

## Studies on Genetic Diversity and Phylogenetic relationships of Chikso (Korea Native Brindle Cattle) Using the Microsatellite Marker

Yun Ho Choy<sup>1</sup>, Joo Hee Seo<sup>2</sup>, Byungho Park<sup>1</sup>, Seung Soo Lee<sup>1</sup>, Jae Won Choi<sup>3</sup>, Kyoung-sub Jung<sup>3</sup> and Hong Sik Kong<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Animal Genetics and Breeding Division, Department of Animal Resources Development, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 331-801, Korea

<sup>2</sup>Genomic Informatics Center, Hankyong National University, Anseong 456-749, Korea

<sup>3</sup>Chungbuk Institute of Livestock and Veterinary Research, Cheongwon 363-931, Korea

Received April 7, 2015 / Revised May 27, 2015 / Accepted May 27, 2015

This study examined the genetic distance among Chikso (Korea native brindle cattle) in nine regional areas using allele frequencies and a genetic diversity analysis with microsatellite markers. The analysis of the genetic diversity and genetic relationships of 2068 Chikso (383 KW, 180 GG, 52 KN, 129 KB, 332 UL, 24 JN, 198 JB, 148 CN, 622 CB) was carried out using 11 microsatellite markers. The number of alleles, observed heterozygosity ( $H_{obs}$ ), expected heterozygosity ( $H_{exp}$ ), and polymorphism information content (PIC) of the 11 microsatellite markers were 8 - 24, 0.672 - 0.834, 0.687 - 0.886, and 0.638 - 0.876, respectively. The expected probability of identity values in random individuals (PI), random half-sib ( $PI_{half-sibs}$ ), and random sibs ( $PI_{sibs}$ ) were estimated to be  $5.24 \times 10^{-19}$ ,  $2.63 \times 10^{-06}$ , and  $2.63 \times 10^{-06}$ , respectively, indicating that these markers can be used for traceability systems in Chikso cattle. The results of a phylogenetic tree (neighbor-joining tree), principle component analysis (PCA), and factorial component analysis (FCA) revealed genetic distance among nine Chikso populations. In conclusion, this study provides useful basic data that can be utilized in Chikso breeding and development. In addition, we will have to manage and conserve as a valuable genetic resource, without losing diversity of Chikso.

**Key words :** Microsatellite, Chikso (Korea Native Brindle Cattle), Genetic diversity

### 서론

세계적으로 가축 개량이 각국의 기호에 맞게 진행되면서, 품종에 대한 유전적 다양성이 급감하는 추세이며, 이에 따라 동물자원 생산이 위기에 직면하게 되었다[13, 16]. 이러한 위기를 인지하고 해결하기 위해 세계식량농업기구(FAO)는 재래 가축 유전자원의 보존과 활용에 대한 연구를 1980년대부터 지속적으로 해왔으며, 또한 세계 각국은 생물다양성협약(CBD: Convention on Biological Diversity, 1992) 이후, 인류 공동의 유산으로 인식되던 유전자원을 국가의 고유재산으로 인정함에 따라 자국의 유전자원에 대한 관심이 높아지면서 잠재적·경제적 가치를 인식하고 유전적 다양성을 지키고 품종 보존을 위한 노력을 하기 시작했다[5, 27]. 우리나라에서도 유전자원으로써 재래가축에 관한 관심이 증대됨에 따라 멸종

위기에 처한 재래가축의 수집 및 복원 사업이 국가를 중심으로 추진되면서 최소의 복원사업도 진행되고 있다[18]. 우리나라 소 품종의 경우, 일제강점기를 거치면서 일본 총독부에 의해 모색호칭의 통일과 모색단일화 조치로 인해 다양한 한우의 모색이 갈색으로 통일되어감으로써 유전자원의 다양성을 상실하게 되어[8] 지금의 대표적인 한우(황갈색)를 제외한 재래소(흑색, 얼룩무늬 등) 들은 개체수가 급격히 감소하였다.

나기준(2008) 등은 앵거스와 일본의 흑모화우는 세계에서 육질이 우수하며 고기 맛이 좋은 품종으로 알려져 있으며 이는 흑색을 가진 것들이 다른 유색종보다 맛이 좋다고 보고하였다[14]. 최소를 대상으로 육질에 관한 연구는 아직까지 진행된 바는 없지만 이러한 최소는 최근 분만과 포유능력 및 육질이 뛰어나 브랜드 소고기로 개발 가능성이 높다고 보고되면서 사육 희망 농가가 늘고 있는 추세라고 보고 하였다[20]. 하지만 현재 국내에서 소 품종에 관하여 유전적 특성을 파악하는 연구는 대부분 한우(황갈색) 위주의 분석으로 최소에 대한 뚜렷한 연구 진행이 이루어지고 있지 않다. 따라서 최소를 대상으로 유전적 특성 및 다형성 분석을 통해 우리나라 고유 품종인 최소의 유전자원으로써의 가치 제고와 보존 및 육종 개량에 관한 연구 진행이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

계통분류학적 연구는 1990년대 중반부터 재래가축의 유전

#### \*Corresponding author

Tel : +82-31-670-5334, Fax : +82-504-842-4615

E-mail : kebinkhs@empal.com

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Table 1. The number of Sample in study

Population	The number of Sample
Kangwon (KW)	383
Gyeonggi (GG)	180
Kyeongnam (KN)	52
Kyeongbuk (KB)	129
Ulleung (UL)	332
JeonNam (JN)	24
Jeonbuk (JB)	198
ChungNam (CN)	148
Chungbuk (CB)	622
Total	2068

적 다양성, 유래와 계통, 유전적 특성 및 보존 등의 목적을 위하여 microsatellite marker를 널리 이용하기 시작하였다[3, 6, 10, 12, 13, 22, 23, 25]. Microsatellite는 다른 표지인자에 비하여 가장 효과적인 표지인자로서, 유전변이가 높아 집단 간의 관계 및 분포, 근친 정도 파악에 대한 접근이 용이 하다고 알려져 있다[5]. 따라서 본 연구는 microsatellite marker를 이용하여 국내에서 사육되고 있는 최소 집단 간의 유전적 거리 분석 및 계통 지도 작성 등의 계통유전학적 분석을 실시하여, 국내에서 사육되고 있는 9지역의 최소 집단 간의 유연관계를 확인하여 이를 토대로 최소 품종을 중요한 가축유전자원으로

써 인식하고 국내 타 품종과의 유전적 차별화와 순수성 보존과 능력을 개량하는데 있어 기초 자료로 활용하고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

#### 공시재료

본 연구에서 Microsatellite 분석을 위해 사용된 공시재료는 국내에서 사육되고 있는 최소 2068두(강원지역(KW) 383두, 경기지역(GG) 180두, 경남지역(KN) 52두, 경북지역(KB)은 울릉도 제외 129두, 울릉도지역(UL) 332두, 전남지역(JN) 24두, 전북지역(JB) 198두, 충남지역(CN) 148두, 충북지역(CB) 622두)의 genomic DNA를 충북위생연구소에서 제공받아 이용하였다(Table 1).

#### Microsatellite (MS) Marker의 정보

본 연구에서 사용한 Microsatellite (MS) Marker는 현재 농림수산식품부에서 시행하는 쇠고기이력제(농림수산식품부고시 제 2009-26호)에 사용되는 11종(TGLA277, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA126, TGLA122, INRA23, ETH3, ETH225, BM1824)을 이용하여 한우와 최소의 유전적 다형성을 확인하였다(Table 2).

#### Multiplex-PCR 조성 및 방법

Table 2. Primer information for 11 Microsatellite markers in study

Dye	MS	Ch.	size range	Primer Sequence
FAM	TGAL227	18	76~104	F : CGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCT R : ACAGACAGAAACTCAATGAAAGCA
	BM2113	2	123~143	F : GCTGCCTTCTACCAAAATACCC R : CTTCTGAGAGAAGCAACACC
	TGLA53	16	154~188	F : GCTTTCAGAAATAGTTTGCAATTCA R : ATCTTCACATGATATTACAGCAGA
	ETH10	5	212~224	F : GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA R : CCTCCAGCCCCTTCTCTTCTC
	SPS115	15	246~260	F : AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG R : AACGAGTGTCTAGTTTGGCTGTG
VIC	TGLA126	20	116~122	F : CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCT R : TTGGTCTCTATTCTCTGAATATTC
	TGLA122	21	137~181	F : CCCTCCTCCAGGTAATCAGC R : AATCACATGGCAAATAAGTACATAC
	INRA23	3	196~222	F : GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC R : TAACTACAGGGTGTAGATGAACT
NED	ETH3	19	105~125	F : GAACCTGCCTCTCCTGCATTGG R : ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG
	ETH225	9	141~159	F : GATCACCTTGCCACTATTTCTT R : ACATGACAGCCAGCTGCTACT
	BM1824	1	178~192	F : GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC R : CATTCTCCAAGTCTTCTTCTG

Multiplex-PCR 반응액의 조성은 Genomic DNA (20-100 ng/μl) 2 μl, Primer Mixture 8.25 μl, Hot start Taq DNA Polymerase (Genetbio, Korea) 0.6 μl, 10x Buffer 1.8 μl, dNTP 1.5 μl 를 첨가한 후, 반응액을 총 15 μl로 조성하여 GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems, USA) 을 이용하여 PCR을 진행하였다. PCR 조건은 95°C에서 15 분간 Pre-denaturation을 실시한 후 94°C에서 60초, 55°C에서 75 초, 72°C에서 60초를 1 cycle로 하여 5 cycle, 94°C에서 60초, 54°C에서 75초, 72°C에서 60초를 1 cycle로 하여 10 cycle 그리고 94°C에서 60초, 55°C에서 75초, 72°C에서 60초를 1 cycle로 하여 25 cycle 반복하는 Touch Down PCR 방법을 사용하였다. 그 후 65°C에서 30분 extension 후 8°C에서 종료하였다.

**Microsatellite (MS) 유전자형 분석**

PCR 증폭산물은 결과에 따라 Hi-Di™ formamide를 이용하여 50~100배로 희석한 다음, 희석된 PCR 증폭산물은 다시 한번 Hi-Di™ formamide와 GeneScan™-500LIZ™ size standard로 희석하여 Genetic Analyzer 3130xl (Applied Biosystem, USA)를ABI-3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 모세관 전기영동을 실시한 후, GeneMapper version 4.1 (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 각 MS marker에 대한 대립유전자의 크기를 결정하였다. 결정된 대립유전자들은 개체별로 Microsoft Excel (Microsoft, USA)을 이용하여 자료를 취합하고 이를 통해 통계분석에 적용하였다.

**자료의 통계분석체계 설정**

대립유전자의 수(No. of allele), 기대이형접합율(expected heterozygosity,  $H_{exp}$ ), 관측이형접합율(observed heterozygosity,  $H_{obs}$ ), 다형성정보지수(Polymorphism information content, PIC)를 계산하기 위해 MS Toolkit software [19]와 Cervus ver 3.0 [11] 프로그램을 이용하였고, 집단 내 각 marker 별 특성을 F-통계량( $F_{it}(F)$ ,  $F_{st}(\theta)$  및  $F_{is}(f)$ )을 이용하여 분석

하였다(FSTAT ver 2.9.3) [7]. API-CALC ver 1.0 [1] 프로그램을 사용하여 동일개체 출현빈도를 계산하였으며, DISPAN [15, 17] 프로그램을 통해 각 집단에 대하여 유전적 거리는 Neighbor-Joining 방법[24]을 이용하여 추정하였고 이를 근거로 Phylogenetic tree를 작성하였다. 집단 간 유전적 상관을 확인하기 위해서 각 marker별 대립유전자 빈도를 이용하여 주성분분석(PCA, Principal Components Analysis) 및 요인대응분석(FCA, Factorial Components analysis)을 각각 GenAlEx 6.4 [21]와 Genetix [2]를 이용하여 분석하였다

**결과 및 고찰**

**Microsatellite marker의 다형성**

본 연구는 충북위생연구소에서 제공받은 최소 2068두(강원 지역(KW) 383두, 경기지역(GG) 180두, 경남지역(KN) 52두, 경북지역(KB)은 울릉도 제외 129두, 울릉도지역(UL) 332두, 전남지역(JN) 24두, 전북지역(JB) 198두, 충남지역(CN) 148두, 충북지역(CB) 622두)를 대상으로 11 종의 MS marker를 활용하여 지역 간의 유전적 다양성을 분석하였다. 전체 공시재료를 대상으로 11종의 MS marker에 대한 대립유전자 수(No. of Allele), 관측이형접합율(observed heterozygosity,  $H_{obs}$ ), 기대이형접합율(expected heterozygosity,  $H_{exp}$ ), 다형성정보지수(Polymorphism information content, PIC), F-통계량( $F_{it}(F)$ ,  $F_{st}(\theta)$  및  $F_{is}(f)$ )을 계산하여 Table 3에 제시하였다. 11 종의 MS marker를 분석한 결과 8개(BM1824)부터 24개(TGLA122)까지 평균 13.18개의 대립유전자가 확인되었다. 국내의 많은 연구자들은 본 연구와 동일한 11종의 MS marker를 이용하여 재래 품종 및 외래 품종에 대한 유전적 다형성 연구를 실시하였다. 박세롬 등(2010)은 최소 33두를 대상으로 한우집단과의 유전적 유연관계를 분석한 결과, 7개(BM1824, ETH225)부터 16개(TGLA53)까지 평균 10.0±3.2개의 대립유전자가 확인되었고 보고하였고[20], 서주희(2014)는 울릉도 최소 52두를 대상

Table 3. The statistical analysis of No. of Allele, heterozygosity ( $H_{obs}$  and  $H_{exp}$ ), polymorphism information content (PIC), and *F-statistics* value using selected 11 microsatellite markers among the nine populations

Locus	No. of Allele	$H_{obs}$	$H_{exp}$	PIC	$F_{is}(f)$	$F_{it}(F)$	$F_{st}(\theta)$
BM1824	8	0.684	0.690	0.638	0.010	0.029	0.019
BM2113	14	0.744	0.737	0.693	-0.011	0.008	0.018
ETH10	9	0.776	0.777	0.745	0.001	0.015	0.014
ETH225	12	0.683	0.689	0.652	0.013	0.031	0.019
ETH3	12	0.736	0.759	0.722	0.022	0.045	0.023
INRA23	11	0.764	0.780	0.746	0.020	0.034	0.014
SPS115	10	0.753	0.763	0.726	0.005	0.029	0.025
TGLA122	24	0.818	0.834	0.815	0.011	0.031	0.021
TGLA126	10	0.672	0.687	0.644	0.021	0.041	0.020
TGLA227	17	0.814	0.821	0.798	0.000	0.019	0.018
TGLA53	18	0.834	0.886	0.876	0.046	0.066	0.021
Mean	13.18	0.753	0.766	0.732	0.013	0.032	0.019

으로 분석한 결과 5개(BM1824)부터 14개(TGLA122, TGLA52)까지 평균 8.09개의 대립유전자가 확인되었다고 발표하였다 [26]. 이러한 결과는 본 연구 결과에 비해 다소 낮은 대립유전자수를 갖는 것으로 확인되었으나 이는 대립유전자의 개수가 집단 크기에 영향을 받아 나타난 현상이라고 사료된다[25]. 또한 한우를 대상으로 많은 연구가 수행되었는데 그 결과 또한 본 연구의 결과와 비슷한 결과를 보여주었다. 이기환 등 (2008)은 9개의 한우 브랜드를 대상으로 분석한 결과 7개(BM1824)부터 28개(INRA23)까지 평균 14.8개의 대립유전자가 확인되었다[9]. INRA23의 경우 본 연구에서 11개의 대립유전자 수가 확인된 반면 28개로 상당히 많은 대립유전자 수가 확인되었다. 이는 한우 품종과 최소 품종의 다형성 차이에서 나타난 것으로 사료되며 INRA23은 한우와 최소 품종 식별에 유용한 marker로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

MS marker의 다형성 정도를 판단하는 기준은 기대이형접합율( $H_{exp}$ ) 값이 0.6 이상이고, 다형성정보지수(PIC)의 값이 0.5 이상인 marker는 높은 다형성을 가지고 있는 marker라고 보고하였다[4]. 본 연구 결과 11 종의 MS marker의  $H_{exp}$  값은 0.687(TGLA126)에서 0.886(TGLA53)까지 평균 0.766으로 확인되었으며, PIC 값의 경우 0.638(BM1824)부터 0.876(TGLA53)으로, 평균 0.732로 확인되었다. 이러한 결과는 최소 품종의 다형성 분석에 있어 11종의 MS marker가 충분한 다형성을 갖는 marker 라고 사료된다.

F-statistics( $F_{is}(f)$ ,  $F_{it}(F)$ ,  $F_{st}(\theta)$ ) 결과는 각 MS marker의 집단별 유전적 고정도에 따른 근친도 및 집단간의 차별성 여부를 확인하기 위하여 실시하였다.  $F_{is}(f)$ 는 각 집단별 이형접합체 감소 정도를 나타내는 척도로, 집단 내 유전적 고정 정도에 따른 근친화 정도를 파악할 수 있고,  $F_{it}(F)$ 는 전체집단에 대한 유전적 고정 정도를 나타내는 지수,  $F_{st}(\theta)$ 는 서로 다른 집단 내에 개체들간 이형접합체 감소 정도를 나타내는 지수로 집단간의 유전적 유사도를 확인하는데 이용된다. F-statistics 값은 수치가 클수록 집단 내 개체간 상관 정도가 높은 것을 의미하며 반대로 수치가 낮을수록 근친도가 낮음을 의미한다. 본 연구 결과,  $F_{is}(f)$  값은 -0.011(BM2113)부터 0.046(TGLA53)까지, 평균 0.013,  $F_{it}(F)$  값은 0.008(BM2113)부터 0.066(TGLA53)까지, 평균 0.032, 그리고  $F_{st}(\theta)$  값은 0.014(ETH10, INRA23)부터 0.025(SPS115)까지 평균 0.019로 확인되었다.

**집단별 유전적 다양성**

집단별 평균 대립유전자수(mean number of alleles, MNA),  $H_{obs}$ ,  $H_{exp}$ , PIC, 그리고  $F_{is}(f)$  값을 계산하여 Table 4에 제시하였다. 집단별 평균 대립유전자수(MNA)는 9.04로 확인되었고, 가장 많은 대립유전자를 보유한 지역은 충청지역(CB)이 11.18으로 확인되었으며, 가장 적은 대립유전자를 보유한 지역은 전남지역(JN)이 6.91개로 확인되었다. 전체 집단의  $H_{obs}$  경우 평균 0.753로 확인되었고, 경북지역(KB)이 0.785로 가장

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	$F_{is}$
KW	10.00	0.733	0.746	0.710	0.019
GG	8.55	0.756	0.740	0.700	-0.022
KN	7.36	0.738	0.755	0.706	0.022
KB	8.36	0.785	0.756	0.718	-0.038
UL	8.82	0.755	0.753	0.714	-0.002
JN	6.91	0.742	0.754	0.700	0.015
JB	9.45	0.756	0.756	0.721	-0.001
CN	10.73	0.758	0.783	0.750	0.033
CB	11.18	0.754	0.754	0.718	0.000
Mean of Pop.	9.04	0.753	0.755	0.715	0.003

KW : Kangwon, GG : Gyeonggi, KN : Kyeongnam, KB : Kyeongbuk, UL : Ulleung, JN : JeonNam, JB : Jeonbuk, CN : ChungNam, CB : Chungbuk

높았으며, 강원지역(KW)이 0.733으로 가장 낮은 것으로 확인되었다.  $H_{exp}$ 와 PIC 충남지역(CN)이 각각 0.783, 0.750으로 가장 높았고, 가장 낮게 나타난 집단으로는 경기지역(GG)이 각각 0.740, 0.700로 확인되었다. 전남지역(JN)의 경우, 가장 적은 대립유전자 수(6.91)가 확인되었는데 PIC 값 또한 가장 낮은 0.700으로 확인되었다. 이러한 결과는 다른 집단에 비해 집단의 크기(24)가 작아 나타난 현상으로 사료된다. 집단의 유전적 고정 상태를 나타내는 지표인  $F_{is}(f)$ 은 충남지역(CN)에서 0.033으로 가장 높게 나타났으며, 경북지역(KB)이 -0.038로 가장 낮게 나타났다. 서상원(2014)은 가축의 경우 한정된 종축을 이용하여 계획적인 교배를 하기 때문에 대부분의 연구 결과  $H_{obs} < H_{exp}$  인 결과가 나타나며, 반대로  $H_{obs} > H_{exp}$  인 결과는 이형접합체 초과(heterozygote excess) 현상이라고 언급하였다 [27]. 이러한 이형접합체 초과 현상은  $F_{is}(f)$  값에서 나타난다고 보고 하였다. 본 연구,  $H_{obs} > H_{exp}$  과 같이 나타난 집단은 경기지역(GG), 경북지역(KB) 울릉도지역(UL)으로 확인되었으며  $F_{is}(f)$  값 또한 음의 값으로 확인되었다. 충남지역(CN)의 경우,  $H_{obs} = H_{exp}$  이 확인되었는데  $F_{is}(f)$  결과는 음의 값(-0.001)으로 확인되었다. 이는 상당히 적은 수치의 음의 값(-0.001)으로 근소한 차이로 인해 나타난 것으로 사료된다.

**집단간의 유전거리 및 유연관계**

본 연구에 활용된 9지역의 최소 집단의 유전적 유연관계를 확인하기 위하여 집단간의 유전적 거리에 대한 Phylogenetic tree를 작성하여 Fig. 1에 제시하였다. 분석된 결과에 따르면 전체 9지역의 최소 집단 중 상대적으로 경기지역(GG)과 울릉도지역(UL)이 하나의 cluster로 군집되며, 전남지역(KN)과 전남지역(JN)이 하나의 cluster로, 경북지역(KB)과 전북지역(JB),

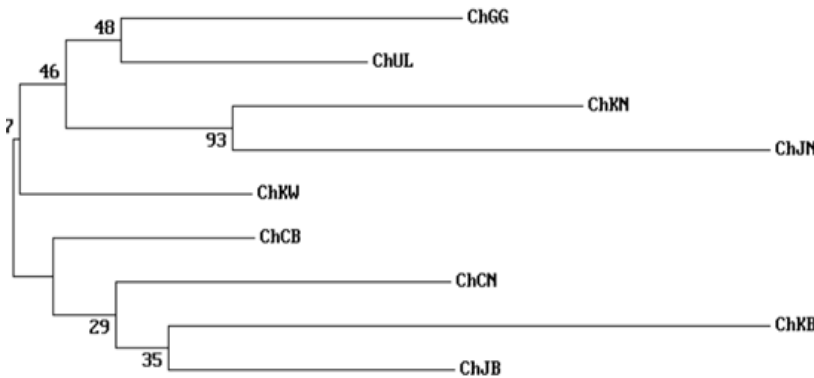


Fig. 1. Neighbor-Joining tree showing the genetic divergence among nine populations, using Nei's DA genetic distance on the basis of alleles frequencies from 11 microsatellite loci. The number in the branch indicates the percentage occurrence in 1,000 bootstrap replicates, KW: Kangwon, GG: Gyeonggi, KN: Kyeongnam, KB: Kyeongbuk, UL: Ulleung, JN: Jeon-Nam, JB: Jeonbuk, CN: ChungNam, CB: Chungbuk.

이 하나의 cluster로 군집되는 것을 확인 할 수 있었다. 유전적 거리가 가장 먼 것으로 확인된 지역은 경기지역(GG)과 전북지역(JB)지역으로 확인되었다. 또한 대립유전자의 빈도를 기반으로 전체 9지역의 최소 집단별 주성분분석(PCA, Principal Components Analysis) 및 요인대응분석(FCA, Factorial Components analysis)을 실시하여 Fig. 2, Fig. 3에 각각 제시하였다. PCA 분석 결과 제 1성분의 분산치는 25.93%로, 경북

지역(KB) 집단이 다른 8지역의 집단과 명확하게 다른 군집을 형성하는 것을 확인 할 수 있었다. 제 2성분의 분산치는 25.93%로 확인되었으며, 이 변수에 의해 충남지역(CN), 충북지역(CB) 그리고 전북지역(JB)이 하나의 군집을 형성하는 것을 확인 할 수 있었다. 반면에 제 3성분의 분산치는 17.83%로, 전북지역(JB)이 충남지역(CN)과 충북지역(CB)과 분류됨을 확인 할 수 있었다. 요인대응분석 결과 총 분산치는 71.22%(Axe 1

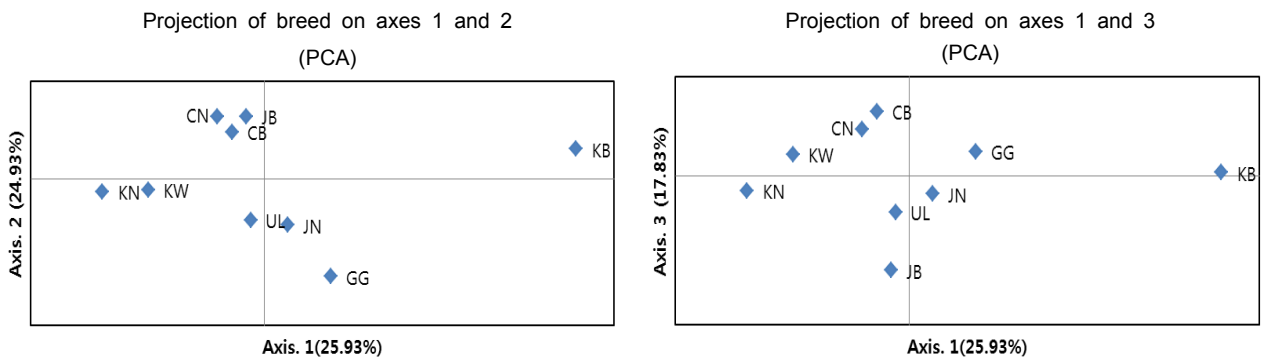


Fig. 2. Principal Components Analysis(PCA) of allele frequencies from 11 microsatellite loci typed in six population using the GenAlEx, KW: Kangwon, GG: Gyeonggi, KN: Kyeongnam, KB: Kyeongbuk, UL: Ulleung, JN: JeonNam, JB: Jeonbuk, CN: ChungNam, CB: Chungbuk.

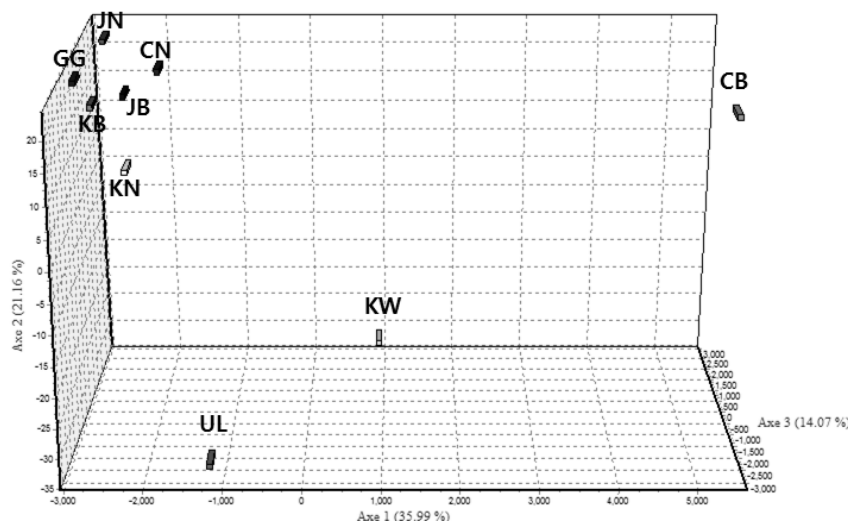


Fig. 3. Factorial Components Analysis (FCA) of allele frequencies from cattle microsatellite loci genotypes calculated using GENETIX, KW: Kangwon, GG: Gyeonggi, KN: Kyeongnam, KB: Kyeongbuk, UL: Ulleung, JN: Jeon-Nam, JB: Jeonbuk, CN: ChungNam, CB: Chungbuk.

Table 5. The expected probability values among genotypes of random individual (PI) for discrimination chicken lines using markers

No. of Marker	Random	Half-sib	Sib
1	1.11×10 <sup>-02</sup>	2.90×10 <sup>-01</sup>	2.90×10 <sup>-01</sup>
2	1.25×10 <sup>-04</sup>	8.44×10 <sup>-02</sup>	8.44×10 <sup>-02</sup>
3	2.37×10 <sup>-06</sup>	2.58×10 <sup>-02</sup>	2.58×10 <sup>-02</sup>
4	4.95×10 <sup>-08</sup>	7.92×10 <sup>-03</sup>	7.92×10 <sup>-03</sup>
5	1.09×10 <sup>-09</sup>	2.45×10 <sup>-03</sup>	2.45×10 <sup>-03</sup>
6	2.51×10 <sup>-11</sup>	7.62×10 <sup>-04</sup>	7.62×10 <sup>-04</sup>
7	6.36×10 <sup>-13</sup>	2.40×10 <sup>-04</sup>	2.40×10 <sup>-04</sup>
8	1.61×10 <sup>-14</sup>	7.58×10 <sup>-05</sup>	7.58×10 <sup>-05</sup>
9	5.20×10 <sup>-16</sup>	2.47×10 <sup>-05</sup>	2.47×10 <sup>-05</sup>
10	1.56×10 <sup>-17</sup>	8.05×10 <sup>-06</sup>	8.05×10 <sup>-06</sup>
11	5.24×10 <sup>-19</sup>	2.63×10 <sup>-06</sup>	2.63×10 <sup>-06</sup>

(35.99%), Axe 2 (21.16%), Axe 3 (14.07%))로 확인되었다. 3차원 도표 작성 결과, 충북지역(CB), 강원지역(KW), 울릉도지역(UL)은 다른 지역의 집단과 다른 군집을 형성하는 것을 확인할 수 있었다. 이 3 지역은 지리적으로 유전적 유입이 어려워 각 지역별 군집을 형성한 것으로 사료된다.

**동일개체 출현빈도**

본 연구에서 사용된 11종의 MS marker (TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA126, TGLA122, INRA23, ETH3M, ETH225, BM1824)를 이용하여 전체 최소 집단 동일개체 출현빈도를 계산하여 Table 5에 제시하였다. 무작위 교배집단(Random)으로 가정하였을 경우 동일개체 출현빈도는 11개의 marker를 사용하였을 때, 5.24×10<sup>-19</sup> 빈도로 출현하는 것을 확인할 수 있었으며, 반형매 교배집단(Half-sib)과 전형매 교배집단(sib)으로 가정했을 경우에는 2.63×10<sup>-06</sup>, 2.63×10<sup>-06</sup>으로 각각 확인되었다. 이러한 결과는 최소의 개체식별 및 친지확인 marker로 11종의 MS marker가 충분히 활용 가능할 것으로 사료된다.

본 연구는 microsatellite marker를 이용하여 국내에서 사육되고 있는 9 지역의 최소 집단 간의 유전적 거리 분석 및 계통지도 작성 등의 계통유전학적 분석을 실시하였으며, 그 결과 특정 지역의 유전적 고정보다는 전체적으로 다형성을 갖고 있는 것으로 확인되었다. 따라서 이러한 결과는 최소 품종을 중요한 가축유전자원으로써 인식하고 국내 타 품종과의 유전적 차별화와 순수성 보존과 능력을 개량하는데 있어 기초 자료로 활용 가능할 것으로 사료된다.

**감사의 글**

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 국가단위 한우 씨수소 선발체계 개선 연구, 세부과제번호: PJ00845301

2015)의 지원에 의해 이루어진 것임.

**References**

1. Ayres, K. L. and Overall, A. D. J. 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**, 315-318.
2. Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. and Bonhomme, F. 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la genetique des populations. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Universite de Montpellier II, Montpellier. France.
3. Blott, S. C., Williams, J. L. and Haley, C. S. 1999. Discriminating among cattle breeds using genetic markers. *Heredity.* **82**, 613-619.
4. Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* **32**, 314-331.
5. Choi, T. J. 2008. Establishment of phylogenomic characteristics for Korean traditional cattle breeds (Hanwoo, Korean brindle and black). Ph.D. dissertation, Chonbuk National University, Cheongju, Korea.
6. Ciampolini, R., Moazami-Goudarzi, K., Vaiman, D., Dillmann, C., Mazzanti, E. and Foulley, J. L. 1995. Individual multilocus genotypes using microsatellite polymorphisms to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds. *J. Anim. Sci.* **73**, 3259-3268.
7. Goudet, J. 2001. FSTAT, a Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices, version 2.9.3. Lausanne University, Lausanne, Switzerland.
8. Kim, S. H., Jung, K. S., Lee, H. J., Beak, J. S., Jung, D. W., Kim, D. E. and Yoon, J. T. 2013. Effects of genotype mutation and coat color phenotype on the offspring from mating system of MC1R genotype patterns in Korean Brindle Cattle. *J. Emb. Trans.* **28**, 215-222.
9. Lee, K. H., Seo, K. S., Choi, T. J., Yun, D. H., Yang, D. Y. and Sang, B. C. 2008. Comparison for genetic diversity between regional Hanwoo (Korean Cattle) brand group using microsatellite loci. *J. Anim. Sci. Technol.* **50**, 167-176.
10. Loftus, R. T., Ertugrul, O., Harba, A. H., El-Barody, M. A. A., MacHugh, D. E., Park, S. D. E. and Bradley, D. G. 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Mol. Ecol.* **8**, 2015-2022.
11. Marshall, T., Slate, C. J., Kruuk, L. E. and Pemberton, J. M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* **7**, 639-655.
12. Martin-Burriel, I., Garcia-Muro, E. and Zaragoza, P. 1999. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. *Anim. Genet.* **30**, 177-182.
13. Moazami-Goudarzi, K., Laloe, D., Furet, J. P. and Grosclaude, F. 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Anim. Genet.* **28**, 338-345.
14. Na, K. J. 2008. Characteristics of Hanwoo (Korea Native

- Cattle) pp. 42-52. Korea Animal Improvement Association.
15. Nei, M., Tajima, F. and Tateno, Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J. Mol. Evol.* **19**, 153-170.
  16. Oh, J. D., Lee, J. A., Kong, H. S., Park, K. D., Yoon, D. H., Jeon, G. J. and Lee, H. K. 2008. Estimation of genetic characteristic and cumulative power of breed discrimination using microsatellite markers in Hanwoo. *J. Emb. Trans.* **23**, 203-209.
  17. Ota, T. 1993. DISPAN. Pennsylvania State University, PA, USA.
  18. Park, J. H., Lee, H. L., Kim, Y. S. and Kim, J. G. 2012. MC1R Genotypes, Coat Color, and Muzzle Phenotypes variation in Korean native brindle cattle. *J. Anim. Sci. Technol.* **54**, 255-265.
  19. Park, S. D. E. 2001. The Excel microsatellite toolkit (version 3.1). Animal Genomics Laboratory, University College Dublin, Ireland. <http://animalgenomics.ucd.ie/sdeparck/ms-toolkit/>
  20. Park, S. R., Lee, S. Y., Park, Y. S., Song, Y. H. and Lee, S. J. 2010. Analysis of genetic polymorphism in Korean brindle cattle using microsatellite markers. *Ann. Ani. Resour. Sci.* **21**, 76-81.
  21. Peakall, R. and Smouse, P. E. 2006. GenAEx 6 : Genetic analysis in excel population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes.* **6**, 288-295.
  22. Peelman, L. J., Mortiaux, F., Van Zeveren, A., Dansercoer, A., Mommens, G., Coopman, F., Bouquet, Y., Burny, A., Renaville, R. and Portetelle, D. 1998 Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. *Anim. Genet.* **29**, 161-167.
  23. Ruane, J. 1999. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetic resources. *J. Anim. Breed. Genet.* **116**, 317-323.
  24. Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method. : A new method for reconstructing phylogenetic tree. *Mol. Biol. Evol.* **4**, 406-425.
  25. Schmid, M., Saitbekova, N., Gaillard, C. and Dolf, G. 1999. Genetic diversity in Swiss cattle breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* **116**, 1-8.
  26. Seo, J. H. 2014. A Study on industrial application through molecular genetic research in Korean native cattle. Master dissertation, Hankyong National University, Anseong, Korea.
  27. Suh, S. W. 2014. Molecular genetic evaluation of Korean domestic animal genetic resources using microsatellite markers. Ph.d. dissertation, Gyeongsang National University, Jinju, Korea.

### 초록 : Microsatellite marker를 활용한 축소의 유전적 다양성 및 유연관계 분석

최연호<sup>1</sup> · 서주희<sup>2</sup> · 박병호<sup>1</sup> · 이승수<sup>1</sup> · 최태정<sup>1</sup> · 조광현<sup>1</sup> · 최재원<sup>3</sup> · 정경섭<sup>3</sup> · 공홍식<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>농촌진흥청 국립축산과학원, <sup>2</sup>국립한경대학교 유전정보연구소, <sup>3</sup>충청북도 축산위생연구소)

본 연구는 microsatellite marker를 이용하여 국내에서 사육되고 있는 축소 9지역 간의 유전적 거리 분석 및 계통 지도 작성 등의 계통유전학적 분석을 실시하였다. 11종의 MS 마커를 이용하여 대립유전자의 수(No. of allele)를 확인한 결과 8에서 24개로 확인되었으며, 기대이형접합율(expected heterozygosity,  $H_{exp}$ )은 0.672에서 0.834 범위 안에 나타났으며, 관측이형접합율(observed heterozygosity,  $H_{obs}$ )은 0.687에서 0.886, 다형성정보지수(Polymorphism information content, PIC)은 0.638에서 0.876로 확인되었다. 무작위 교배집단(Random)으로 가정하였을 경우 동일개체 출현빈도는 11개의 marker를 사용하였을 때,  $5.24 \times 10^{-19}$  빈도로 출현하는 것을 확인 할 수 있었으며, 반형매 교배집단(Half-sib)과 전형매 교배집단(sib)으로 가정했을 경우에는  $2.63 \times 10^{-06}$ ,  $2.63 \times 10^{-06}$ 으로 각각 확인되었다. 이러한 결과는 축소의 개체식별 및 친지확인 marker로 11종의 MS marker가 충분히 활용 가능할 것으로 사료된다. Phylogenetic tree (Neighbor-Joining tree), Principle Component Analysis (PCA) 그리고 Factorial Component Analysis (FCA) 분석을 통해 9 지역의 축소 집단 간의 유연관계를 확인하였다. 이러한 결과는 축소 품종을 중요한 가축유전자원으로써 인식하고 국내 타 품종과의 유전적 차별화와 순수성 보존과 능력을 개량하는데 있어 기초 자료로 활용 가능할 것으로 사료된다.