

## 닭의 스트레스 연관 표지인자들의 발현도와 생산능력 간의 상관 분석

박지애<sup>1</sup> · 조은정<sup>1</sup> · 최은식<sup>1</sup> · 홍영호<sup>2</sup> · 최연호<sup>3</sup> · 손시환<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>경남과학기술대학교 동물생명과학과, <sup>2</sup>중앙대학교 생명자원공학부, <sup>3</sup>신구대학교 자원동물과

### The Relationship of the Expressions of Stress-related Markers and Their Production Performances in Korean Domestic Chicken Breed

Ji Ae Park<sup>1</sup>, Eun Jung Cho<sup>1</sup>, Eun Sik Choi<sup>1</sup>, Yeong Ho Hong<sup>2</sup>, Yeon Ho Choi<sup>3</sup> and Sea Hwan Sohn<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>Dept. 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 17546 Korea,

<sup>3</sup>Dept. of Animal Science, Shingu College, Sunghnam 13174, Korea

**ABSTRACT** This study was conducted to verify the relationships between the expression values of stress-related markers and their production performances in 25 strains of Korean domestic chicken breeds. For stress response markers, the amount of telomeric DNA; expression levels of heat shock protein (HSP)-70, HSP-90 $\alpha$ , and HSP-90 $\beta$ ; and comet scores were analyzed. Production performances were measured by the survival rate, body weights, days at first egg laying, egg weight and hen housed egg production. The results showed that the production traits and values of stress-related markers showed significant differences between strains. In general, the stress response of pure bred chickens with heavy weights was relatively high, while that of hybrid chickens with light weights was relatively low. The correlation coefficients between telomere contents and body weights showed that there were weak negative relationships. However, the correlations of telomere content with the survival rate and egg production were weakly positive after 20 weeks old. The expression levels of HSP genes and DNA damage rate (comet scores) were positively correlated to body weight, but were negatively correlated to the survival rate and egg production. The results implied that increasing body weight was associated with increasing HSPs expression and the DNA damage rate was associated with decreasing telomere content. In addition, increasing HSPs expression and the DNA damage rate decreased the survival rate and egg production, but the relationships with the telomere content was the reverse. Correlations among the stress-related markers showed that there were significant correlation coefficients between all of the marker values. HSPs expression was negatively correlated to the telomere content, while it was positively correlated to the DNA damage rate. There was a highly negative correlation between the telomere content and DNA damage rate. In conclusion, increasing the HSP values and DNA damage rate can promote telomere reduction, which led to a decrease in disease resistance and robustness of the chicken. Thus, increasing the stress response was verified to adversely affect the laying performance and viability of chickens.

(Key words: stress response, telomere, DNA damage, HSPs, production performance, chicken)

## 서 론

1970년대 이후 국내 닭의 사육방식과 사양관리는 주로 생산성 향상을 목적으로 고밀도 사육, 고에너지 사료 급여, 성장 조절 및 사료효율 개선 등에 초점을 맞추어 왔고, 상대적으로 동물의 건강과 복지에 대해서는 소홀한 면이 있었다. 그러나 최근 소비자들이 친환경 축산물 및 안전 식품을 선호함에 따라 가축 사육 방식과 사양관리에도 큰 변화가

생기면서 동물 복지에 대한 개념이 새롭게 인식되고 있다.

닭은 질병이나 염증과 같은 내적 스트레스 요인 이외에도 사육에 따른 많은 외적 스트레스 요인에 노출되어 있다. 사육 밀도나 사육 온도, 계사 형태뿐만 아니라, 급여 형태 등 다양한 요인들이 스트레스 요인으로 작용하고, 개체 간 스트레스 반응 정도도 매우 다르게 나타난다(Delezie et al., 2007; Lay et al., 2011; Sohn et al., 2011, 2014). 뿐만 아니라, 스트레스 반응 정도는 품종 간 및 계통 간 유전적 차이도 큰 것

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed : shsohn@gntech.ac.kr

으로 보고되고 있다(Cahaner et al., 2008; Star et al., 2008a, 2008b; Felver-Gant et al., 2012; Sohn et al., 2014, 2015; Cho et al., 2016). 개체에 스트레스가 가해졌을 때 체내 항산화성 유지를 위해 생체는 즉각적으로 생리적 반응을 한다. 특히 열 스트레스의 경우, 생리적으로 혈관을 확장하고, 땀의 발생 및 호흡수의 증가와 더불어 체내 이산화탄소의 수준을 상승시켜 혈중 pH를 높인다(Mumma et al., 2006; Mustaf et al., 2009). 이와 같은 혈중 pH의 상승은 난각 무기질화 및 혈중 Ca 수준을 감소시켜 특히 산란기에 있어 생산성의 저하를 유발하는 것으로 보고되고 있다(Marder and Arad, 1989). 따라서 개체의 스트레스 반응 정도를 알기 위한 적합한 생리적 표지가 요구되는데 가금류에서는 부신피질호르몬의 일종인 코르티코스테론(corticosterone)의 수준(Beuving and Vonder, 1978; Davis and Sipoes, 1987; Rimoldi et al., 2015)과 heterophil: lymphocyte의 비율(Gross and Siegel, 1983; Gross, 1989; Maxwell, 1993; Zulkifli et al., 1995; Davis et al., 2000; Scanes, 2016)이 대표적인 스트레스 연관 생리적 표지로 소개되고 있다. 이밖에도 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18 및 IFN- $\gamma$ 와 같은 염증반응 촉진 사이토카인(pro-inflammatory cytokines) 유전자 발현을, 열스트레스 단백질(heat shock proteins; HSPs) 유전자 발현을, 텔로미어 함유율 및 DNA 손상을 등이 또 다른 개체의 스트레스 반응 정도를 나타내는 생리적 표지로 알려져 있다(Kregel, 2002; Gornati et al., 2004; Chen et al., 2007; Beloor et al., 2010; Soleimani et al., 2011; Sohn et al., 2012; Jang et al., 2014). 이들 중 염색체 말단부를 지칭하는 텔로미어는 대표적 노화 표지로 연령이 증가함에 따라 길이가 줄어들게 되는데, 이의 감축 정도는 유전적, 환경적 요인에 따라 많은 차이를 나타낸다(Meeker and Coffey, 1997; Cottliar and Slavutsky, 2001; Richter and Proctor, 2007; Sohn and Subramani, 2014). 특히 외적 스트레스는 텔로미어 길이의 감축을 촉진시킨다고 알려져 있으며, 닭에 있어서도 사육 환경에 따라 감축 정도의 차이를 보이고 있다(Beloor et al., 2010; Sohn et al., 2014). Heat shock proteins(HSPs)은 열을 가한 초파리에서 특이적으로 발현하는 단백질로 이의 발견 이래 많은 동물체에서 열 스트레스 노출시 HSP 단백질 합성의 증가를 보고하고 있다(Ritossa, 1962; Lindquist, 1986; Lindquist and Craig, 1988; Young et al., 2001; Powers and Workman, 2007). 닭의 경우, 열 스트레스는 개체의 건강 상태와 생산성에 매우 부정적인 영향을 미치는 요인이다. 가금산업에서 열스트레스는 단기간에 발생하는 급성과 만성적인 열스트레스로 구분되며, 만성적인 열 스트레스는 성장 발육에 치명적인 영향을 준다. 육계에서 급성 열 스트레스의 경우, 골격근에 산

화적 손상을 주어 대사에 영향을 미치며, 근육 내 산성화를 증가시켜 면역 균형을 변화시킨다(Geraert et al., 1996; Lin et al., 2006; Mujahid et al., 2007; Wang et al., 2009; Imik et al., 2012). 닭에 있어 이러한 급만성 열 스트레스는 HSPs 유전자의 발현 증가와 더불어 산란계 및 육계의 생산능력 저하를 유발하고, 체내 면역력을 약화시켜 질병의 감염빈도를 증가시킨다(Reece et al., 1972; Muiruri and Harrison, 1991; Njoya and Picard, 1994; Woelfel et al., 2002; Lin et al., 2004; Mashaly et al., 2004; Al-Fataftah and Abu-Dieyeh, 2007; Song et al. 2012; Zulkifli et al., 2014). 세포의 증식과 사멸은 자연스러운 생명현상의 일부이나 세포에 내적 스트레스 또는 외적 스트레스 요인을 가하면 세포 사멸이 촉진되는 것으로 알려져 있다. 이러한 세포 사멸의 근본적 원인 중 핵내 DNA 유실은 세포사멸에 직접적 요인으로 작용한다. 핵 내 DNA 유실 또는 손상을 나타내는 방법으로 comet assay가 소개되고 있는데, 이는 핵내 DNA 균집 대비 DNA 파손에 의해 분산된 잔재물의 길이(comet tail)와 양에 따라 손상 정도를 측정하는 방법이다(Lee and Steinert, 1995; Ryu et al., 1997; Lew et al., 2004). Comet assay에 의한 comet score는 산화적 스트레스 시험이나 유전독성 시험에서 DNA 손상 정도를 알기 위해 널리 이용되는 지표로서, 닭의 스트레스 반응 정도 측정에도 이러한 표지가 유용하게 이용되고 있다(Baos et al., 2006; Frankic et al., 2006; Sohn et al., 2012; Cho et al., 2016).

열 스트레스나 밀사와 같은 환경적 스트레스가 닭의 생산 능력에 미치는 영향에 대해서 지금까지 많은 연구 결과들이 소개되고 있다. 그러나 개체 간 스트레스의 반응 정도와 이들의 생산능력 간에 어떠한 관련성 있는지에 대해서는 거의 보고된 것이 없다. 닭에서 스트레스 반응과 생산능력 간의 관련성을 밝히는 것은 종계의 선발 목표를 설정하는데 대단히 중요하다. 따라서 본 연구에서는 개체별 스트레스 연관 표지 인자의 발현도와 이들 생산능력 간의 연관성을 살펴보기 위하여 토종 종계 25계통을 대상으로 텔로미어 함량, heat shock proteins의 유전자 발현을 및 DNA 손상을 분석하고 동일 개체들의 생존율, 성장능력 및 산란능력을 조사하여 이들 간의 상관관계를 분석 고찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시동물 및 사양 관리

국내 H사가 보유하고 있는 토종종계 5계통을 5×5 이면교잡(diallel cross)하여 생산된 25개 조합 암컷 1,802수를 시험에 공시하고, 각 조합별로 20수를 임의 선발하여 10주, 20주,

40주령 개체에 대한 스트레스 반응 정도와 이들의 생산능력을 조사하였다. 모든 시험계들은 경남과학기술대학교 종합농장에서 0~40주령까지 동일한 사양 조건으로 15주령까지 케이지 육추 후 강제 환기 및 자동 온도 조절 시스템이 완비된 무창계사로 이송하여 2단 4열 철망 배터리형 케이지(90 cm × 90 cm × 66 cm/cage)에 케이지 당 12수씩 사육하였다. 사료 급여는 사육단계별로 H사의 중계사양관리지침에 따라 시판용 중계사료로 제한 급여를 실시하였고, 점등 관리 및 백신 접종 또한 당사의 사양지침에 따라 수행하였다. 그 밖의 일반 닭 사양관리는 경남과학기술대학교 닭 사육관리 기준에 따라 이루어졌고, 시험에 관련된 닭의 관리 및 취급은 본 대학 동물실험윤리위원회 (IACUC)의 규정을 준수하여 시행되었다.

## 2. 조사항목 및 분석 방법

### 1) 생산능력 조사

각 계군별 및 개체의 생산능력 항목으로 생존율, 성장능력 및 산란능력을 조사하였다. 생존율은 검정 개시 수수에 대한 육성기 생존수수의 비율에 따른 육성율과, 16주령 개시일 수수에 대한 검정종료일 수수의 비율인 성계생존율로 나타내었다. 산육능력을 추정하기 위해서 검정 조합별로 각 개체를 대상으로 발생부터 20주령까지는 2주 간격으로, 20주령 이후부터 검정종료일까지는 4주 간격으로 체중을 측정하였다. 산란능력 추정을 위해서 초산일령과 산란지수 및 난중을 조사하였다. 초산일령은 각 교배조합별로 검정계의 산란율이 5%에 도달한 일령으로 나타내었고, 산란지수는 초산일부터 검정종료일까지 총 산란개수를 초산 시 생존 수수로 나눈 수치로 나타내었다. 난중은 40주령 때 각 조합당 반복별로 3일간 생산한 계란의 평균 난중으로 표시하였다.

### 2) 텔로미어 함유율 분석

텔로미어 함유율은 익정맥으로부터 채혈한 혈액을 분리하여 이들의 백혈구 세포내 telomeric DNA 함유율을 분석하였다. 본 연구에 이용한 telomeric DNA 함유율 분석방법은 Slijepcevic(2001) 및 Sohn et al.(2012)이 제시한 양적 형광접합보인법(Quantitative Fluorescence in situ Hybridization; Q-FISH)을 기본으로 하였다. 표본의 준비는 순수 백혈구를 저장 및 고정처리하고, RNase(Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA)로 37°C에서 30분간 처리한 다음, 70%, 80%, 100% 에탄올로 탈수 건조시켰다. Hybridization 용액은 13  $\mu$ L formamide와 5  $\mu$ L hybridization buffer(Boehringer Mannheim)에 200

ng chicken telomeric DNA probe를 첨가하여 제조하였다. 표본에 상기 hybridization 용액을 적하하고, 85°C로 5분간 변성시킨 다음 38.5°C에서 12시간 이상 접합시켰다. 접합 처리된 표본은 2×SSC와 PN buffer(0.1% sodium phosphate, 0.1% Nonidet P-40)로 세척한 후 anti-digoxigenin-fluorescein(Boehringer Mannheim)으로 접합 염색을 하고, propidium iodide solution(Sigma Chem)으로 배경 염색을 하였다. 핵내 telomeric DNA의 발현양상은 적녹 파장대 필터를 부착한 형광현미경(Model AX-70, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하고, 디지털 카메라(Model DP-70, Olympus, Tokyo, Japan)로 촬영한 후 이미지 분석 프로그램(MetaMorph<sup>®</sup>, UIC, Pennsylvania, USA)을 이용하여 핵 내의 telomeric DNA 비율을 분석하였다.

### 3) Heat Shock Proteins(HSPs) 발현 분석

HSPs 유전자 발현량은 채혈한 혈액 세포로부터 RNA를 분리하고, 이로부터 cDNA를 합성 후 Real-time PCR을 이용하여 분석하였다. Real-time PCR에 이용된 primers는 Cho et al.(2016)이 제시한 바와 같은 reference gene(RPL27), HSP-70, -90 $\alpha$  및 90 $\beta$ 를 대상유전자(target gene)로 하였다. Q-PCR은 cDNA 50 ng, primer 2.5 pmol, SYBR Green(Roche, GmbH, Mannheim, Germany) 10  $\mu$ L 및 ddH<sub>2</sub>O 5  $\mu$ L를 넣어 최종 volume이 20  $\mu$ L가 되도록 하여 real-time PCR machine (Model LC480, Roche, Mannheim, Germany)으로 95°C, 5분 처리 후 95°C, 10초 변성, 60°C, 30초 접합 및 72°C, 10초간 신장 반응을 40회 반복하고 실시간 형광 모니터링하였다. Tm값의 측정은 LightCycler<sup>®</sup> 480 software v1.5(Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하였고, 대상 유전자의 상대적 정량값은 Livak and Schmittgen(2001)이 제시한  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  방법으로 분석하였다.

### 4) DNA 손상율 분석

DNA 손상율은 Singh et al.(1988)이 제시한 Comet assay 방법으로 분석하였다. 본 연구에 이용된 Comet assay 방법은 분석 대상 백혈구 표본 세포를 낮은 용점의 아가로스 용액(0.5% low melting point agarose; LMPA)에 혼입하여 냉장 상태로 굳힌 다음 lysis solution(2.5M NaCl, 100 mM disodium EDTA, 10 mM Trizma base)으로 4°C에서 60분간 침지하고, alkaline electrophoresis buffer (pH>13)에 10분 정도 정지하였다. 해리가 완료된 표본은 암소에서 동일 buffer를 이용하여 25 V, 300 mA로 4°C에서 30분간 전기영동하고, 70% 알코올로 세척한 후 건조시켰다. 건조된 표본은 propidium iodide solution으로 5분간 염색하고, 형광현미경으로 관찰하

였다. 세포 표본 형상은 개체 별 50개씩 디지털 카메라로 촬영하고, 각 형상의 분석은 Comet Score software v1.5(TriTek Corp. Sumerduck, VA, USA)를 이용하였다. Comet score 분석 항목은 tail 내 DNA 함유율(% DNA in tail; tail intensity/total comet intensity  $\times$  100), tail 내 DNA 생성률(tail moment; % DNA in tail  $\times$  tail length) 및 올리브 모멘트(olive moment; tail intensity  $\times$  total length/total comet intensity)를 조사하였다.

### 3. 통계분석

생존율, 체중, 초산일령, 산란지수, 난중, 텔로미어 함유율, HSPs 발현율 및 DNA 손상율에 대한 교배조합 간 평균값의 비교 분석을 위하여 SAS 통계패키지(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)의 ANOVA procedure를 이용하였다. 분석 값의 통계분석은 교배조합 요인에 따른 one-way ANOVA 방법으로 유의성을 검정하였고, 이들 조합 간의 다중검정은 Tukey's HSD procedure를 이용하였다. 공시된 모든 개체들의 텔로미어 함유율, HSPs 발현율 및 DNA 손상율과 생산능력 간의 상관 분석은 동일 패키지의 CORR procedure를 이용하여 Pearson's correlation coefficient를 산출하고, 각 상관계수에 대한 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 교배조합 간 생산능력 및 스트레스 연관 표지 발현율

교배조합별 토종종계 암컷 1,802수에 대한 0~40주까지 이들의 성장능력, 산란능력 및 생존율에 대해 분석 조사한 성적을 Table 1에 제시하였다. 성장능력의 분석을 위해 개체별 발생 시부터 20주령까지의 체중을 2주 간격으로 조사하고, 이후 산란기 동안 4주 간격으로 조사한 각 조합별 체중 변화의 양상을 Fig. 1에 나타내었다. 분석 결과, 조합별 체중 변화의 차이가 2주령 이후부터 뚜렷하게 나타나는데, 전체 25개 교배조합 중 H, G 및 F간 9개의 조합구가 고체중군(high weight group)으로, Y 및 W의 4개 조합구가 저체중군(low weight group)으로 나타났으며, 이들 간 12개의 교배조합은 중체중군(medium weight group)으로 나타났다. 초산일령은 각 시험구별로 시험계의 산란율이 5%에 도달한 첫 일령으로 하였을 때 전체 교배조합구들의 평균 초산일령은 137일 정도이고, FY구가 130일로 가장 빨랐으며, HH구가 146일로 가장 늦었다. 교배조합별 산란지수(hen-housed egg production)는 초산일령부터 검정종료일까지 총 산란개수를 초산 때 생존 수수로 나눈 수치로 나타내었다. 전체 계군의 평균산란지수는 66개로 조사되어 전반적으로 낮은 산란능력을 보였는데, 이

는 산란중기인 8월 초순에 폭염으로 인한 산란 저하 및 폐사가 그 원인으로 판단된다. 전체 계군 중 GW구가 가장 높은 산란율을 보였고, HH 및 FF와 같은 순계구가 가장 낮은 산란능력을 나타내었다. 40주령 평균 난중은 54 g 정도로 조사되었는데, HF구가 56 g 정도로 가장 무거운 반면, GY구가 51 g으로 가장 낮게 나타났다. 교배조합들 간 발육단계별 생존율에 있어 입실 대비 15주령까지의 육성율은 평균 97.2%였으나, 16주령 이후 산란기의 평균 생존율은 76% 정도로 매우 저조한 성적을 보였다. 이는 사육기간 중 폭염으로 인한 폐사수의 증가가 주된 원인으로 생각된다. 교배조합별로 폐사수에 있어 매우 큰 차이를 보였는데, Y 및 W와 같은 저체중구는 96% 이상의 생존율을 보인 반면, H 및 G와 같은 고체중구는 50% 이하의 생존율을 나타내었다.

한편, 공시된 토종 종계 25계통을 대상으로 개체별 스트레스 연관 표지 인자의 발현도를 살펴보기 위하여 20주령 개체들의 텔로미어 함량, HSPs 유전자 발현율 및 DNA 손상율을 분석하고, 이의 성적을 Table 2에 제시하였다. 분석 결과, 텔로미어 함유율에 있어 YW구가 가장 높았고, GF구가 가장 낮은 결과를 보였다. HSP-70의 경우, HH, GG 및 FF구가 상대적으로 높은 발현율을 나타내었고, HSP-90a는 GG구, HSP-90 $\beta$ 는 FF구가 가장 높은 발현율을 보였으며, Y 및 W와의 교잡구들이 상대적으로 낮은 발현율을 나타내었다. DNA 손상율의 경우, 모든 지표에서 공히 GG구가 가장 높았으며, FY구가 가장 낮게 나타났다. 이상의 분석된 지표 값들을 살펴보았을 때 순계구인 HH, GG 및 FF 조합의 개체들이 HSPs의 발현율과 DNA 손상율이 공히 높게 나타나고, FY, FW, YW구가 상대적으로 낮게 나타났다. 이는 Table 1 및 Fig. 1의 결과와 더불어 고체중 순계들의 스트레스 반응의 발현도가 높음을 의미하고, 저체중 교잡계들의 스트레스 반응 정도가 상대적으로 낮음을 시사한다.

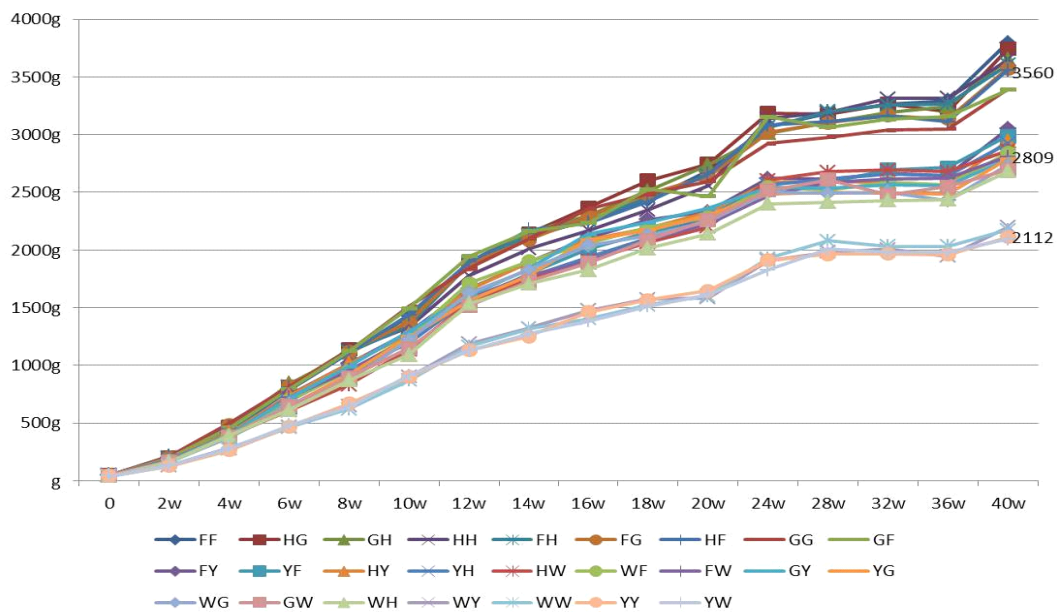
### 2. 텔로미어 함량과 생산능력 간의 상관분석

개체별 텔로미어 함량분석은 혈액에서 분리한 백혈구 세포를 대상으로 10주령, 20주령 및 40주령에 이루어졌고, 이들 분석 값과 생산능력 값 간의 상관관계를 알아보기 위하여 추정한 상관계수는 Table 3과 같다. 분석 결과, 20주령 이후의 텔로미어 함량과 다수의 생산능력 측정치 간에 유의한 상관관계가 나타났는데, 성장능력과는 유의한 부(-)의 상관, 산란능력 및 생존율과는 정(+)의 상관이 있는 것으로 분석되었다. 체중과 텔로미어 함량 간 상관관계는 연령이 증가함에 따라 상관계수가 높아졌는데, 40주령의 경우 -0.24의 상관계수가 추정되어서 중 정도의 부의 상관관계가 있는 것

**Table 1.** The production performances of 5×5 diallel crossed domestic chicken breeds

Line combination	Body weight (w)			Days at first egg laying	Egg weight at 40 w	Hen-housed egg production (20~40 w)	Survival rate (16~40 w)
	10	20	40				
HH	1,332.4±164.1 <sup>cd</sup>	2,560.5±333.0 <sup>b</sup>	3,649.2±510.8 <sup>ab</sup>	146.5±6.6 <sup>a</sup>	53.4±3.4 <sup>fg</sup>	42.1± 3.6 <sup>g</sup>	46.0±15.9 <sup>f</sup>
HG	1,408.1±139.4 <sup>bc</sup>	2,743.1±370.2 <sup>a</sup>	3,715.9±402.5 <sup>ab</sup>	137.1±3.8 <sup>c</sup>	55.2±5.2 <sup>abcde</sup>	58.1± 5.1 <sup>e</sup>	60.2±21.1 <sup>de</sup>
HF	1,458.6±154.5 <sup>ab</sup>	2,654.1±300.6 <sup>ab</sup>	3,581.5±373.5 <sup>abc</sup>	142.5±6.5 <sup>b</sup>	56.5±2.6 <sup>a</sup>	51.8± 6.8 <sup>f</sup>	76.9±15.0 <sup>bc</sup>
HY	1,271.7±132.2 <sup>d</sup>	2,298.3±228.8 <sup>c</sup>	2,933.6±266.4 <sup>de</sup>	137.2±7.3 <sup>c</sup>	54.4±3.3 <sup>bcddef</sup>	69.2± 8.1 <sup>cd</sup>	77.5± 8.5 <sup>bc</sup>
HW	1,176.7± 95.2 <sup>e</sup>	2,164.0±211.4 <sup>c</sup>	2,771.5±264.5 <sup>e</sup>	138.0±7.0 <sup>c</sup>	54.0±3.4 <sup>defg</sup>	66.4±11.1 <sup>d</sup>	76.7±12.8 <sup>bc</sup>
GG	1,508.2±231.0 <sup>a</sup>	2,595.1±412.9 <sup>ab</sup>	3,392.0±432.0 <sup>c</sup>	132.5±1.5 <sup>def</sup>	52.5±2.6 <sup>gh</sup>	59.8± 5.1 <sup>e</sup>	46.0± 9.8 <sup>f</sup>
GF	1,467.5±148.4 <sup>ab</sup>	2,682.2±368.1 <sup>ab</sup>	3,495.0±349.9 <sup>bc</sup>	135.0±4.2 <sup>cde</sup>	53.0±3.4 <sup>fgh</sup>	60.6± 9.2 <sup>e</sup>	64.1±15.9 <sup>d</sup>
GY	1,270.2±126.4 <sup>d</sup>	2,324.8±243.1 <sup>c</sup>	2,789.1±299.0 <sup>de</sup>	132.2±3.0 <sup>ef</sup>	51.4±2.5 <sup>h</sup>	75.5± 8.4 <sup>b</sup>	73.9±14.9 <sup>c</sup>
GW	1,254.6±160.7 <sup>de</sup>	2,253.4±226.8 <sup>c</sup>	2,724.9±227.3 <sup>e</sup>	134.7±5.1 <sup>cde</sup>	52.7±1.4 <sup>fgh</sup>	82.0± 9.9 <sup>a</sup>	79.5± 3.2 <sup>bc</sup>
FF	1,516.8±199.0 <sup>a</sup>	2,700.9±400.6 <sup>ab</sup>	3,796.6±466.1 <sup>a</sup>	135.8±3.0 <sup>cd</sup>	55.8±3.5 <sup>abc</sup>	47.0± 6.7 <sup>fg</sup>	53.9± 7.8 <sup>e</sup>
FY	1,288.4±157.4 <sup>d</sup>	2,304.9±309.5 <sup>c</sup>	3,024.1±341.4 <sup>d</sup>	130.1±3.4 <sup>f</sup>	56.2±3.4 <sup>ab</sup>	72.6±11.1 <sup>bc</sup>	78.8±13.4 <sup>bc</sup>
FW	1,311.9±111.1 <sup>d</sup>	2,256.8±214.3 <sup>c</sup>	2,826.5±265.8 <sup>de</sup>	132.0±5.9 <sup>ef</sup>	55.7±1.9 <sup>abcd</sup>	76.3±11.4 <sup>b</sup>	83.2± 6.3 <sup>b</sup>
YY	900.4± 77.6 <sup>e</sup>	1,645.6±182.6 <sup>d</sup>	2,112.4±197.6 <sup>f</sup>	141.7±5.6 <sup>b</sup>	54.1±0.5 <sup>cdefg</sup>	74.5± 4.9 <sup>b</sup>	96.3± 3.9 <sup>a</sup>
YW	937.5± 72.3 <sup>e</sup>	1,595.3±180.8 <sup>d</sup>	2,165.4±169.7 <sup>f</sup>	143.8±6.2 <sup>ab</sup>	54.2±1.5 <sup>cdefg</sup>	73.6± 7.2 <sup>bc</sup>	96.7± 5.1 <sup>a</sup>
WW	934.4±105.2 <sup>e</sup>	1,602.4±233.1 <sup>d</sup>	2,173.9±192.3 <sup>f</sup>	142.0±5.8 <sup>b</sup>	53.6±0.9 <sup>efg</sup>	69.2± 4.8 <sup>cd</sup>	96.4± 3.6 <sup>a</sup>
Means	1,270.6±220.3	2,295.0±446.3	2,921.2±588.1	137.2±7.2	54.4±3.2	66.4±13.5	75.8±17.8

<sup>a~h</sup> The values (mean±standard deviation) with different letter within column significantly differ.



**Fig. 1.** The body weights in 5×5 diallel crossed domestic chicken breeds from a day old to 40 w.

**Table 2.** The expression values of stress related markers in 5×5 diallel crossed domestic chicken breeds at 20 w

Line combination	Telomere quantity	HSP-70 <sup>1</sup>	HSP-90a <sup>1</sup>	HSP-90β <sup>1</sup>	% DNA in tail	Tail moment	Olive moment
HH	2.40±0.12 <sup>abc</sup>	4.71±2.12 <sup>a</sup>	11.79± 9.79 <sup>ab</sup>	3.50±1.79 <sup>bc</sup>	30.2±6.7 <sup>ab</sup>	24.1±9.3 <sup>ab</sup>	31.7±6.4 <sup>ab</sup>
HG	2.35±0.14 <sup>bc</sup>	1.98±1.50 <sup>b</sup>	8.38± 5.48 <sup>bcd</sup>	3.09±2.65 <sup>bc</sup>	26.9±5.5 <sup>bc</sup>	17.3±8.7 <sup>bc</sup>	28.9±9.7 <sup>bc</sup>
HF	2.46±0.16 <sup>ab</sup>	1.65±0.17 <sup>b</sup>	3.98± 3.08 <sup>cd</sup>	1.46±2.10 <sup>cde</sup>	26.4±6.5 <sup>bc</sup>	14.8±9.4 <sup>bc</sup>	27.0±10.5 <sup>abc</sup>
HY	2.44±0.1 <sup>abc</sup>	1.10±0.87 <sup>b</sup>	2.78± 2.13 <sup>d</sup>	1.24±1.08 <sup>cde</sup>	24.8±4.5 <sup>bc</sup>	14.7±6.7 <sup>bc</sup>	23.8±6.1 <sup>bc</sup>
HW	2.41±0.15 <sup>abc</sup>	1.10±0.87 <sup>b</sup>	2.78± 1.17 <sup>d</sup>	1.24±1.08 <sup>bc</sup>	26.6±6.6 <sup>bc</sup>	17.9±10.5 <sup>bc</sup>	28.5±9.1 <sup>abc</sup>
GG	2.37±0.12 <sup>bc</sup>	5.65±3.80 <sup>a</sup>	17.04±12.04 <sup>a</sup>	4.39±4.51 <sup>b</sup>	33.1±1.6 <sup>a</sup>	33.2±8.2 <sup>a</sup>	36.2±4.9 <sup>a</sup>
GF	2.32±0.15 <sup>c</sup>	1.12±1.00 <sup>b</sup>	1.62± 1.34 <sup>d</sup>	1.86±1.29 <sup>cde</sup>	27.0±5.2 <sup>abc</sup>	16.9±8.7 <sup>bc</sup>	28.3±9.4 <sup>abc</sup>
GY	2.46±0.16 <sup>ab</sup>	1.72±1.62 <sup>b</sup>	5.89± 6.12 <sup>bcd</sup>	1.98±1.04 <sup>cd</sup>	21.9±4.2 <sup>c</sup>	14.1±8.1 <sup>bc</sup>	21.2±6.6 <sup>c</sup>
GW	2.47±0.16 <sup>ab</sup>	1.72±1.08 <sup>b</sup>	5.95± 6.03 <sup>bcd</sup>	3.07±2.98 <sup>bc</sup>	23.8±5.6 <sup>c</sup>	17.0±8.0 <sup>bc</sup>	24.2±8.7 <sup>bc</sup>
FF	2.37±0.15 <sup>abc</sup>	4.26±2.76 <sup>a</sup>	10.33± 9.24 <sup>abc</sup>	7.74±3.86 <sup>a</sup>	27.0±4.0 <sup>abc</sup>	14.4±5.4 <sup>bc</sup>	27.6±5.8 <sup>abc</sup>
FY	2.42±0.18 <sup>abc</sup>	1.71±1.04 <sup>b</sup>	7.66± 8.07 <sup>bcd</sup>	1.15±1.07 <sup>cde</sup>	23.6±4.7 <sup>c</sup>	10.4±6.5 <sup>c</sup>	21.7±6.7 <sup>c</sup>
FW	2.36±0.15 <sup>bc</sup>	1.70±1.36 <sup>b</sup>	1.01± 1.21 <sup>d</sup>	1.67±1.02 <sup>cde</sup>	26.2±5.0 <sup>bc</sup>	13.0±7.5 <sup>c</sup>	23.8±6.6 <sup>bc</sup>
YY	2.46±0.15 <sup>ab</sup>	0.51±0.57 <sup>b</sup>	2.88± 3.08 <sup>cd</sup>	0.64±0.55 <sup>c</sup>	27.7±4.7 <sup>abc</sup>	13.6±5.5 <sup>c</sup>	26.6±6.1 <sup>bc</sup>
YW	2.51±0.18 <sup>a</sup>	0.72±0.49 <sup>b</sup>	1.91± 2.54 <sup>d</sup>	0.94±0.74 <sup>de</sup>	24.3±5.4 <sup>bc</sup>	16.2±10.9 <sup>bc</sup>	23.1±7.8 <sup>bc</sup>
WW	2.36±0.18 <sup>bc</sup>	0.95±0.56 <sup>b</sup>	6.40± 2.71 <sup>bcd</sup>	0.10±0.14 <sup>e</sup>	26.8±3.3 <sup>bc</sup>	19.3±6.9 <sup>bc</sup>	27.2±7.5 <sup>abc</sup>
Means	2.41±0.16	1.82±1.21	5.22± 2.06	1.02±1.21	25.6±5.6	15.9±9.2	25.6±8.4

<sup>1</sup> The values are  $2^{-\Delta\Delta ct}$  which indicates the fold change in gene expression relative to the control.

<sup>a~c</sup> The values (mean±standard deviation) with different letter within column significantly differ.

**Table 3.** The correlation coefficients between the amount of telomeric DNA and their productivities in Korean domestic chickens

Telomere content		Body weight (w)			Days at first egg laying	Egg weight at 40 w	Hen-housed egg production (20~40 w)	Survival rate (16~40 w)
		10	20	40				
at 10w	<i>r</i>	0.02864	0.02702	0.03150	-0.01647	0.07651	0.06424	0.02738
	<i>p</i>	0.51460	0.54260	0.52990	0.70820	0.08160	0.14350	0.53330
at 20w	<i>r</i>	-0.04041	-0.03563	-0.18371	-0.00004	-0.05445	0.21916	0.10573
	<i>p</i>	0.37850	0.43900	0.00030	0.99930	0.23570	<0.0001	0.04640
at 40w	<i>r</i>	-0.13466	-0.11687	-0.23872	-0.07577	0.00467	0.23195	0.08015
	<i>p</i>	0.00740	0.02030	0.01420	0.13370	0.92650	<0.0001	0.02010

*r*: correlation coefficient, *p*: *p* value.

으로 나타났다. 이는 고체중 개체들이 스트레스 요인에 민감하여 텔로미어 길이에 부정적 영향을 미치는 것으로 사료되고, 체중이 낮을수록 텔로미어 함량이 상대적으로 높다는 것을 시사한다. 이러한 결과는 성장 속도가 빠른 계종들이 상

대적으로 텔로미어 감축이 크다는 보고와 국내 토종계종의 품종 간 텔로미어 함량 비교 연구에서 저체중구가 상대적으로 높은 텔로미어 함유율을 보이고, 고체중구가 낮은 함유율을 나타내었다는 보고와도 잘 일치되는 결과이다(Sohn and

Subramani, 2014; Cho et al., 2016). 한편, 산란능력과 텔로미어 함유율 간의 상관관계에 있어 초산일령 및 난중과 텔로미어 함유율 간에는 거의 상관관계가 없는 것으로 나타났고, 40주령까지 산란지수와는 중도의 정의 상관관계가 있는 것으로 분석되었다. 또한 텔로미어 함량과 생존율 간에도 저도의 정의 상관관계가 있는 것으로 분석되었다. 이는 텔로미어의 함량이 증가할수록 산란지수 및 생존율이 상승하는 것을 의미하는 것으로, 텔로미어가 개체의 산란생리 및 생리적 활성도와 밀접한 관련이 있음을 시사한다. Cho et al.(2016)은 토종종계에서 생존율과 텔로미어 함량 간 0.16 정도의 정의 상관계수를 추정함으로써 본 연구와 유사한 결과를 제시한 바 있다. 이상의 텔로미어 함량과 생산능력 간의 상관분석을 통하여 개체의 체중 증가가 스트레스 반응도를 촉진하고, 스트레스 반응도의 상승은 폐사율의 증가와 산란성의 감소를 의미하는 것으로, 스트레스 반응이 민감한 개체일수록 텔로미어 함량이 낮아짐을 시사한다.

### 3. HSPs 유전자 발현율과 생산능력 간의 상관분석

열 스트레스 연관 유전자 표지인 HSP-70, HSP-90 $\alpha$  및 HSP-90 $\beta$ 의 mRNA 발현 양상과 이들 개체들의 체중, 초산일령, 난중, 산란지수 및 생존율과의 상관관계를 분석한 결과를 Table 4에 제시하였다. 분석 결과, HSPs 유전자 발현율과 체중 간에는 정(+)의 상관관계를, 산란지수와 생존율과는 부(-)의 상관관계를 나타내었으며, 초산일령 및 난중과는 거의 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 분석한 HSP-70, HSP-90 $\alpha$  및 HSP-90 $\beta$ 의 발현율과 생산능력 간에 있어 모든 표지들의 상관관계가 비슷한 경향을 보이고 있으나, 이들 중 HSP-90 $\beta$ 와의 상관관계가 보다 유의적이고 높은 상관계수를 나

타내고 있다. 이러한 결과는 체중이 증가할수록 HSPs의 발현도가 높고, 산란능력 및 생존율이 높아질수록 HSPs의 발현도가 낮아짐을 의미한다. 고온과 같은 환경 스트레스는 개체의 신경내분비계의 균형을 파괴하는데, 특히 체온 및 대사 활성을 조절하는 갑상선 호르몬의 활성을 약화시켜 폐사를 증가시킨다(Bobek et al., 1980; Garriga et al., 2006; Star et al., 2008a; Quinterio-Filho et al., 2010; Kamboh et al., 2013). 또한 고온 스트레스는 암컷에 있어서 시상하부 및 난소에서 정상적인 생식기능을 하게 하는 호르몬 생성을 방해하여 산란능력의 저하를 초래하게 한다(Muiruri and Harrison, 1991; Novero et al., 1991; Rozenboim et al., 2007; Elnagar et al., 2010; Felver-Gant et al., 2012). 따라서 닭의 HSPs 유전자 발현 증가는 스트레스 반응에 대한 감수성이 증가한다는 것을 시사하는 것으로 HSPs 발현 증가에 따른 산란능력의 감소나 폐사율 상승은 상기 보고들과 잘 일치되는 결과이다. 한편, HSPs 발현율과 체중과의 관계에서 체중이 증가할수록 HSPs의 발현율이 증가하는데, 이는 동일 시험계에 대해 교배조합별 계통간 스트레스 반응 정도 비교 시험에서 고체중 교잡구들이 상대적으로 높은 발현율을 나타내고, 저체중 교잡구들이 낮은 발현율을 보여 체중과 HSPs 발현율 간에 밀접한 관련이 있었다는 보고와 잘 일치되는 결과이다(Cho et al., 2016). 이와 같은 결과는 실용브로일러와 같은 육종 개량된 고성장 개체가 토종닭이나 야계와 같은 경량종에 비해서 HSP-70의 발현율이 높았다는 보고와도 유사한 결과이다(Yahav et al., 1998; Sandercock et al., 2006; Cahaner et al., 2008; Soleimani et al., 2011; Tamzil et al., 2013). 이상의 결과로서 열 스트레스 단백질인 HSP-70, HSP-90 $\alpha$  및 HSP-90 $\beta$ 의 유전자 발현율은 개체의 생산능력과 밀접한 관련이 있는

**Table 4.** The correlation coefficients between the gene expressions of heat shock proteins at 20 w and their production performances in Korean domestic chickens

HSPs		Body weight (w)			Days at first egg laying	Egg weight at 40 w	Hen-housed egg production (20~40 w)	Survival rate (16~40 w)
		10	20	40				
HSP-70	<i>r</i>	0.14897	0.11927	0.19766	0.03018	0.03018	-0.16937	-0.28553
	<i>p</i>	0.00180	0.01280	0.00020	0.52910	0.52910	0.00040	<0.00010
HSP-90 $\alpha$	<i>r</i>	0.09105	0.11087	0.05381	0.01495	-0.01343	-0.12086	-0.16646
	<i>p</i>	0.05750	0.02090	0.32180	0.75560	0.77980	0.01150	0.00050
HSP-90 $\beta$	<i>r</i>	0.24635	0.26997	0.33275	-0.08386	-0.01322	-0.16620	-0.29007
	<i>p</i>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.07990	0.78290	0.00050	<0.00010

*r*: correlation coefficient, *p*: *p* value.

지표로서 체중이 증가할수록 이들 값이 상승하고, 반면 지표 값이 상승할수록 생존율 및 산란능력이 저하되는 것으로 사료된다.

#### 4. DNA 손상율과 생산능력 간의 상관분석

시험계통의 DNA 손상 정도를 살펴보기 위하여 백혈구 세포를 대상으로 Comet assay를 수행하고 Comet 지표로 % DNA in tail, tail moment 및 olive moment를 분석하였다. 또한 분석된 Comet 지표들과 생산능력 간의 상관성을 밝히기 위해서 체중, 초산일령, 난중, 산란지수 및 생존율과의 상관계수를 추정하고, 이의 결과를 Table 5에 제시하였다. 각 Comet 지표들의 분석 값과 생산능력 항목 간의 상관 양상이 거의 동일하게 나타나, 지표 간의 차이는 없는 것으로 판단된다. 따라서 DNA 손상율과 생산능력 간의 상관관계에서 체중 및 초산일령과는 정(+)의 상관율, 산란지수 및 생존율과는 부(-)의 상관율을 보이고, 난중과는 거의 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 이는 체중이 증가할수록 DNA 손상도가 증가하고, 또한 산란지수 및 생존율이 높을수록 DNA 손상도가 낮음을 의미한다. 더불어 DNA 손상도가 높을수록 초산일령도 길어짐을 보여 산란지수와 일치하는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 HSPs와 생산능력 간의 관계와 거의 유사한 양상으로 스트레스 반응에 이러한 표지들이 서로 비슷하게 작용하는 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 동일 교배조합의 스트레스 반응 비교 시험에서 고체중 교잡구가 상대적으로 높은 DNA 손상율을 나타낸 것과 잘 일치되는 결과이다 (Cho et al., 2016). 세포 내 산화적 스트레스가 가해지면 DNA 손상율이 증가하게 되고, DNA의 손상도가 증가할수록 생산능력에 부정적 영향을 미치는 것으로 보고하고 있는데(Fau-

lhimel et al., 2005; Frankic et al., 2006), 본 연구에서도 세포 내 DNA 손상도가 높아질수록 산란지수 및 생존율이 낮아지는 연관성을 보여 DNA 손상 정도가 생산능력에 유의한 영향을 미치는 것으로 판단된다.

#### 5. 스트레스 표지인자 간 상관 분석

닭의 스트레스 연관 표지 인자로 이용한 telomeric DNA 함유율, 열 스트레스 단백질인 HSP-70, HSP-90 $\alpha$  및 HSP-90 $\beta$ 의 유전자 발현가, DNA 손상을 지표로 % DNA in tail, tail moment 및 olive moment 값 간의 연관성을 알아보기 위하여 이들 간 상관계수를 추정하고, 이의 결과를 Table 6에 제시하였다. Table 6에 제시된 바와 같이, 분석한 거의 모든 지표들 간에 상호 유의한 상관관계가 나타났다. 열 스트레스 단백질인 HSP-70, HSP-90 $\alpha$  및 HSP-90 $\beta$ 의 유전자 발현 값들 간에는 상호 저도의 정의 상관율을 보이고, 이들 중 HSP-90 $\alpha$ 와 HSP-90 $\beta$  간의 상관계수가 상대적으로 높게 나타났다. 또한 DNA 손상을 지표인 % DNA in tail, tail moment 및 olive moment 값 간의 상관계수는 모두 0.5 이상의 높은 정의 상관율을 보여 지표 간에 서로 밀접한 관련이 있음을 알 수 있었다. 상관 분석 결과, 열 스트레스 단백질인 HSP-70, HSP-90 $\alpha$  및 HSP-90 $\beta$ 의 유전자 발현가와 텔로미어 함량과는 모두 낮은 부의 상관율을 보이고, 이들과 DNA 손상율과는 저도에서 중도의 정의 상관관계가 나타났다. 한편, 텔로미어 함량과 DNA 손상율 간에는 모든 지표에서 높은 부의 상관관계가 나타났는데, 특히 % DNA in tail과는 -0.6 이상으로 고도의 부의 상관율을 보였다. 분석 지표들 간 일관성 있는 유의한 상관계수 추정 값의 결과는 상기 모든 지표들이 개체들의 스트레스 반응에 유사하게 작용함을 의미하는 것으로, 이들이 스트

**Table 5.** The correlation coefficients between the rates of DNA damage at 40 w and their productivities in Korean domestic chickens

DNA damage rate		Body weight (w)			Days at first egg laying	Egg weight at 40w	Hen-housed egg production (20~40 w)	Survival rate (16~40 w)
		10	20	40				
% DNA in tail	<i>r</i>	0.12612	0.13996	0.13280	0.16434	-0.04768	-0.26498	-0.18494
	<i>p</i>	0.02430	0.01230	0.01820	0.00330	0.39680	<0.00010	0.01310
Tail moment	<i>r</i>	0.01738	0.04082	0.01700	0.08488	-0.05991	-0.15759	-0.13025
	<i>p</i>	0.75710	0.46750	0.76340	0.13100	0.28680	0.00480	0.02000
Olive moment	<i>r</i>	0.11190	0.13004	0.10455	0.12781	-0.02121	-0.18583	-0.13689
	<i>p</i>	0.04580	0.02020	0.06340	0.01660	0.70640	0.00090	0.01440

*r*: correlation coefficient, *p*: *p* value.



**Table 6.** The analysis of correlation coefficients among HSPs gene expressions, telomere quantity and DNA damage rates in Korean domestic chickens

		HSP-90 $\alpha$	HSP-90 $\beta$	Telomere quantity	% DNA in tail	Tail moment	Olive moment
HSP-70	<i>r</i>	0.1086	0.0829	-0.1695	0.1231	-0.0949	-0.0183
	<i>p</i>	0.0303	0.0991	0.0081	0.0141	0.1008	0.7527
HSP-90 $\alpha$	<i>r</i>		0.1838	-0.1074	0.1817	0.0919	0.0723
	<i>p</i>		0.0001	0.0465	0.0001	0.1334	0.2382
HSP-90 $\beta$	<i>r</i>			-0.1531	0.2685	0.0507	0.0434
	<i>p</i>			0.0141	<0.0001	0.4082	0.4793
Telomere quantity	<i>r</i>				-0.6462	-0.3286	-0.5260
	<i>p</i>				<0.0001	<0.0001	<0.0001
% DNA in tail	<i>r</i>					0.4983	0.8145
	<i>p</i>					<0.0001	<0.0001
Tail moment	<i>r</i>						0.6355
	<i>p</i>						<0.0001

*r*: correlation coefficient, *p*: *p* value.

레스 반응 정도 예측에 신뢰할 만한 표지임을 시사한다(Be-lloor et al., 2010; Sohn et al., 2012; Sohn and Subramani, 2014; Sohn et al., 2015; Cho et al., 2016). 이상의 분석 결과에 따라 닭에 있어 HSPs 및 DNA 손상도의 증가는 텔로미어 길이의 감축을 촉진하고, 이는 개체의 항병성 및 강건성을 저하시켜 산란능력과 생존율에 나쁜 영향을 미치는 것으로 판단된다.

## 적 요

본 연구는 닭의 개체 별 스트레스 연관 표지의 발현도와 이들의 생산능력 간의 연관성을 살펴보기 위한 것으로 토종 종계 25계통을 대상으로 텔로미어 함량, 열 스트레스 단백질(HSPs) 유전자 발현을 및 DNA 손상율을 분석하고, 동일 개체들의 생존율, 성장능력 및 산란능력을 조사하여 이들 간의 상관관계를 분석 고찰하였다. 분석 결과, 생산능력 및 스트레스 표지 값들 간에 계통별로 유의한 차이가 나타났는데, 대체적으로 고체중 순계들의 스트레스 지표가 상대적으로 높았으며, 저체중 교잡계들의 스트레스 지표가 낮게 나타났다. 텔로미어 함량과 생산능력 간의 상관성은 20주령 이후부터 유의한 상관관계를 보였는데, 성장능력과는 약한 부(-)의 상관 양상을, 산란능력 및 생존율과는 약한 정(+)의 상관관계를 나타내었다. HSPs 유전자 발현율과 생산능력과의 상관에서 생존율 및 산란지수와는 저도 및 중도의 부의 상관을 보

였고, 체중과는 약한 정(+)의 상관관계를 나타내었다. DNA 손상을 분석 또한 체중과는 약한 정(+)의 상관, 산란지수 및 생존율과는 중도 및 저도의 부의 상관관계를 나타내었다. 이는 체중이 증가할수록 HSPs 유전자 발현율, DNA 손상을 및 텔로미어 감축량이 증가함을 의미하고, 반면 산란능력 및 생존율이 높을수록 HSPs 유전자 발현율과 DNA 손상은 낮아지고, 텔로미어 함량은 상대적으로 높다는 것을 시사한다. 스트레스 표지 인자들 간의 상호 관계에서 모든 표지 값 간에 유의한 상관관계가 나타났는데, HSPs 발현값과 텔로미어 함량과는 부의 상관, DNA 손상율과는 정(+)의 상관을 보이고, 텔로미어 함량과 DNA 손상율과는 높은 부의 상관을 나타내었다. 이상의 스트레스 표지 값과 생산능력 간의 상관분석 결과에 따라 닭에 있어 HSPs 및 DNA 손상율의 증가는 텔로미어 감축을 촉진하고, 이에 따라 개체의 항병성 및 강건성을 저하시켜 산란능력과 생존율에 나쁜 영향을 미치는 것으로 판단된다.

(색인어: 스트레스 반응, 텔로미어, DNA 손상율, 열 스트레스 단백질, 생산능력, 닭)

## 사 사

본 논문은 Golden Seed Project 종축사업(과제 번호: PJ-009925022016) 및 경남과학기술대학교 2015년도 대학회계

연구비 지원으로 수행되었음.

## REFERENCES

- Al-Fataftah AR, Abu-Dieyeh ZHM 2007 Effect of chronic heat stress on broiler performance in Jordan. *Int J Poul Sci* 6 (1):64-70.
- Baos R, Jovani R, Pastor N, Tella JL, Jiménez B, Gómez G, González MJ, Hiraldo F 2006 Evaluation of genotoxic effects of heavy metals and arsenic in wild nestling white storks (*Ciconia ciconia*) and black kites (*Milvus migrans*) from southwestern Spain after a mining accident. *Environ Toxicol Chem* 25(10):2794-2803.
- 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 length in broiler chickens. *Asian-Aust J Anim Sci* 23:437-443.
- Beuving G, Vonder GM 1978 Effect of stressing factors on corticosterone levels in the plasma of laying hens. *Gen Comp Endocrinol* 35(2):153-159.
- Bobek S, Niezgodá J, Pietras M, Kacinska M, Ewy Z 1980 The effect of acute cold and warm ambient temperatures on the thyroid hormone concentration in blood plasma, blood supply, and oxygen consumption in Japanese quail. *Gen Comp Endocrinol* 40:201-210.
- 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.
- Chen JH, Hales CN, Ozanne SE 2007 DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: Causal or correlative? *Nucleic Acids Res* 35:7417-7428.
- Cho EJ, Park JA, Choi ES, Sohn SH 2016 Comparison of stress response in diallel crossed Korean domestic chicken breeds. *Korean J Poul Sci* 43(2):77-88.
- Cotliar AS, Slavutsky IR 2001 Telomeres and telomerase activity: Their role in aging and in neoplastic development. *Medicina* 61:335-342.
- Davis GS, Siopes TD 1987 Plasma corticosterone response of turkeys to adrenocorticotrophic hormone: Age, dose, and route of administration effects. *Poult Sci* 66(10):1727-1732.
- Delezie E, Swennen Q, Buyse J, Decuypere E 2007 The effect of feed withdrawal and crating density in transit on metabolism and meat quality of broilers at slaughter weight. *Poult Sci* 86:1414-1423.
- Davis GS, Anderson KE, Carroll AS 2000 The effects of long-term caging and molt of Single Comb White Leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. *Poult Sci* 79(4):514-518.
- Elnagar SA, Scheideler SE, Beck MM 2010 Reproductive hormones, hepatic deiodinase messenger ribonucleic acid, and vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive cells in hypothalamus in the heat stress-induced or chemically induced hypothyroid laying hen. *Poult Sci* 89:2001-2009.
- Faullimel C, Ennahar S, Aoude-Werner D, Guterl P, Marchioni E 2005 DNA comet assay for the detection of time-temperature abuse during the storage of poultry. *J Food Prot* 68(7):1414-1420.
- Felver-Gant JN, Mack LA, Dennis RL, Eicher SD, Cheng HW 2012 Genetic variations alter physiological responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poult Sci* 91 (7):1542-1551.
- Frankic T, Pajk T, Rezar V, Levart A, Salobir J 2006 The role of dietary nucleotides in reduction of DNA damage induced by T-2 toxin and deoxynivalenol in chicken leukocytes. *Food Chem Toxicol* 44(11):1838-1844.
- Garriga C, Hunter RR, Amat C, Planas JM, Mitchell MA, Moreto M 2006 Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum. *Am J Physiol Reg Integ Comp Physiol* 290:R195-R201.
- Geraert PA, Padilha JC, Guillaumin S 1996 Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chicken: Biological and endocrinological variables. *Br J Nutr* 75:205-216.
- 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.
- Gross WB 1989 Factors affecting chicken thrombocyte morphology and the relationship with heterophil:lymphocyte ratios. *Br Poult Sci* 30(4):919-925.
- Gross WB, Siegel HS 1983 Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian*

- Dis 27(4):972-979.
- Imik H, Ozlu H, Gumus R, Atasever MA, Urcarand S, Atasever M 2012 Effect of ascorbic acid and  $\alpha$ -lipoic acid on performance and meat quality of broiler subjected to heat stress. *Br Poult Sci* 53:800-808.
- Jang IS, Ko YH, Moon YS, Sohn SH 2014 Effects of vitamin C or E on the pro-inflammatory cytokines, heat shock protein 70 and antioxidant status in broiler chicks under summer conditions. *Asian-Aust J Anim Sci* 27(5):749-756.
- Kamboh AA, Hang SQ, Bakhregul M, Zhu WY 2013 Effects of genistein and hesperidin on biomarkers of heat stress in broilers under persistent summer stress. *Poult Sci* 92(9):2411-2418.
- Kregel KC 2002 Heat shock proteins: Modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol* 92(5):2177-2186.
- Lay DC Jr, Fulton RM, Hester PY, Karcher DM, Kjaer JB, Mench JA, Mullens BA, Newberry RC, Nicol CJ, O'Sullivan NP, Porter RE 2011 Hen welfare in different housing systems. *Poult Sci* 90(1):278-294.
- Lee RF, Steinert S 1995 Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutat Res* 544(1):43-64.
- Lew SH, Kim DW, Suh JK, Seung IS, Shim JC, Cheong MA, Park JH 2004 Genotoxicity of enflurane in human peripheral blood lymphocytes studied *in vivo* by Single Cell Gel Electrophoresis. *Korean J Anesthesiol* 47(2):162-166.
- Lin H, Decuyper E, Buyse J 2004 Oxidative stress induced by corticosterone administration in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) 2. Short-term effect. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 139(4):745-751.
- Lin H, Buyse J, Decuyper E 2006 Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comp Biochem Physiol A Integr Physiol* 144:11-17.
- Lindquist S 1986 The heat-shock response. *Ann Rev Biochem* 55:1151-1191.
- Lindquist S, Craig EA 1988 The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet* 22:631-677.
- Livak KJ, Schmittgen TD 2001 Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods* 25(4):402-408.
- Mader J, Arad Z 1989 Panting and acid-base regulation in heat stressed birds. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* 94:395-400.
- Mashaly MM, Hendricks GL 3rd, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO, Patterson PH 2004 Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poult Sci* 83(6):889-894.
- Maxwell MH 1993 Avian blood leucocyte responses to stress. *World's Poult Sci J* 49:34-43.
- Meeker AK, Coffey DS 1997 Telomerase: A promising marker of biological immortality of germ, stem, and cancer cells. *Biochemistry* 62:1323-1331.
- Muiruri HK, Harrison PC 1991 Effect of roost temperature on performance of chickens in hot ambient environments. *Poult Sci* 70(11):2253-2258.
- Mujahid A, Pumford NR, Bottje W, Nakagawa K, Miyazawa T, Akiba Y, Toyomizu M 2007 Mitochondrial oxidative damage in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. *Jpn Poult Sci* 44:439-445.
- Mumma JO, Thaxton JP, Vizzier-Thaxton Y, Dodson WL 2006 Physiological stress in laying hens. *Poult Sci* 85(4):761-769.
- Mustaf S, Kahraman NS, Firat MZ 2009 Intermittent partial surface wetting and its effect on body-surface temperatures and egg production of white brown domestic laying hens in Antalya(Turkey) *Br Poult Sci* 50:30-38.
- Njoya J, Picard M 1994 Climatic adaptation of laying hens. *Trop Anim Health Prod* 26(3):180-186.
- Novero RP, Beck MM, Gleaves EW, Johnson AL, Deshazer JA 1991 Plasma progesterone, luteinizing hormone concentration, and granulosa cell responsiveness in heat-stressed hens. *Poult Sci* 70:2335-2339.
- Powers MV, Workman P 2007 Inhibitors of the heat shock response: Biology and pharmacology. *FEBS Lett* 581(19):3758-3769.
- Quintero-Filho WM, Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Sakai M, Sá LRM, Ferreira AJP, Palermo-Neto J 2010 Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens. *Poult Sci* 89:1905-1914.
- Reece FN, Deaton JW, Kubena LF 1972 Effects of high temperature and humidity on heat prostration of broiler chickens. *Poult Sci* 51:2021-2025.

- 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.
- Rimoldi S, Lasagna E, Sarti FM, Marelli SP, Cozzi MC, Bernardini G, Terova G 2015 Expression profile of six stress-related genes and productive performances of fast and slow growing broiler strains reared under heat stress conditions. *Meta Gene* 31(6):17-25.
- Ritossa FM 1962 A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 18:571-573.
- Rozenboim I, Tako E, Gal-Garber O, Proudman JA, Uni Z 2007 The effect of heat stress on ovarian function of laying hens. *Poult Sci* 86:1760-1765.
- Ryu JC, Kim HJ, Seo YR, Kim KR 1997 Single cell gel electrophoresis (comet assay) to detect DNA damage and apoptosis in cell level. *Environ Mutagens Carcinogens* 17:71-77.
- Sandercock 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.
- Scanes CG 2016 Biology of stress in poultry with emphasis on glucocorticoids and the heterophil to lymphocyte ratio. *Poult Sci* doi:10.3382
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL 1988 A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175(1):184-191.
- Slijepcevic P 2001 Telomere length measurement by Q-FISH. *Cell Sci* 23:14-22.
- 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, Cho EJ, Park JA, Hong YH, Kim CD 2015 Analysis of stress response of domestic chicken breeds for the development of a new synthetic parent stock. *Korean J Poult Sci* 42(2):157-167.
- Sohn SH, Jang IS, Son BR 2011 Effect of housing systems of cage and floor on the production performance and stress response in layer. *Korean J Poult Sci* 38(4):305-313.
- Sohn SH, Subramani VK 2014 Dynamics of telomere length in the chicken. *World's Poult Sci J* 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.
- Song Z, Liu L, Sheikahmadi A, Jiao H, Lin H 2012 Effect of heat exposure on gene expression of feed intake regulatory peptides in laying hens. *J Biomed Biotechnol* 2012:1-8.
- Star L, Decuypere E, Parmentier HK, Kemp B 2008a 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.
- Star L, Kemp B, van den Anker I, Parmentier HK 2008b Effect of single or combined climatic and hygienic stress in four layer lines: 1. Performance. *Poult Sci* 87(6):1022-1030.
- Tamzil MH, Noor RR, Hardjosworo PS, Manalu W, Sumantri C 2013 Acute heat stress responses of three lines of chickens with different heat shock protein(HSP)-70 genotypes. *Int J Poult Sci* 12(5):264-272.
- Wang R, Pan XJ, Peng ZQ 2009 Effects of heat exposure on muscle oxidant and protein functionalities of pectoralis majors in broilers. *Poult Sci* 88:1078-1084.
- Woelfel RL, Owens CM, Hirschler EM, Martinez-Dawson R, Sams AR 2002 The characterization and incidence of pale, soft, and exudative broiler meat in a commercial processing plant. *Poult Sci* 81(4):579-584.
- 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.
- Young JC, Moarefi I, Hartl FU 2001 Hsp90: a specialized but essential protein-folding tool. *J Cell Biol* 154(2):267-273.
- Zulkifli I, Najafi P, Nurfarahin AJ, Soleimani AF, Kumari S, Aryani AA, O'Reilly EL, Eckersall PD 2014 Acute phase proteins, interleukin 6, and heat shock protein 70 in broiler chickens administered with corticosterone. *Poult Sci*

93(12)3112-3118.

Zulkifli I, Siegel HS, Mashaly MM, Dunnington EA, Siegel  
PB 1995 Inhibition of adrenal steroidogenesis, neonatal feed  
restriction and pituitary-adrenal axis response to subsequent

fasting in chickens. *Gen Comp Endocrinol* 97(1):49-56.

---

Received Aug. 26, 2016, Revised Sep. 7, 2016, Accepted Sep.  
12, 2016