된다고 한다(Puvadolpirod and Thaxton, 2000). 닭의 스트레스 반응 정도는 사육 환경에 따른 차이가 큰 것으로 알려져 있으나, 동일한 환경 조건에서 유전적 요인에 따른 품종 간 차이도 큰 것으로 보고되고 있다(Thaxton et al., 2006; Cahaner et al., 2008; Tactacan et al., 2009; Keles et al., 2010; Sherwin et al., 2010; Tuytens et al., 2011; de Hass et al., 2013; Sohn et al., 2014). 일반적으로 백색계가 유색계에 비해 스트레스에 민감하게 반응하는 것으로 보고되고 있는데(Albentosa et al., 2003; Fraisse and Cockrem, 2006; Star et al., 2008; Uitdehaag et al., 2011), 최근 백색레그혼종과 한국재래닭 적갈색종 간의 밀사 스트레스에 따른 반응 정도를 비교 분석한 결과 단관백색레그혼종이 한국재래닭에 비해 스트레스에 보다 민감하게 반응한다고 하였다(Sohn et al., 2014). 닭의 스트레스 정도를 가늠할 수 있는 대표적 예측 표지로서 혈액생화학적 지표(Mashaly et al., 1984; Zulkifli et al., 1999; Turkyilmaz, 2008; Kang et al., 2011; Soleimani et al., 2011), 혈장 코티코스테론 농도(Korte et al., 2005; Fraisse and Cockrem, 2006; Mack et al., 2013), 항산화 요산 농도(Munck et al., 1984; Star et al., 2008), 혈장 3,5,3'-triiodothyronine 농도(Yahav et al., 1998; Uni et al., 2001; Mack et al., 2013), 세로토닌(5-HT) 농도(Bolhuis et al., 2009; Uitdehaag et al., 2011; de Haas et al., 2013)와 DNA 관련 지표로서 텔로미어 함유율, DNA 손상을 및 열 스트레스 단백질 발현 등이 소개되고 있다(Kregel, 2002; Gornati et al., 2004; Chen et al., 2007; Beloor et al., 2010; Soleimani et al., 2011; Sohn

et al., 2012).

따라서 본 연구에서는 국산 종계 개발을 위한 모본 선택의 기초 자료로서 국내 토종닭들의 품종 및 계통 간 스트레스 반응 정도를 살펴보고자 국립축산과학원에서 보유하고 있는 토종닭 암수 12계통에 대해 동일 사양관리 조건하에서 이들의 백혈구 세포의 텔로미어 함량, heat shock proteins(HSPs) 및 hydroxyl-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase(HMGCR) 유전자 발현율을 분석하여 품종 간, 연령 간 및 성 간 스트레스 반응 정도를 비교 고찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시동물 및 분석 시료

품종 간 스트레스 정도를 비교 분석하기 위하여 농촌진흥청 국립축산과학원에서 보유한 한국재래닭 5계통과 토착화된 외래 7계통으로 L(재래닭 흑색종), W(재래닭 백색종), G(재래닭 회갈색종), Y(재래닭 황갈색종), R(재래닭 적갈색종), F(백색레그혼종), K(백색레그혼종), O(오골종), C(로드아일랜드레드종), D(로드아일랜드레드종), S(코니시 황갈색종) 및 H(코니시 흑색종)계통 총 1,205수를 공시하였다. 계통별 암수 약 100수씩을 분석 대상으로 하고 36주령 및 74주령 개체 총 1,101수에 대한 혈액 시료를 채취하였다. 계통 별 공시 개체 수 및 분석 표본 수는 Table 1과 같다. 분석 대상 모든 시험계들의 사양관리는 동일 조건으로 사육하였는데 발생 시부터 12주간 평사케이지에서 육성하고, 이후 산란기 동안 강제 환기 및 자동 온도 조절 시스템이 완비된 무창 계사 내 단사 케이지에 사육하였다. 사료 급여는 사육단계별 한국가금사 양표준(2007)의 산란종계 사양 표준에 따라 급여하고, 점등 관리 및 백신 접종과 기타 사양관리는 국립축산과학원 닭 사양 관리체계에 따라 수행하였다.

텔로미어 함량 분석, HSPs 및 HMGCR 발현을 분석은 혈액으로부터 시료를 분리하여 이용하였다. 혈액은 공시된 모든 개체의 익 정맥으로부터 채혈하였고, 시험에 관련된 닭의 관리 및 취급은 본 기관의 동물실험윤리위원회의 규정을 준수하였다.

### 2. Telomere, HSP 및 HMGCR 유전자 발현 분석

시험계들의 telomere, HSPs 및 HMGCR 유전자 발현 분석을 위하여 개체의 혈액으로부터 RNA를 분리하였다. 채혈 직후 Histopaque(Sigma Chem, St Louis, MO, USA)을 이용하여 순수 백혈구를 분리하였고, 분리한 백혈구 세포는 QIAamp<sup>®</sup> RNA Blood Mini Kit(Qiagen GmbH, Hilden, Germany)를 이

**Table 1.** Number of chickens and samples in Korean domestic chicken breeds for analysis of gene expression of heat shock proteins and telomere length

No.	Line	♀		♂		Total	
		No. of chickens	No. of analyzed samples	No. of chickens	No. of analyzed samples	No. of chickens	No. of analyzed samples
1	L	50	49	50	40	100	89
2	W	50	48	50	44	100	92
3	G	50	48	50	48	100	96
4	Y	54	48	52	47	106	95
5	R	45	44	50	46	95	90
6	F	51	47	50	50	101	97
7	K	50	45	50	47	100	92
8	O	50	49	50	48	100	97
9	C	48	41	50	48	98	89
10	D	50	37	50	47	100	84
11	S	50	36	50	47	100	83
12	H	48	45	57	52	105	97
total		596	537	609	564	1,205	1,101

용하여 RNA를 추출하고 cDNA를 합성하였다. cDNA 합성은 reverse transcription system(Promega, Fitchburg, WI, USA)을 이용하였으며 primer는 oligo(dT)를 이용하였다. 반응물 조성은 RNA 1.5 µg, buffer 4 µL, MgCl<sub>2</sub>(25 mM) 3 µL, dNTP(2.5 mM) 1 µL, reverse transcriptase 1 µL, primer 0.5 µL로 total volume은 DEPC로 20 µL로 맞추었다. 이들 반응물은 25°C에서 5분간 접합과정과 42°C에서 60분간 확장과정을 거쳐 cDNA를 합성하고, 이후 70°C에서 15분간 열처리를 하여 역전사 효소를 불활성화 시켰다. Real-time PCR을 위한 primer 제작은 reference gene(Actin) 및 Telomere, HSP-70, -90α, -90β 및 HMGCRC를 표적유전자(target gene)로 하여 primer-dimer가 형성되지 않도록 제작하였다(Table 2). Quantitative PCR은 real-time PCR machine(Model LC480, Roche, Mannheim, Germany)을 이용하여 cDNA 5 µL(10 ng/µL), primer(5 pmol/µL) 각각 0.5 µL, SYBR Green(Roche, GmbH, Mannheim, Germany) 10 µL, ddH<sub>2</sub>O 5 µL를 넣어 최종 volume이 20 µL이 되도록 하고, 95°C에서 5분 처리하여 최초 변성 시킨 후 95°C 10초 변성, 60°C 30초 접합, 72°C 10초간 신장 반응을 40회 반복하면서 진행 중 실시간 형광 모니터링하였다. Tm값의 측정은 LightCycler® 480 software v1.5(Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 분석하였다. Reference gene

을 이용한 각 표적유전자의 상대적 정량값은 Livak and Schmittgen(2001)이 제시한  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  방법으로 분석하였다.

### 3. 통계분석

품종별 telomeric DNA 함량, HSPs 및 HMGCRC 유전자 발현율의 통계 분석은 SAS 통계패키지(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)의 GLM procedure로서 처리 간 유의성을 검정하고, 처리 평균값 간의 다중검정은 Tukey's HSD 검정 방법을 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 품종 및 계통 별 스트레스 반응 정도 분석

본 시험에 공시한 토종닭 12계통에 대한 HSP-70, HSP-90α, HSP-90β 및 HMGCRC의 유전자 발현량과 텔로미어 함유율의 분석 결과를 Table 3과 Table 4에 제시하였다. 분석 결과 모든 열 스트레스 단백질 발현량과 텔로미어 함유율에 있어 계통 간 유의한 차이를 보이나 단지 암컷의 HSP-90β의 발현 값만 계통 간 차이가 없는 것으로 나타났다. 연령을 무시한 경우 암컷에서 S, O, W 계통의 HMGCRC, HSP-90α 및 HSP-70의 발현율이 다른 계통에 비해 유의적으로 증가된

**Table 2.** The primers of telomere, HSPs and HMGR for the semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction

Genes	Primer	Sequence(5'-3')	Size	Tm(°C)
Telomere	Forward	CGGTTTGTGGTTGGGTTGGGTTGGGTTGGGTTGGGTT	>76 bp	60
	Reverse	GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT		
HSP-70	Forward	ATGCTAATGGTATCCTGAACG	145 bp	60
	Reverse	TCCTCTGCTTTGTATTCTCTG		
HSP-90 $\alpha$	Forward	CAGAAGATGAAGAGAAGAAGA	133 bp	60
	Reverse	GGAGAAGTTACCAAGCGATT		
HSP-90 $\beta$	Forward	TGTAGTAATGGCGAACCTAA	84 bp	60
	Reverse	TCAGAGCGTAAGACCTAAC		
HMGR	Forward	GAGGCAGAGCAAGATGAAG	113 bp	60
	Reverse	GCAGGACAGTAGGTGAGT		
Actin	Forward	CCACCGCAAATGCTTCTA	96 bp	60
	Reverse	GCCAATCTCGTCTTGTTTTATG		

**Table 3.** Gene expression of HMGR, HSPs and telomere in females of Korean domestic chicken breeds

Line	Age (wks)	HMGR		HSP-90 $\alpha$		HSP-90 $\beta$		HSP-70		Telomere	
		$\Delta Ct^\dagger$	$2^{-\Delta\Delta Ct}^\ddagger$	$\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	$\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	$\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	$\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
L	36	5.99±2.27 <sup>bc</sup>	0.47	11.34±1.97 <sup>c</sup>	0.87	22.16±1.82	1.21	-0.57±0.55 <sup>b</sup>	1.13	0.79±0.66 <sup>c</sup>	1.46
W	36	5.87±2.08 <sup>bc</sup>	0.52	11.13±1.46 <sup>c</sup>	1.01	22.07±3.58	1.29	-0.29±0.83 <sup>ab</sup>	0.93	1.72±1.06 <sup>a</sup>	0.77
G	36	7.21±2.68 <sup>ab</sup>	0.20	10.61±1.73 <sup>c</sup>	1.46	22.12±2.28	1.25	-0.58±0.65 <sup>b</sup>	1.14	0.87±0.70 <sup>c</sup>	1.39
F	36	6.70±1.75 <sup>abc</sup>	0.29	11.37±1.42 <sup>bc</sup>	0.85	23.07±2.66	0.64	-0.62±0.74 <sup>b</sup>	1.17	1.33±1.69 <sup>abc</sup>	1.01
K	36	6.96±6.57 <sup>abc</sup>	0.24	10.94±1.80 <sup>c</sup>	1.15	21.61±2.48	1.77	-0.54±0.76 <sup>b</sup>	1.11	0.72±0.96 <sup>c</sup>	1.54
O	36	6.50±2.42 <sup>abc</sup>	0.33	11.17±1.97 <sup>c</sup>	0.99	22.04±6.76	1.32	-0.70±0.62 <sup>b</sup>	1.24	1.00±1.69 <sup>bc</sup>	1.27
D	36	7.70±2.45 <sup>ab</sup>	0.15	12.72±1.76 <sup>a</sup>	0.33	22.07±3.04	1.29	-0.20±0.81 <sup>ab</sup>	0.87	1.00±0.75 <sup>bc</sup>	1.27
Y	74	6.48±1.85 <sup>abc</sup>	0.34	12.58±1.29 <sup>a</sup>	0.37	22.52±2.28	0.94	0.04±0.87 <sup>a</sup>	0.74	1.70±0.83 <sup>ab</sup>	0.79
R	74	8.63±5.16 <sup>a</sup>	0.08	10.77±1.47 <sup>c</sup>	1.30	21.44±3.29	1.99	-0.50±0.76 <sup>ab</sup>	1.07	0.83±0.68 <sup>c</sup>	1.43
C	74	7.09±2.20 <sup>abc</sup>	0.22	11.71±1.53 <sup>abc</sup>	0.67	23.14±3.44	0.61	-0.17±0.79 <sup>ab</sup>	0.85	1.29±0.61 <sup>abc</sup>	1.03
H	74	8.00±3.04 <sup>ab</sup>	0.12	12.47±1.63 <sup>ab</sup>	0.40	22.18±2.61	1.20	-0.46±0.82 <sup>ab</sup>	1.04	0.73±1.32 <sup>c</sup>	1.36
S	74	4.92±0.67 <sup>c</sup>	1	11.15±1.56 <sup>c</sup>	1	22.44±3.20	1	-0.40±1.33 <sup>ab</sup>	1	1.34±0.79 <sup>abc</sup>	1
<i>p</i> value		<0.0001		<0.0001		0.4639		<0.0001		<0.0001	

Values are mean±standard deviation.

The different letters within column significantly differ

<sup>†</sup>  $\Delta Ct$  value which is equal to the difference in threshold cycles for target and internal control gene.

<sup>‡</sup>  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  value which indicates the fold change in gene expression relative to the control.

양상이고, 반면 Y, R 계통은 대부분의 열 스트레스 단백질의 발현율이 다른 계통에 비해 낮게 나타났다. 또한, R 계통의 경우 동일 연령에서 가장 높은 텔로미어 함유율을 나타

낸 반면, W 계통의 경우 상대적으로 텔로미어 함량이 가장 낮게 나타났다. 그러나 동일 연령에서 계통 간 열 스트레스 단백질 발현율의 차이는 거의 없는 것으로 보인다. 이상 열

**Table 4.** Gene expression of HMGCRC, HSPs and telomere in males of Korean domestic chicken breeds

Line	Age (wks)	HMGCRC		HSP-90 $\alpha$		HSP-90 $\beta$		HSP-70		Telomere	
		$\Delta$ Ct	2 $^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	2 $^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	2 $^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	2 $^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	2 $^{-\Delta\Delta$ Ct}
L	36	8.88 $\pm$ 5.82 <sup>a</sup>	0.24	12.97 $\pm$ 5.20 <sup>a</sup>	0.24	18.30 $\pm$ 6.06 <sup>b</sup>	16.2	-0.65 $\pm$ 0.84 <sup>bc</sup>	1.20	1.17 $\pm$ 0.73 <sup>ab</sup>	0.93
W	36	7.23 $\pm$ 2.65 <sup>ab</sup>	0.74	11.70 $\pm$ 1.48 <sup>ab</sup>	0.58	22.39 $\pm$ 1.80 <sup>a</sup>	0.96	-0.37 $\pm$ 0.83 <sup>abc</sup>	0.98	1.34 $\pm$ 0.93 <sup>ab</sup>	0.83
G	36	6.49 $\pm$ 2.44 <sup>b</sup>	1.23	11.89 $\pm$ 2.18 <sup>ab</sup>	0.51	21.92 $\pm$ 2.66 <sup>a</sup>	1.32	-0.53 $\pm$ 0.57 <sup>bc</sup>	1.10	0.97 $\pm$ 0.78 <sup>ab</sup>	1.06
F	36	6.68 $\pm$ 2.63 <sup>b</sup>	1.08	11.80 $\pm$ 1.93 <sup>ab</sup>	0.54	22.44 $\pm$ 2.42 <sup>a</sup>	0.92	-0.63 $\pm$ 1.12 <sup>bc</sup>	1.18	0.77 $\pm$ 1.23 <sup>b</sup>	1.22
K	36	6.57 $\pm$ 2.88 <sup>b</sup>	1.17	11.68 $\pm$ 1.42 <sup>ab</sup>	0.59	21.62 $\pm$ 2.21 <sup>a</sup>	1.62	-0.36 $\pm$ 1.00 <sup>abc</sup>	0.98	1.21 $\pm$ 0.98 <sup>ab</sup>	0.90
O	36	7.51 $\pm$ 4.58 <sup>ab</sup>	0.61	11.55 $\pm$ 2.22 <sup>ab</sup>	0.65	22.07 $\pm$ 2.12 <sup>a</sup>	1.19	-0.76 $\pm$ 0.62 <sup>c</sup>	1.29	0.70 $\pm$ 0.96 <sup>b</sup>	1.28
Y	36	7.17 $\pm$ 2.82 <sup>ab</sup>	0.77	11.66 $\pm$ 1.72 <sup>ab</sup>	0.60	21.70 $\pm$ 4.42 <sup>a</sup>	1.54	-0.14 $\pm$ 0.95 <sup>ab</sup>	0.84	1.53 $\pm$ 1.65 <sup>a</sup>	0.72
R	36	6.80 $\pm$ 2.71 <sup>b</sup>	1.05	10.50 $\pm$ 1.76 <sup>b</sup>	1.34	23.39 $\pm$ 4.18 <sup>a</sup>	0.48	0.09 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>	0.72	1.13 $\pm$ 0.99 <sup>ab</sup>	0.95
C	36	7.85 $\pm$ 2.61 <sup>ab</sup>	0.48	11.85 $\pm$ 2.07 <sup>ab</sup>	0.52	23.09 $\pm$ 3.19 <sup>a</sup>	0.59	-0.21 $\pm$ 0.83 <sup>abc</sup>	0.88	1.26 $\pm$ 1.46 <sup>ab</sup>	0.87
H	36	7.59 $\pm$ 2.33 <sup>ab</sup>	0.57	11.25 $\pm$ 3.93 <sup>ab</sup>	0.61	22.29 $\pm$ 2.74 <sup>a</sup>	1.02	-0.38 $\pm$ 1.07 <sup>abc</sup>	0.99	0.96 $\pm$ 1.30 <sup>ab</sup>	1.07
S	36	6.80 $\pm$ 0.91 <sup>ab</sup>	1	10.92 $\pm$ 1.51 <sup>b</sup>	1	22.32 $\pm$ 2.95 <sup>a</sup>	1	-0.39 $\pm$ 0.68 <sup>abc</sup>	1	1.06 $\pm$ 0.80 <sup>ab</sup>	1
p value		0.0034		0.0039		<0.0001		0.0002		0.0005	

Values are mean $\pm$ standard deviation.

The different letters within column significantly differ.

$\Delta$ Ct value which is equal to the difference in threshold cycles for target and internal control gene.

2 $^{-\Delta\Delta$ Ct value which indicates the fold change in gene expression relative to the control.

스트레스 단백질 발현율과 텔로미어 길이의 분석 결과에 따라 12계통의 암컷 중 S, O, W 계통이 상대적으로 스트레스에 민감한 계통으로 판단되고, Y, R 계통이 스트레스에 둔감하게 반응하는 계통으로 사료된다. 한편, 숫컷의 경우 HSP 지표 간 다소의 차이는 있으나 12계통 중 R과 L계통이 2개 이상의 열 스트레스 단백질 지표에서 유의하게 낮은 발현율을 나타내어 이들 계통이 분석된 계통 중 상대적으로 스트레스 저항성 계통으로 판단된다. 그러나 HSP 지표들에 있어 공통적으로 높은 발현율을 나타내는 계통은 없는 것으로 사료되어 숫컷에서 스트레스에 상대적으로 민감하게 반응하는 계통의 판단에는 어려움이 있다. 따라서 암수 공히 재래닭 적갈종(R 계통)이 분석된 모든 계통 중 가장 스트레스 반응이 낮은 것으로 보여지고, 반면 코니시 황색종, 오킴 및 재래닭 백색종은 상대적으로 스트레스에 민감한 계통으로 사료된다.

본 분석에 이용한 열 스트레스 단백질(HSP)들은 열 스트레스에 반응하여 합성되는 특이 단백질들로서 개체의 스트레스 정도가 높아지면 이의 발현율이 증가한다고 알려져 있다(Schlesinger, 1986; Zulkifli et al., 2002). 또한 HMGCRC는 cortisol의 생합성을 조절하는 인자로서 이 또한 개체에 스트레스가 가해지면 발현량이 증가한다(Gornati et al., 2004). 닭

에 있어서도 밀사와 제한급이와 같은 인위적 스트레스를 가했을 때 HSP-70, HSP-90 $\alpha$ , HSP-90 $\beta$  및 HMGCRC 유전자의 발현율이 대조구에 비해 유의하게 증가되고 텔로미어 길이의 감축정도 또한 증가함으로 이들을 닭의 스트레스 정도를 가늠할 수 유효한 표지로 제시하였다(Beloor et al., 2010; Sohn et al., 2012). 이들 중 특히 닭의 경우 스트레스 환경에서 HSP-70, HSP-90 $\alpha$  및 HMGCRC의 발현량이 증가하고 HSP-90 $\beta$ 의 발현량은 큰 차이가 없다고 보고하고 있는데 이는 닭에서 HSP-90 $\beta$ 의 기능과 조절 양상이 척추동물과는 다르기 때문인 것으로 알려져 있다(Meng et al., 1993). 일부 연구에서 닭에서 HSP-90 $\beta$ 의 조절은 열 스트레스에 의해 발현이 촉진되지 않는 것으로 보고하고 있다. 이러한 양상은 본 연구 결과에서도 동일하게 나타났다. 한편, 백색레그혼종과 한국재래닭 간 품종별 고밀도 사육과 대조구 간에 각 조직으로부터 HSP-70, HSP-90 $\alpha$ , HSP-90 $\beta$  및 HMGCRC 유전자의 mRNA 발현율을 비교 분석한 바 HMGCRC를 제외한 대부분의 유전자들에서 품종 간 및 사육밀도 간 발현량의 차이를 나타내었는데 백색레그혼종이 재래닭에 비해, 고밀도 사육 처리구가 대조구에 비해 스트레스 반응 정도가 높게 나타남을 보고하였다(Sohn et al., 2014). 또한 개량된 실용브로일

러가 토종닭이나 야계들에 비해 열 스트레스 조건에서 HSP-70의 발현율이 높아 개량이 진행된 개체의 스트레스 반응 정도가 자연 상태의 개체들에 비해 상대적으로 높다고 보고하였다(Yahav et al., 1998; Sandercock et al., 2006; Cahaner et al., 2008; Soleimani et al., 2011). 더불어 백색레그혼 계통과 유색계의 스트레스 저항성 비교에서도 백색계가 유색계에 비해 스트레스 반응 정도가 민감하다고 하였다(Fraisse and Cockrem, 2006; Star et al., 2008; Uitdehaag et al., 2011; de Haas et al., 2013). 일반적으로 집단의 스트레스 반응 정도를 가늠할 수 있는 가장 대표적인 지표가 생존율이라 할 수 있겠다. 그러나 본 연구에서 공시한 12계통 간의 육추시 생존율, 육성을 및 성계 생존율의 차이는 나타나지 않았다. 그러므로 생리적 스트레스 표지에 의한 품종 간 내재적 스트레스 반응 정도를 분석한 결과 HSPs 표지들 간의 발현율 차이는 다소 있으나 항목간 유사한 경향을 보이고, 텔로미어 길이와 이들 발현율의 양상과도 대체적으로 일치하는 경향을 보임에 따라 육용종이나 애완종이 한국재래닭에 비해 상대적으로 스트레스에 민감한 품종으로 판단된다. 이상 국내 토종닭들의 품종 및 계통 간 스트레스 반응 정도의 결과에 따라 한국재래닭을 기반으로 국산 중계 개발을 위한 모본 선택에서 생산 능력과 더불어 환경 적응성이 뛰어난 스트레스 저항성 계통 육성이 이루어질 수 있을 것으로 사료된다.

## 2. 연령에 따른 스트레스 반응 정도 분석

닭 연령에 따른 스트레스 반응 정도를 비교하기 위하여 36주령 및 74주령 암컷 개체들을 대상으로 HSP-70, HSP-90 $\alpha$ , HSP-90 $\beta$  및 HMGR의 유전자 발현율과 텔로미어 함량을 분석하였다.

분석 결과 Table 5에서와 같이 HSP-70의 경우 36주령 개체들이 74주령 개체들에 비해 다소 높은 발현율을 보였고, 반면 HSP-90 $\alpha$ 는 74주령 개체들이 36주령 개체들에 비해 높

게 나타났다. 그러나 HMGR 및 HSP-90 $\beta$ 의 경우 연령 간 차이는 나타나지 않았다. 한편 텔로미어 함유율은 36주령 개체들이 74주령 개체들에 비해 유의적으로 높은 함유율을 보였다. 이러한 결과는 연령에 따른 스트레스 반응 정도를 열 스트레스 단백질 발현 지표로 비교 고찰하기에는 다소 어려움이 있는 것으로 보여진다. 닭의 연령 간 스트레스 반응 정도를 H:L ratio, 코티코스테론 농도, 3,5,3'-triiodothyronine 농도, 세로토닌 농도와 같은 생리학적 지표 및 긴장성 부동과 같은 행동학적 지표로 분석한 여러 연구들이 있으나 연구자에 따라 상이한 결과들을 제시하고 있다. 발생 직후 병아리들의 H:L ratio가 8일령 개체에 비해 유의적으로 높게 나타나 발생 직후에 스트레스 민감도가 높다고 하였다(Zulkifli and Siegel, 1994). 한편 유추기인 4, 6주령 개체들의 epinephrine, norepinephrine 및 serotonin의 농도가 12주령 개체에 비해 현저하게 높게 나타남으로 유추기 때의 급성 스트레스 반응이 중추기에 비해 민감하다고 하였으나, corticosterone 농도나 H:L ratio는 연령에 따른 차이가 없어 유추기와 중추기 간 지속 스트레스 반응의 차이는 없다고 하였다(Yan et al., 2013). 반면 비슷한 연령대의 또 다른 연구에서 H:L ratio가 2주령에 비해 18주령에서 더욱 높게 나타났고(De Jong et al., 2000), 20주령에 비해 36주령이 더욱 높게 나타났는데 특히, 성 성숙을 기점으로 이들 비율이 증가하고 산란 피크기에 스트레스 반응이 가장 민감함을 제시하였다(Campo and Davila, 2002). 이러한 양상은 긴장성 부동의 측정에서도 동일한 결과를 제시하고 있다(Hansen et al., 1992). 산란기 동안 스트레스 반응을 비교 분석하기 위하여 Davis et al.(2000)은 실용 산란계인 Hyline and DeKalb를 대상으로 20주령부터 68주령까지 연령별 스트레스 반응도와 63주령 때 강제 환우를 하였을 때 스트레스 반응도를 H:L ratio, corticosterone 및 thyroid 호르몬으로 비교 분석하였다. 분석 결과 H:L ratio는 환우 직후 급격한 증가를 제외하고 산란 피크기부터 62주령까지

**Table 5.** The effect of age on gene expressions of HMGR, HSPs and telomere in Korean domestic chicken breeds

Age (wks)	HMGR		HSP-90 $\alpha$		HSP-90 $\beta$		HSP-70		Telomere	
	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}
36	6.80 $\pm$ 3.43	1.05	11.71 $\pm$ 1.53 <sup>a</sup>	0.97	22.18 $\pm$ 3.61	1.07	-0.55 $\pm$ 0.70 <sup>b</sup>	1.20	0.95 $\pm$ 1.18 <sup>b</sup>	1.27
74	6.87 $\pm$ 3.10	1	11.66 $\pm$ 1.63 <sup>b</sup>	1	22.28 $\pm$ 3.10	1	-0.29 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	1	1.29 $\pm$ 0.90 <sup>a</sup>	1
<i>p</i> value	0.8077		0.0164		0.7296		0.0002		0.0003	

Values are mean $\pm$ standard deviation.

The different letters within column significantly differ.

$\Delta$ Ct value which is equal to the difference in threshold cycles for target and internal control gene.

$2^{-\Delta\Delta$ Ct value which indicates the fold change in gene expression relative to the control.

거의 차이가 없었고, corticosterone의 농도는 산란피크기에 증가 후 다소 감소하다가 산란후기부터 다시 증가하는 양상을 보이며, thyroxine 농도 또한 corticosterone과 거의 비슷한 양상을 나타내었다고 하였다. 따라서 환우에 따른 급격한 스트레스 반응을 제외하고 산란피크기 때 스트레스 반응이 상승하고 이후 다소 감소하다가 연령이 증가하면서 서서히 스트레스 민감도가 높아짐을 제시하였다. 이상의 결과들을 토대로 본 연구에서 36주령과 74주령 개체를 대상으로 스트레스 반응도를 HSPs로 비교 분석한바 일부 지표 간에 다소 차이는 있으나 일관된 경향치를 보이지 않았고 나머지 지표들에서 유의적 차이가 없음에 따라 산란피크기인 36주령과 산란말기인 74주령 간 스트레스 정도의 차이는 없는 것으로 사료된다. 한편 텔로미어의 함량은 연령이 증가하면서 점진적으로 감소되는데 이러한 양상은 거의 모든 생물체의 노화에 따른 공통적인 양상이다(Meeker and Coffey, 1997; Cottliar and Slavutsky, 2001; Von Zglinicki, 2002; Richter and Proctor, 2007). 닭에 있어서도 발생 직후부터 연령이 증가하면서 지

속적 텔로미어 감축이 진행되고 특히 사육 중 외적 스트레스 요인들이 가해지면 이의 감축 속도가 한결 촉진되는 것으로 알려져 있다(Sohn and Subramani, 2014). 본 연구에서 74주령 개체들의 텔로미어 함량이 36주령 개체에 비해 유의적으로 낮게 나타났는데 이는 스트레스와 같은 외적 요인에 의한 반응 정도의 차이보다는 연령 증가에 기인한 노화에 따른 본질적 차이로 사료된다.

### 3. 성에 따른 스트레스 반응 정도 분석

닭 암수 간 스트레스 반응 정도를 비교하기 위하여 36주령 6계통의 암수 563개체를 대상으로 HSP-70, HSP-90 $\alpha$ , HSP-90 $\beta$  및 HMGCR의 유전자 발현율과 텔로미어 함량을 분석하였다. 분석 결과 전체 계종을 대상으로 하였을 때 HSP-90 $\alpha$  및 HMGCR의 유전자 발현율은 암컷이 수컷보다 높았고, HSP-90 $\beta$ 의 경우 반대로 수컷이 암컷보다 높았으며, HSP-70이나 텔로미어 함량의 경우는 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 6). 그러나 동일 품종 내 암수 간 이들 유전자들의 발현율을

**Table 6.** The effect of sex on gene expressions of HMGCR, HSPs and telomere in Korean domestic chicken breeds

Line	Sex	HMGCR		HSP-90 $\alpha$		HSP-90 $\beta$		HSP-70		Telomere	
		$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}
L	♀	5.99±2.27 <sup>b</sup>	1	11.34±1.97 <sup>b</sup>	1	22.16±1.82 <sup>a</sup>	1	-0.57±0.55	1	0.79±0.66	1
	♂	8.88±5.82 <sup>a</sup>	0.13	12.97±5.20 <sup>a</sup>	0.32	18.30±6.06 <sup>b</sup>	14.52	-0.65±0.84	1.06	1.17±0.73	0.77
W	♀	5.87±2.08	1	11.13±1.46	1	22.07±3.58	1	-0.29±0.83	1	1.72±1.06	1
	♂	7.23±2.65	0.39	11.70±1.48	0.67	22.39±1.80	0.80	-0.37±0.83	1.06	1.34±0.93	1.30
G	♀	7.21±2.68	1	10.61±1.73	1	22.12±2.28 <sup>a</sup>	1	-0.53±0.57	1	0.97±0.78	1
	♂	6.49±2.44	1.65	11.89±2.18	0.41	21.92±2.66 <sup>b</sup>	1.15	-0.54±0.76	1.01	0.72±0.96	1.19
F	♀	6.70±1.75	1	11.37±1.42	1	23.07±2.66	1	-0.62±0.74	1	1.33±1.69	1
	♂	6.68±2.63	1.01	11.80±1.93	0.74	22.44±2.42	1.55	-0.63±1.12	0.99	0.77±1.23	1.47
K	♀	6.96±6.57	1	10.94±1.80	1	21.61±2.48	1	-0.54±0.76	1	0.72±0.96	1
	♂	6.57±2.88	1.31	11.68±1.42	0.60	21.62±2.21	0.99	-0.36±1.00	0.88	1.21±0.98	0.71
O	♀	6.50±2.42	1	11.17±1.97	1	22.04±6.76	1	-0.70±0.62	1	1.00±1.69	1
	♂	7.51±4.58	0.50	11.55±2.22	0.77	22.07±2.12	0.98	-0.76±0.62	1.04	0.70±0.96	1.23
Total	♀	6.53±2.97 <sup>b</sup>	1	11.09±1.73 <sup>b</sup>	1	22.18±3.45 <sup>a</sup>	1	-0.56±0.69	1	1.07±1.13	1
	♂	7.18±3.49 <sup>a</sup>	0.64	11.90±2.41 <sup>a</sup>	0.57	21.54±2.88 <sup>b</sup>	1.56	-0.55±0.83	0.99	1.01±0.94	1.04
<i>p</i> value		0.0263		<0.0001		0.0164		0.9434		0.5770	

Values are mean±standard deviation.

The different letters within column in lines significantly differ.

$\Delta$ Ct value which is equal to the difference in threshold cycles for target and internal control gene.

$2^{-\Delta\Delta$ ct value which indicates the fold change in gene expression relative to the control.

비교 분석한바 특정한 두 계통을 제외하고 대부분의 계통에서 차이가 없는 것으로 나타났다. 따라서 열 스트레스 단백질의 표지들 중 일부가 성 간 유의적 차이가 있었지만 표지들 간에 일관성이 없고 또한 특정 일부 계통을 제외한 동일 계통 내 암수 간 차이가 없는 것으로 나타나 닭에 있어 암수 간 스트레스 반응 정도의 차이는 없는 것으로 사료된다. 닭의 암수 간 스트레스 반응 정도에 대한 연구로서 Black Castellana와 White Leghorn종을 대상으로 24주령 때 H:L ratio를 비교 분석한바 암컷이 0.51~0.78이었고, 수컷은 0.3~0.33으로 암컷의 스트레스 반응도가 수컷에 비해 월등히 높았다고 보고한 반면(Campo et al., 1999), Spanish종인 Quail Castellana에서는 이와 반대로 동일 연령에서 수컷이 암컷에 비해 H:L ratio가 유의하게 높았음을 보고하여 품종과 성 간에 상호 작용이 존재함을 시사하였다(Campo and Davila, 2002). 한편 White Leghorn을 대상으로 한 긴장성 부동 측정에 따른 암수 간 스트레스 반응 정도 비교에서 32주령부터 72주령까지 부동의 시간이 증가하고, 수컷이 암컷보다 이의 지속 시간이 길었다고 하였다(Campo and Carnicer, 1993). 반면 스트레스 반응 정도의 간접 지표로 텔로미어 길이의 분석에서는 동일 연령에서 암수 간 이들 길이의 차이는 없는 것으로 보고하고 있다(Sohn and Subramani, 2014). 이상 결과들로부터 닭의 성 간 스트레스 반응 정도는 품종, 연구자 및 측정 지표에 따라 상이한 결과들을 제시함으로써 스트레스에 대한 암수 간 반응 정도의 차이는 없는 것으로 사료되나 보다 명확한 결론 도출을 위하여 더 많은 연구가 필요한 부분이다.

## 적 요

본 연구에서는 국립축산과학원에서 보유하고 있는 토종닭 순계 12계통에 대한 계통 간 스트레스 반응 정도를 비교 분석하고자 하였다. 개체 별 스트레스 반응 정도 분석은 혈액으로부터 열 스트레스 단백질인 HSP-70, HSP-90 $\alpha$ , HSP-90 $\beta$  및 hydroxyl-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase(HMGCR)의 유전자 발현율과 텔로미어 함량을 반응 대상 표지로 하여 총 1,101수에 대해 정량 실시간 증합효소 연쇄반응법(real-time PCR)으로 분석하였다. 분석 결과 계통 간 HSP-70, HSP-90 $\alpha$ , HMGCR의 유전자 발현율과 텔로미어 함량의 차이가 있는 것으로 나타났으며, 암수 간에 있어서도 HSP-90 $\alpha$ , HSP-90 $\beta$  및 HMGCR의 발현율 차이를 나타내었다. 뿐만 아니라 닭의 연령 간에도 HSP-70 및 HSP-90 $\alpha$ 의 유전자 발현율과 텔로미

어 함량의 차이가 있는 것으로 나타났다. 계통 간 HSP 유전자 발현율과 텔로미어 함량 분석의 결과에 따라 공시 계통들 중 R, L, Y 계통들이 상대적으로 외부 스트레스에 강한 계통으로 보여지고, 반면 S, O, W 계통들은 스트레스에 민감한 계통들로 판단된다. 암수 간 스트레스 반응 정도에 있어 열 스트레스 단백질의 표지들 중 일부가 성 간 유의적 차이가 나타나지만 표지들 간 서로 상반된 결과를 보이고 또한 계통과 성 간의 상호작용이 있음에 따라 닭의 암수 간 스트레스 반응 정도의 차이는 없는 것으로 판단된다. 더불어 연령 간에도 일부 열 스트레스 유전자 발현도의 유의적 차이가 있었지만 표지들 간에 일관성이 없어 닭의 연령 간 스트레스 반응 정도의 차이는 없는 것으로 사료된다.

(색인어 : 스트레스 반응, 텔로미어, 열 스트레스 단백질, 한국 토종닭)

## 사 사

본 논문은 Golden Seed Project 종축사업(과제 번호: PJ-009925032014)의 지원으로 수행되었음.

## REFERENCES

- Albentosa MJ, Kjaer JB, Nicol CJ 2003 Strain and age differences in behaviour, fear response and pecking tendency in laying hens. *Br Poult Sci* 44(3):333-344.
- Beloor J, Kang HK, Kim YJ, Subramani VK, Jang IS, Sohn SH, Moon YS 2010 The effect of stocking density on stress related genes and telomeric broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci* 23:437-443.
- Bolhuis JE, Ellen ED, Van Reenen CG, De Groot J, Napel JT, Koopmanschap RE, De Vries Reilingh G, Uitdehaag KA, Kemp B, Rodenburg TB 2009 Effects of genetic group selection against mortality on behavior and peripheral serotonin in domestic laying hens with trimmed and intact beaks. *Physiol Behav* 97:470-475.
- Cahaner A, Ajuh JA, Siegmund-Schultze M, Azoulay Y, Druyan S, Zárate AV 2008 Effects of the genetically reduced feather coverage in naked neck and featherless broilers on their performance under hot conditions. *Poult Sci* 87(12): 2517-2527.
- Campo JL, Carnicer C 1993 Realized heritability of tonic im-



- mobility in White Leghorn hens: A replicated single generation test. *Poult Sci* 72:2193-2199.
- Campo JL, Davila SG 2002 Estimation of heritability for heterophil: Lymphocyte ratio in chickens by restricted maximum likelihood. Effects of age, sex, and crossing. *Poult Sci* 81: 1448-1453.
- Campo JL, Garcia Gil M, Alonso M, Munoz I 1999 Changes in fear- and stress-related traits accompanying sexual maturity of female and male chickens. *Arch Geflugelk* 63:1-5.
- Chen JH, Hales CN, Ozanne SE 2007 DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: Causal or correlative? *Nucleic Acids Res* 35:7417-7428.
- Cotliar AS, Slavutsky IR 2001 Telomeres and telomerase activity: Their role in aging and in neoplastic development. *Medicina* 61:335-342.
- Davis GS, Anderson KE, Carroll AS 2000 The effects of long-term caging and molt of Single Comb White Lghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. *Poult Sci* 79:514-518.
- de Haas EN, Kemp B, Bolhuis JE, Groothuis T, Rodenburg TB 2013 Fear, stress, and feather pecking in commercial white and brown laying hen parent-stock flocks and their relationships with production parameters. *Poult Sci* 92(9): 2259-2269.
- De Jong IC, Ehlhardt DA, Van Voorst A, Van Middelkoop JH, Blokhuis HJ 2000 Effect of feeding system on behaviour and physiological indices of stress in restricted fed broiler breeders. Proceedings of the 21<sup>st</sup> World's Poultry Congress, Montreal, Canada.
- Fraisse F, Cockrem JF 2006 Corticosterone and fear behaviour in white and brown caged laying hens. *Br Poult Sci* 47(2): 110-119.
- Gornati R, Papis E, Simona R, Genciana T, Marco S, Giovanni B 2004 Rearing density influences the expression of stress-related genes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Gene* 341:111-118.
- Hansen I, Braastad BO, Storbraten J, Tofastrud M 1992 Tonic immobility responses of laying hens in aviaries and cages (2). Pages 333-336 in Proceedings of the 19<sup>th</sup> World's Poultry Congress, Amsterdam, The Netherlands.
- Hong EC, Choo HJ, Kim HH, Kim CD, Heo KN, Lee MJ, Son BR, Suh OS, Choi HC, Kang BS 2012 Performance of growing period of two-way crossbreed parent stock for producing of laying-type Korean native commercial chickens. *Korean J Poult Sci* 39(3):177-182.
- Kang BS, Hong EC, Kim HH, Kim CD, Heo KN, Choo HJ, Suh OS, Hwangbo J 2011 Productivity and performance test of egg-type commercial Korean Native Chickens. *Korean J Poult Sci* 38(4):331-338.
- Kang SH, Ko YH, Moon YS, Sohn SH, Jang IS 2011 Effects of the combined stress induced by stocking density and feed restriction on hematological and cytokine parameters as stress indicators in laying hens. *Asian-Aust J Anim Sci* 24(3):414-420.
- Keles H, Fidan AF, Cigerci IH, Kucukkurt I, Karadas E, Dundar Y 2010 Increased DNA damage and oxidative stress in chickens with natural Marek's disease. *Vet Immunol Immunopathol* 133(1):51-58.
- Kim HS, Kim SD, Lee SS, Kang BS, Lee JK, Cho KH 2010 Estimation of genetic parameters for economic traits in Korean Native Chickens. *Korean J Poult Sci* 37(2): 125-130.
- Korte SM, Koolhaas JM, Wingfield JC, McEwen BS 2005 The Darwinian concept of stress: Benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neurosci Biobehav Rev* 29:3-38.
- Kregel KC 2002 Heat shock proteins: Modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol* 92(5):2177-2186.
- Lee MJ, Kim SH, Heo KN, Kim HK, Choi HC, Hong EC, Choo HJ, Kim JD 2013 The study on productivity of commercial Korea chickens for crossbred Korean Native Chickens. *Korean J Poult Sci* 40(4):291-297.
- Livak KJ, Schmittgen TD 2001 Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>( $\Delta\Delta C(T)$ ) method. *Methods* 25(4):402-408.
- Mack LA, Felver-Gant JN, Dennis RL, Cheng HW 2013 Genetic variations alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poult Sci* 92(2):285-294.
- Mashaly MM, Webb ML, Youtz SL, Roush WB, Graves HB 1984 Changes in serum corticosterone concentration of laying hens as a response to increased population density. *Poult Sci* 63(11):2271-2274.

- Meeker AK, Coffey DS 1997 Telomerase: A promising marker of biological immortality of germ, stem, and cancer cells. *Biochem* 62:1323-1331.
- Meng X, Jerome V, Devin J, Baulieu EE, Catell MG 1993 Cloning of chicken hsp90 beta: The only vertebrate hsp90 insensitive to heat shock. *Biochem Biophys Res Commun* 190:630 - 636.
- Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ 1984 Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev* 5:25-44.
- Park MN, Hong EC, Kang BS, Kim HK, Seo BY, Choo HJ, Na SH, Seo OS, Han JY, Hwangbo J 2010 The study on production and performance of crossbred Korean Native Chickens (KNC). *Korean J Poult Sci* 37(4):347-354.
- Puvadolpirod S, Thaxton JP 2000 Model of physiological stress in chickens 4. Digestion and Metabolism. *Poult Sci* 79:383-390.
- Richter T, Proctor C 2007 The role of intracellular peroxide levels on the development and maintenance of telomere-dependent senescence. *Exp Gerontol* 42:1043-1052.
- Sandercocock DA, Hunter RR, Mitchell MA, Hocking PM 2006 Thermoregulatory capacity and muscle membrane integrity are compromised in broilers compared with layers at the same age or body weight. *Br Poult Sci* 47:322-329.
- Schlesinger JM 1986 Heat shock proteins. *J Cell Biol* 103: 321-325.
- Sherwin CM, Richards GJ, Nicol CJ 2010 Comparison of the welfare of layer hens in 4 housing systems in the UK. *Br Poult Sci* 51(4):488-499.
- Sohn SH, Cho EJ, Park DB, Jang IS, Moon YS 2014 Comparison of stress response between Korean Native Chickens and Single Comb White Leghorns subjected to a high stocking density. *Korean J Poult Sci* 41(2): 115-125.
- Sohn SH, Subramani VK 2014 Dynamics of telomere length in the chicken. *World's Poultry Science Journal* 70:721-735.
- Sohn SH, Subramani VK, Moon YS, Jang IS 2012 Telomeric DNA quantity, DNA damage, and heat shock protein gene expression as physiological stress markers in chickens. *Poult Sci* 91(4):829-836.
- Soleimani AF, Zulkifli I, Omar AR, Raha AR 2011 Physiological responses of 3 chicken breeds to acute heat stress. *Poult Sci* 90(7):1435-1440.
- Star L, Decuypere E, Parmentier HK, Kemp B 2008 Effect of single or combined climatic and hygienic stress in four layer lines: 2. Endocrine and oxidative stress responses. *Poult Sci* 87(6):1031-1038.
- Tactacan GB, Guenter W, Lewis NJ, Rodriguez-Lecompte JC, House JD 2009 Performance and welfare of laying hens in conventional and enriched cages. *Poult Sci* 88(4):698-707.
- Thaxton JP, Dozier WA 3rd, Branton SL, Morgan GW, Miles DW, Roush WB, Lott BD, Vizzier-Thaxton Y 2006 Stocking density and physiological adaptive response of broilers. *Poult Sci* 85(5):819-824.
- Turkylmaz MK 2008 Effect of stocking density on stress reaction in broiler chickens during summer. *Turk J Vet Anim Sci* 32(1):31-36.
- Tuytens FA, Sonck B, Staes M, Van Gansbeke S, Van den Bogaert T, Ampe B 2011 Survey of egg producers on the introduction of alternative housing systems for laying hens in Flanders, Belgium. *Poult Sci* 90(4):941-950.
- Uitdehaag KA, Rodenburg TB, Van Reenen CG, Koopmanschap RE, De Vries Reilingh G, Engel B, Buist WG, Komen H, Bolhuis JE 2011 Effects of genetic origin and social environment on behavioral response to manual restraint and monoamine functioning in laying hens. *Poult Sci* 90(8): 1629-1636.
- Uni Z, Gal-Garber O, Geyra A, Sklan D, Yahav S 2001 Changes in growth and function of chick small intestine epithelium due to early thermal conditioning. *Poult Sci* 80(4):438-445.
- Von Zglinicki T 2002 Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 27:339-344.
- Yahav S, Luger D, Cahaner A, Dotan M, Rusal M, Hurwitz S 1998 Thermoregulation in naked neck chickens subjected to different ambient temperatures. *Br Poult Sci* 39(1):133-138.
- Yan FF, Hester PY, Enneking SA, Cheng HW 2003 Effects of perch access and age on physiological measures of stress in caged White Leghorn pullets. *Poult Sci* 92:2853-2859
- Zulkifli I, Dass RT, Norma MT 1999 Acute heat stress effects on physiology and fear-related behaviour in red jungle fowl and domestic fowl. *Can J Anim Sci* 79:165-170.
- Zulkifli I, Norma MTC, Israf DA, Omar AR 2002 The effect of early-age food restriction on heat shock protein 70 re-

sponse in heat-stressed female broiler chickens. Br Poult  
Sci 43(1):141-145.

Zulkifli I, Siegel PB 1994 Heterophil to lymphocyte ratios  
during perinatal and neonatal stages in chickens. Br Poult

Sci 35:309-313.

---

Received Apr. 28, 2015, Revised May. 27, 2015, Accepted  
Jun. 6, 2015