

213010-
05-5-
CG200

신
품
종
토
종
종
계
개
발
및
육
종
체
계
구
축

2022

농
림
축
산
식
품
부
농
촌
진
흥
청
농
림
식
품
기
술
기
획
평
가
원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)

Golden Seed 프로젝트 사업 2단계 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003977-01

신품종 토종 종계 개발 및 육종 체계 구축

2022. 3. 25.

프로젝트연구개발기관 / 국립축산과학원 가금연구소
세부프로젝트연구개발기관 / 국립축산과학원 가금연구소
(주)인실리코젠
경상국립대학교
충남대학교

농림축산식품부·농촌진흥청
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관·농촌진흥청 청장 귀하

본 보고서를 “신품종 토종 종계 개발 및 육종 체계 구축”(개발기간 : 2017. 1. 1. ~ 2021. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 3. 25

프로젝트연구개발기관명 : 국립축산과학원 가금연구소 (대표자) 김삼동 (인)

세부프로젝트연구개발기관명 : 국립축산과학원 가금연구소 (대표자) 김삼동 (인)

세부프로젝트연구개발기관명 : ㈜인실리코젠 (대표자) 최남우 (인)

세부프로젝트연구개발기관명 : 경상국립대학교 산학협력단 (대표자) 강상수 (인)

세부프로젝트연구개발기관명 : 충남대학교 산학협력단 (대표자) 정종을 (인)

참여기업명 : ㈜한협원종 (대표자) 오기석 (인)

프로젝트연구책임자 : 추효준

세부프로젝트연구책임자 : 추효준, 김형용, 손시환,
허정민, 이준현

참여기업책임자 : 오기석

국가연구개발혁신법 시행령 제33조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	213010-05-5-C G200	해당단계 연구기간	2017. 1. 1. ~ 2021. 12. 31.	단계구분	2/2
연구사업명	단위사업	Golden Seed 프로젝트사업			
	사업명	GSP중축사업단			
프로젝트명	프로젝트명	신품종 토종 종계 개발 및 육종 체계 구축			
	세부프로젝트명	(1세부) 토종닭 순계집단 보존관리 및 육종 (2세부) 신품종 토종닭 육종 모형 개발 및 통합관리체계 구축 (3세부) 신품종 토종닭 생산을 위한 교배조합 능력검정 시험 및 생산체계 확립 (4세부) 토종 삼계 종자 개발을 위한 교배조합 및 생산체계 확립 (5세부) 토종닭 개체 및 집단식별 분자표지 개발과 검증체계 구축			
프로젝트책임자	추효준	해당단계 참여연구원 수	총: 303명 내부: 249명 외부: 54명	해당단계 연구개발비	정부: 4,720,000천원 민간: 970,400천원 계: 5,690,400천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 303명 내부: 249명 외부: 54명	총 연구개발비	정부: 4,720,000천원 민간: 970,400천원 계: 5,690,400천원
연구기관명 및 소속부서명	국립축산과학원 가금연구소			참여기업명 (주)한협원종 (주)인실리코젠	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: 영남대학교 한경대학교			연구책임자: 김종주 공홍식	
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유	- 보안등급: 일반, - 사유: 국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제 24조의 4에 해당하지 않음				

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	37	7									2

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장 비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

- (자원확보) 민간보유 토종닭 순계의 육종관리에 의한 고유품종 권리 확보
 - 혈통정보에 의한 순계집단 관리 → 계통조성 근거를 확립하고 품종개발에 활용
 - * 가축생명다양성 정보시스템(DAD-IS, FAO) 등재: 순계 4품종 10계통
- (육종기반) 통합육종관리 시스템(GSP-CBIS) 구축으로 순계의 유전능력개량
 - 체중능력에 대한 육종가 기반 선발·교배로 부계활용 계통의 유전능력 향상
 - * 한협진산 2계통의 8주령 체중 육종가의 연간 개량추세('14~'20) ⇒ 30.01g ~ 30.46g
 - 육종자료 관리 및 실시간 유전능력평가 적용으로 순계 개량 지속성 확보
- (품종개발) 종계(PS) 및 실용계(CC) 교배조합능력검정 ⇒ 최적 교배조합 2종 선정
 - 10주령 기준 기존 보급 토종닭 대비 체중 9.7% 증가, 사료효율 13% 개선
 - * 토종닭 육용계의 1.9kg 도달일령: (기존) 70일 → (개선) 65일
 - * 신품종 토종닭 삼계의 850g 도달일령: (기존) 35일 → (개선) 31일
- (산업활용) 분자표지 이용 품종식별 및 깃털 성감별 계통조성으로 실용성 강화
 - 최적 61개, 최소 36개 SNP마커 조합을 이용한 신품종 신뢰성 확보
 - 깃털 조·만우성 유전원리 이용 기술이전 ⇒ 개발교배체계의 만우성 모계통 조성

보고서 면수

220

<요약문>

<p align="center">연구의 목적 및 내용</p>	<p>○ 목적</p> <ul style="list-style-type: none"> - 토종닭 순계집단 보존관리 및 계통별 최적 육종체계 개발과 적용 - 최적 선발·교배조합 체계 구축을 위한 육종모델 설정 및 web DB 구축 - 최적 교배조합 검증을 통한 신품종 토종닭 및 삼계 생산용 토종종계 개발 - 신품종 토종종계의 개체 및 집단식별을 위한 마커 개발과 검증체계 구축 <p>○ 내용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 토종닭 보유 순계 계통의 혈통확립 및 능력검정을 통한 육종기반 구축 - 세대별 선발과 교배를 통한 계통별 형질 고정 및 순수화 - 신품종 토종종계 개발을 위한 원종계(GPS) 생산 및 공급으로 국내외 보급체계 구축 - 개체, 혈통, 형질, 유전자마커 유전자형자료 수집 및 DB화 - 표현형·혈통정보 기반 최적 선발·교배조합 모형 설정 및 육종 체계 구축 - 혈통정보 기반 유전모수 및 육종가 추정 - DB와 연동된 선발·교배프로그램 제작 및 농가 편리 Web기반 DB 서비스 개발 - 토종닭 생산용 신품종 토종종계 개발 최적 교배조합체계 확립 - 토종 실용계 생산을 위한 신품종 종계 개발 및 육종체계 확립 - 신품종 토종 실용계 깃털 이용 성감별 계통 조성 - MS 및 SNP 마커를 이용한 신품종 토종종계의 개체 및 집단 식별 마커 개발 - 개체 및 집단 식별 마커를 이용한 신품종 토종종계 검증 키트 및 개발 - 신품종 토종종계 식별 마커를 이용한 품종 검증 체계 구축
<p align="center">연구개발성과</p>	<p>< 토종닭 순계 집단의 육종기반 구축></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 혈통정보에 의한 순계집단 관리 <ul style="list-style-type: none"> - 육종관리 토종닭 10계통의 국제 기구 등재(DAD-IS, FAO) ○ 통합육종관리 시스템 구축에 의한 순계의 유전능력 개량 <ul style="list-style-type: none"> - 신품종 개발 활용 부계 2계통의 8주령 체중 유전능력 개량(17~20) - (한협 진산 F) : 31.46g/부화세대, (한협 진산 H) : 31.01g/부화세대 - 육종정보 수집관리 및 실시간 유전능력평가 활용 DB 시스템 개발 <p>< 신품종 토종닭 생산을 위한 최적 교배체계 확립></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 교배조합능력검정에 의한 신품종 토종닭 생산 최적교배조합 선정 <ul style="list-style-type: none"> - 육용 토종닭의 1.9kg 도달일령: (기존) 70일 → (개선) 65일 - 삼계용 토종닭 800g 도달일령: (기존) 35일 → (개선) 31일 ○ 신품종 토종닭 생산체계 내 깃털 조만우성에 의한 자가 성감별 기술 적용 <ul style="list-style-type: none"> - 모계용 만우성 원종계 계통 조성 완료 및 성감별율 98.6% <p>< 신품종 토종닭의 품종 검증 체계 구축></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 최적 61개, 최소 36개 SNP마커 조합을 이용한 개발품종의 식별 체계 구축 - 기계학습 모델을 적용한 품종식별 정확도 평가 결과 99.9%
<p align="center">연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>○ 기술적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> - (집단관리) 토종닭 순계집단의 계통 정립 및 육종사업 효율성 제고 * 명확한 혈통관리에 의한 계통 확립 근거 제시 및 품종개발에 활용 - (정보활용) 민간보유 토종닭의 육종관리를 위한 시스템 개발 * 육종자료 관리 및 유전능력 개량을 위한 시스템 활용으로 민간 육종사업 역량 강화 * 토종닭 집단의 생물정보 축적과 활용 기반 마련으로 육종사업의 지속성 제고 - (품종개발) 닭의 상업적 이용 단계를 따르는 산업화 체계 확립

	<ul style="list-style-type: none"> * 육종관리를 적용한 순계자원으로부터 닭의 상업적 이용 단계를 따르는 교배조합 확립 - (품종권리) 유전정보 기반 신품종 식별 및 검증 체계 개발 * 국내 고유 닭 유전자원의 보호 및 개체군의 원산지에 대한 신뢰성 확보 ○ 산업·경제적 측면 - (산업점유) 최적 생산능력을 가진 신품종 토종닭 생산체계의 보급 및 활성화 * 신품종 토종닭 종계 보급으로 국내 시장점유율 30% 지향 - (소비요구) 명확한 생산체계에 의한 토종닭 생산으로 최근의 사회·인구 구조 변화에 따른 안정성, 신뢰성 및 품질 추구에 대응 - (소비촉진) 백세미, 일반육계 대비 신품종 토종닭의 육질 및 영양, 기능 특성 등 우수성 홍보에 의한 토종닭 소비 촉진 - (소통·협업) 닭 종자 산업의 가치사슬에 의한 신품종 토종닭의 부가가치 창출 협업 				
국문핵심어 (5개 이내)	토종닭	순계	육종	교배조합	분자유전 표지인자
영문핵심어 (5개 이내)	Korean Native Chicken	Pure line	Breeding	Cross mating	Molecular genetic marker

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

< 목 차 >

제 1 장	연구개발과제의 개요	1
제 1절	연구개발의 목적	1
제 2절	연구개발의 필요성	2
제 3절	연구개발 내용 및 범위	4
제 2 장	연구수행 내용 및 결과	5
제 1절	토종닭 순계집단 보존관리 및 육종	5
제 2절	신품종 토종닭 육종 모형 개발 및 통합관리 체계 구축	23
제 3절	신품종 토종닭 생산을 위한 교배조합 능력검정 시험 및 생산체계 확립	56
제 4절	토종 삼계 종자 개발을 위한 교배조합 및 생산체계 확립	82
제 5절	토종닭 개체 및 집단식별 분자표지 개발과 검증체계 구축	116
제 3 장	목표 달성도 및 관련분야 기여도	202
제 1절	연구개발 목표의 달성도	202
제 2절	관련분야 기여도	204
제 4 장	연구결과의 활용 계획	205
붙임.	참고문헌	206

<별첨 1> 연구개발보고서 초록

<별첨 2> 연구성과 활용계획서

제 1장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발 목적

본 프로젝트는 국내 고유 토종닭 순계 자원에 대한 계통의 정립과 능력개량 통해 토종닭 육종체계 구축으로 민간 토종닭 육종사업 기반을 조성하고 이의 산업화와 해외 수출 추진을 위하여 순계 자원으로부터 우수한 종계 및 실용계의 생산이 가능한 교배조합 생산 체계를 확립하고자 하였다. 또한 이의 상업적 가치를 향상시킬 수 있도록 개발 품종의 식별 및 검증 체계를 개발하여 품종의 보존과 경쟁력을 확보를 추진하였다. 상기 목적의 달성을 위해 닭 산업에 적용되는 육종단계인 순계-원종계-종계-실용계 단계에 적용할 수 있는 5개의 세부 연구과제를 구성하고 연구수행 내용과 결과가 닭의 상업적 육종과정에 환류 되어 최종 개발 단계까지 적용될 수 있도록 하였으며 본 프로젝트의 세부적인 목적과 연구범위를 요약하면 아래와 같다.

가. 토종닭 순계집단의 보존관리 및 육종

- 토종닭 순계집단의 계통별 최적 육종체계 개발과 적용
- 세대별 선발과 교배를 통한 계통별 형질 고정 및 순수화
- 신품종 토종종계 개발을 위한 원종계(GPS) 생산 및 공급

나. 신품종 토종닭 유종 모형 개발 및 통합관리체계 구축

- 순계, 원종계 종계 최적 선발교배조합 체계 구축을 위한 육종모델 설정
- 최적선발교배조합 프로그램 DB 개발과 현장 활용 Web DB구축

다. 신품종 토종닭 생산을 위한 교배조합 능력검정 시험 및 생산 체계 확립

- 토종닭 생산용 신품종 토종종계 개발과 최적 교배제체 확립
- 토종 실용계 생산을 위한 신품종 종계 개발 및 육종체계 확립
- 신품종 토종 실용계 깃털 이용 성감별 계통 조성

라. 토종 삼계 종자 개발을 위한 교배조합 및 생산체계 확립

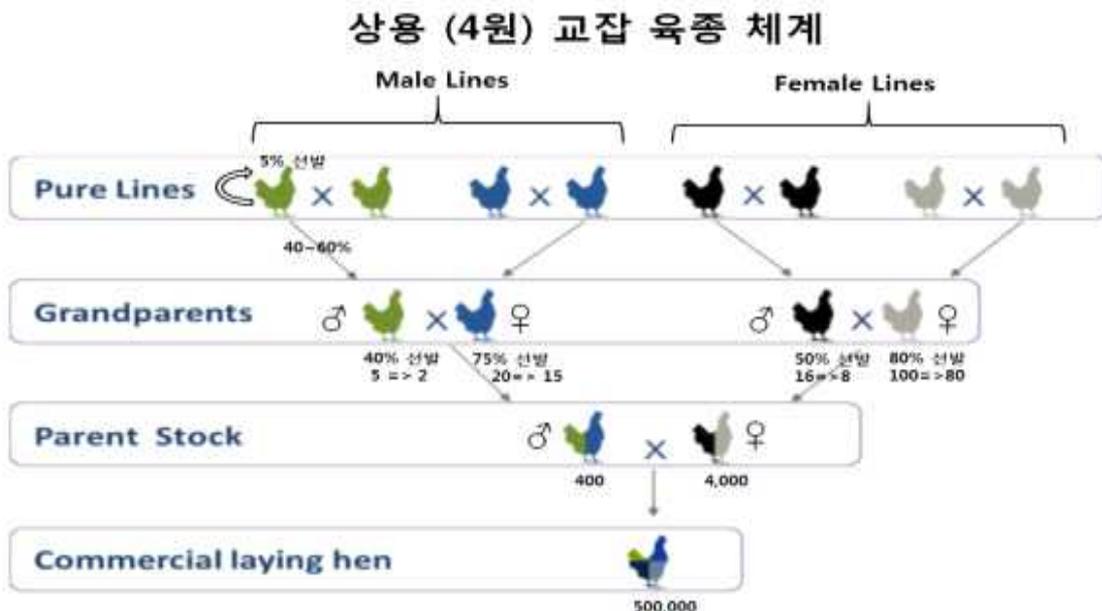
- 토종 삼계 생산용 신품종 토종 종계 개발
- 토종 삼계 생산용 신품종 토종종계 개발 최적 교배조합체계 확립
- 토종 삼계 실용계 생산을 위한 신품종 종계 개발 및 육종체계 확립

마. 토종닭 개체 및 집단식별 분자표지 개발과 검증체계 구축

- MS 및 SNP 마커를 이용한 신품종 토종종계의 개체 및 집단 식별 마커 개발
- 개체 및 집단 식별 마커를 이용한 신품종 토종종계 검증 키트 개발
- 신품종 토종종계 식별 마커를 이용한 품종 검증 체계 구축

제 2절 연구개발의 필요성

- 육용전용종 종계 전수를 다국적 기업에서 수입하고 있는 현실에서 닭 종자의 해외 종속 문제 해결, 국산종계 개발로 순수 국산 종자를 이용한 차별화된 가공산물의 생산이 가능
- 순계의 지속적인 도태와 선발 등의 계통조성으로 표현형을 고정하고 분자유전학적 특이성을 찾아내어 순계로서의 가치를 제고하는 육종사업이 필요함
- 닭의 개량은 다른 축종(소, 돼지)와 달리 짧은 세대(1년), 번식능력, 효율적인 인공부화기술, 수정맞춤형사양조건, 일괄사육방법, 전형매·반형매의 많은 개체수 등의 많은 장점들을 가지고 있으며, 또한 동일한 부모, 즉 전형매 개체들 간의 유전적 차이가 다른 축종보다 크진 않음
- 육용계 육종프로그램은 일반적으로 단계적인 선발구조를 가지고 있는데, 즉 성장형질에 대하여 우선선발을 진행한 이후에 번식형질에 대한 선발을 수행할 수 있으며, 또한 여러 형질을 동시에 고려한 다형질 유전능력평가를 수행하여 선발의 편차와 여러 형질들의 유전적 개량을 균형있게 수행할 수 있음
- 일반적인 닭의 교배체계는 4원 계통 교잡 육종체계이며, 4계통의 상가적효과 잡종강세 효과를 최대한 활용하고 있는데, 선발로 인한 유전적 개량은 주로 순계 또는 GPS에서 이루어지며 잡종강세 또는 교배조합효과는 PS와 상용계 조합시에 나타남. 따라서 상용계 및 PS에서의 표현형 성적과 GPS 및 PL의 표현형 성적을 통합한 선발모델 설정과 교배조합(잡종강세)능력을 평가할 수 있는 최적 육종모델 설정이 필요함



- 신품종 종계 개발을 위하여, 다양한 품종 및 교배조합에 대한 개체, 혈통, 형질, 유전자형 정보를 다뤄야 하며, 이를 체계적으로 데이터베이스화하여 육종 방향 설정에 활용해야 함. 종계 GSP 1단계 수집한 데이터를 확장하고, 지속적인 데이터 수집과 함께, 유연한 데이터 모델 현행화가 필요
- 구축된 데이터베이스가 육종 방향 설정에 활용되기 위해서는 수집된 데이터에 기반하여, 혈통육종가, SNP 분자유종가 추정, 유전자형으로 개체 및 계통을 확인할 수 있는 기능이

필요함. 또한 모바일 웹 어플리케이션 기능 개발을 통해 육종 현장 활용성을 높여야 할 필요성이 있음

- 신품종 토종종계를 개발하는데 있어 국가 및 민간이 보유하고 있는 종계의 유전적 분석은 품종의 다양성과 한국의 독자적인 품종 개발 및 보급에 필요함
- 신품종 토종종계의 개발에 앞서 유전적 변이를 활용한 개체 및 집단 구분은 보다 정확하고 신뢰성 있는 식별방법으로 소비자에게 정확한 정보를 제공할 수 있음
- 개체 및 집단 식별 마커의 개발은 토종종계의 육종계획 수립과 이후 검증 및 토종종계 인증체계 확립에 필요한 연구임

제 3절 연구개발 내용 및 범위

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차 년도	2017	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자 개발용 순계 계통별 산육 및 산란능력 향상 ○ 검정 성적 DB 관리 체계 구축 ○ GPS 교배조합능력검정 시험에 의한 우수 종계 계군 선발 및 품종 식별마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 순계 계통 별 산육 및 산란능력 검정에 의한 선발, 교배 - 검정자료 DB 입력, 기초통계량 분석 및 자료관리 DB 관리 - 교배조합 검정을 통한 종계계군 선정 - 최소 MS 및 SNP 마커조합 이용 신품종 토종종자의 식별 마커조합 제공
2차 년도	2018	<ul style="list-style-type: none"> ○ 능력검정 결과를 기초로 선발지수식 적용 육종가에 의한 선발 ○ 표현형·혈통정보 기반 순계, 원종계 선발 모형 설정 및 체계 구축 ○ 선정 GPS교배조합능력 검정 및 신규 조합 확대시험 및 인증을 위한 순계 유전자형 확보 	<ul style="list-style-type: none"> - 계통별 최적 육종체계 개발과 적용 - 교배체계의 유전적 고정 확인 및 현장 실증 - 산육성 대비 육질이 우수한 실용계 생산 교배체계 제시 - 신품종 토종종자 정확한 식별 및 품종 인증을 위한 PL 계통의 유전자형 확보
3차 년도	2019	<ul style="list-style-type: none"> ○ 능력검정 결과를 토대로 이모색, 강건성 등 외모를 고려한 선발, 교배 ○ 순계, 원종계 해당 형질 관련 최적 선발 모형설정 및 육종가 추정 피드백 ○ 신품종의 산업적 이용 다각화 및 유전자형 DB 구축 	<ul style="list-style-type: none"> - 세대별 선발과 교배를 통한 계통별 형질 고정 및 순수화 - 깃털 조만성 이용 성감별 계통 조성 - 산육성 및 육질특성 강화를 통한 목적별 실용계의 산업적 이용 다각화 - 신품종 토종닭 유전자형 DB 구축
4차 년도	2020	<ul style="list-style-type: none"> ○ 개체 및 가계별 능력을 고려한 선발에 의한 배육표 작성에 의한 육종 ○ 주요경제형질에 대한 유의적인 SNP발굴 특징 종계 육성 ○ 우량 교배종 대량 생산용 깃털성감별 모계통조성 및 식별 마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 신품종 토종종계 개발을 위한 원종계 (GPS) 생산 및 공급 - 산육성 및 육질이 향상된 토종닭 실용계 생산체계 확립 - 균일도 향상 삼계 생산용 종계 개발 - 현장에서 선발 및 품종의 식별이 가능한 분자마커 Kit의 개발
5차 년도	2021	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1단계 및 2단계 연구에서 확립된 교배 체계에 의한 GPS, PS 증식 ○ 신품종 개발종계의 생산 및 국내외 보급체계 구축 ○ 육종 데이터 현장 적용 모바일 웹 어플리케이션 구현 	<ul style="list-style-type: none"> - 신품종 개발종계의 생산 및 국내외 보급 체계 구축 - 육종 체계에 따른 국산 종계 및 실용계 (CC), 삼계 개발·보급 체계 확립 - 개발 종계 및 실용계의 인증기준 제시 - 현장에서 선발 및 품종의 식별 검증 시스템 확립

제 2장 연구수행 내용 및 결과

제 1절 토종닭 순계집단 보존관리 및 육종

1. 순계집단의 관리

가. 토종닭 순계집단 운영 계획 수립

참여기업에서 보유하고 있는 토종닭 순계자원에 대하여 육종사업 추진 효율성 제고를 위하여 순계 자원의 활용도 및 참여기업의 순계 육성농장 사육규모 및 선발교배 비율을 고려하여 순계 육성 계획을 수립하였다. 순계자원의 활용도는 1단계(2013~2016)교배조합 능력검정 결과를 반영하여 신품종 토종닭 개발에 유망한 산업화 5계통을 지정하였고 나머지 계통은 향후 품종개발 활용을 위한 보존관리 5계통으로 구분하여 기업의 육종사업에 대한 정책적 가중치를 설정하여 운영되도록 하였다. 연구개발 4년차(2020년)에 종계 및 실용계 생산 교배체계 확립 연구에서 기업 보유 순계 계통 중 한협 금산 Y계통이 모계통으로 산업적 활용성이 높은 결과를 보임에 따라 신품종 토종닭의 보급기반 조성을 위해 기존 유지 수수 대비 증산하여 관리하도록 순계 유지계획에 반영하였다. 이후, 기업 보유 한협 진산 F계통, 한협 진산 H계통 및 한협 금산 Y계통을 이용한 신품종 토종닭의 최적 교배체계 및 깃털 성감별 생산체계가 최종 확립됨에 따라 중점육종관리 5계통에서 상대적 중요도가 낮은 한협 추부 S계통, 한협 추부 W계통의 유지수수를 감산하고 한협 진산 F계통을 깃털 발육성에 따라 조우성 및 만우성 계통으로 분리조성 하여 유지되도록 운영 계획을 수립하여 적용하였다.(표 1) 아울러, 유지·보존 관리 대상 계통에 대한 능력검정 및 혈통관리를 지속 추진하여 향후 품종개발에 활용하기 위한 능력개량 사업을 적용할 수 있도록 하였다.

표 1. 참여기업 토종닭 순계 계통별 육성 목표 수수 및 정책적 가중치

연번	계통	암컷	수컷	총 유지수수	유지 정책의 가중치
1	한협 추부 S	700	200	900	개량 및 산업활용을 위한 중점 육종 관리
2	한협 추부 W	700	200	900	
3	한협 금산 Y	3,000	400	3,400	
4	한협 진산 H	800	350	1,150	
5	한협 진산 LF ¹⁾	500	260	760	
6	한협 진산 EF ²⁾	500	260	760	
7	한협 제원 A	280	50	330	유지·보존 관리
8	한협 금성 G	300	50	350	
9	한협 금성 V	300	50	350	
10	한협 남이 Z	200	40	240	
11	한협 남일 B	50	10	60	
합계		7,330	1,870	9,200	

1) 한협진산 F 만우성 계통, 2)한협 진산 F 조우성 계통



그림 1. 한협 진산 F계통



그림 2. 한협 진산 H계통



그림 3. 한협 추부 S계통



그림 4. 한협 추부 W계통



그림 5. 한협 금산 Y계통



그림 6. 한협 금성 G계통

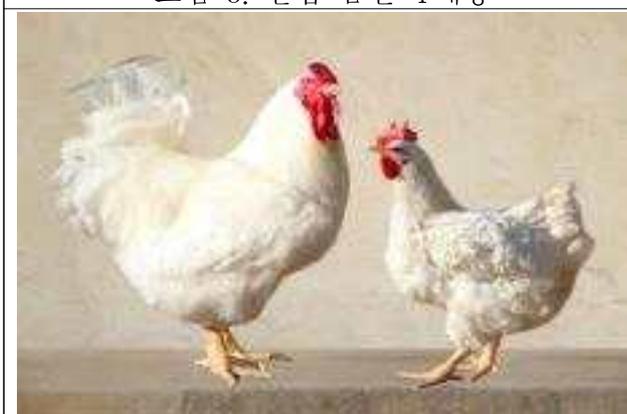


그림 7. 한협 금성 V계통

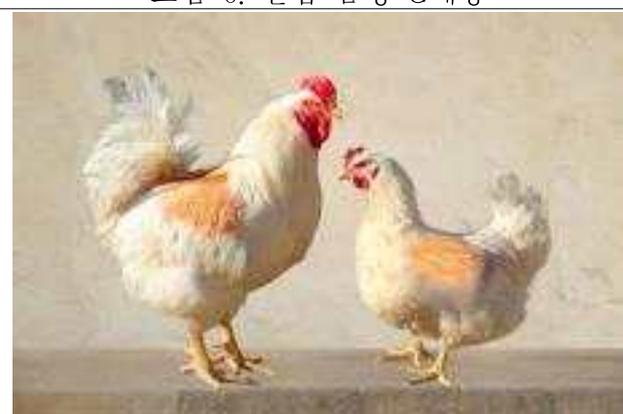


그림 8. 한협 제원 A계통



그림 9. 한협 남이 Z계통



그림 10. 한협 남일 B계통

나. 순계 계통의 혈통 정립

(1) 혈통부화

본 연구의 관리 대상인 참여기업 보유 토종닭 순계집단은 연구사업 참여 전 계통별 가계만을 구성하여 매 세대 집단을 유지하여 후대 생산의 근거가 되는 수컷 및 암컷 선발개체의 기록관리가 명확하지 않아 능력개량에 활용 가능한 혈통정보의 구축이 필요하였다. 가축의 능력개량을 위해서 능력검정을 통한 형질 정보와 이를 유전적 혈연관계 정보와 함께 이용하여 수리통계학적 기법과 전산 프로그램을 활용하여 후대에 우수한 유전적 소질을 전달 할 수 있는 부모개체의 선발과 교배가 필요하다. 본 과제에서는 토종닭 순계의 능력 개량에 이용 가능한 혈통정보 구축을 위해 계통별 혈연관계를 파악할 수 있도록 매 세대 계통별로 부개체와 모개체 및 이의 교배를 통한 후대를 알 수 있도록 혈통부화 방법을 적용하였다(그림 11).



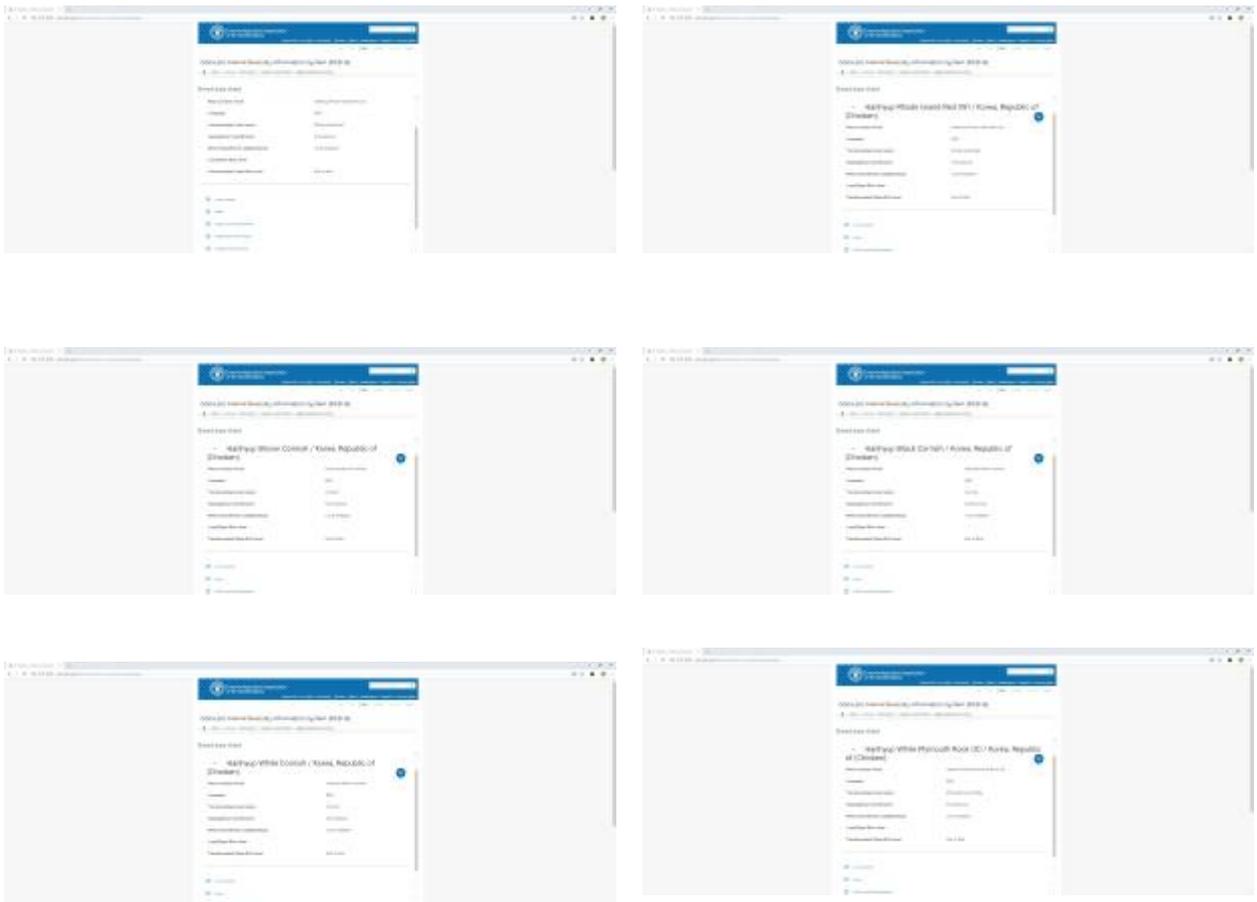
그림 11. 순계의 혈통정보 구축을 위한 혈통부화 과정

닭의 혈통정보를 생성하기 위해서는 부화된 병아리의 아버지와 어머니 및 해당 개체의 가계를 알 수 있도록 종란을 생산하여야 하고 이의 기록을 통해 개체들간 혈연관계 정보를 만들고 추적할 수 있도록 하는 일련의 부화과정이 필요하다. 또한 혈통 부화 시 기록의 정확성이 중요한데 이를 위해 하나의 아버지와 어미로부터 생산된 종란은 다른 종란과 섞이지 않도록 구분하여 입란되도록 하였다. 혈통부화에 대한 정보 기록은 집단의 개체현황 목록을 바탕으로 종란생산에 이용하기 위해 선발한 부모세대의 수컷과 암컷 개체를 기록하고 여기에 해당 부모로부터 태어난 병아리에 고유 개체식별번호를 부여하였으며 개체의 고유번호 체계는 부화년도, 계통코드,

개체를 나타내는 일련번호 등을 적용하여 각 개체가 식별 될 수 있도록 개체번호가 생성되도록 하였고 혈통부화 일련의 과정이 숙련되도록 관련 기술 지도를 지속적으로 실시하여 추진하였다.

2014년부터 2021년까지 8세대에 걸쳐 혈통부화 체계를 적용하여 순계 10계통에 대한 계통별 혈통정보를 구축하였으며 혈통정보는 신품종 토종닭 개발을 위한 생산체계 확립 연구에서 부계로 활용되는 순계 계통의 체중 능력개량에 활용하였다. 아울러 순계의 선발교배 체계를 구축하기 위한 육종모형 설정과 유전능력평가 시스템 개발 연구에 활용하기 위한 자료로 제공되었으며 그 외 계통별 근교계수의 상승을 제한하기 위한 교배계획 수립에 활용하여 지나친 근교수준 상승을 억제하여 순계집단의 유전적 다양성을 유지할 수 있도록 하였다. 또한 본 연구에서 구축된 혈통정보는 순계 계통의 세대별 증식과정을 이행한 기록으로 계통 정립의 근거로 활용할 수 있으며 혈통관리가 추진된 순계를 세계농업식량기구 산하 가축생명다양성정보시스템(Domestic Animal Diversity Information System, FAO)에 등재하여 국제사회에 정보를 제공하여 국내 고유 닭 유전자원으로 보존되고 있는 순계의 품종권리를 확보하였다.(그림 12)

혈통부화 기록은 집단의 근교계수 정도를 파악할 수 있는데 계통 조성 목적에 따라 높은 수준의 근교계수를 유지 또는 제한하여 계통의 조성과정에서 고정화 작업 또는 근교퇴화 방지를 위한 수단으로 활용할 수 있다. 본 연구를 통해 기업 보유 순계 10계통의 계통별 근교계수 범위는 평균 0.0 분석되었으며 이러한 결과는 향후 참여기업의 신계통 조성 필요 시 집단관리의 효율성을 제고할 수 있을 것으로 사료된다.



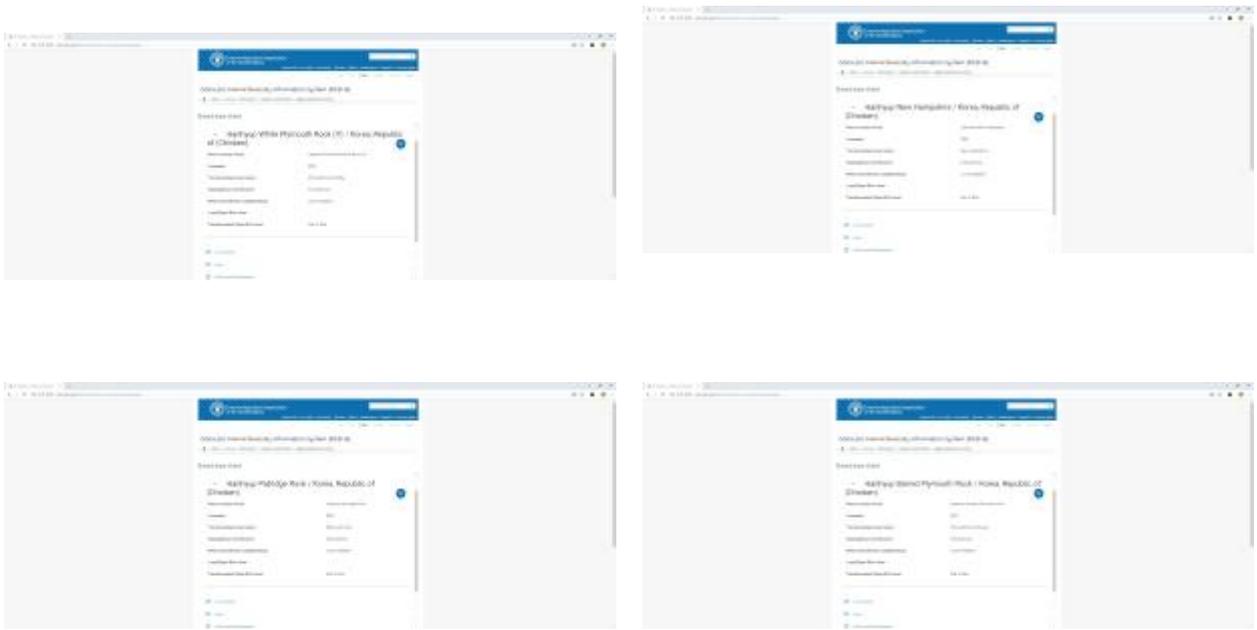


그림 12. 연구 활용 토종닭 순계의 가축생명다양성정보 시스템 등재 현황(4품종 10계통)

(2) 혈통부화 성적

본 연구 수행기간 동안 혈통부화를 통한 순계 계통의 번식 현황은 표 3과 같다. 순계집단의 부화는 혈통정보 수집에 개체간 혈연관계를 명확하도록 추진되어야 할 필요성과 이에 수반되는 부화작업시간 및 인력 여건을 고려하여 부화세대마다 2회에 걸쳐 생산되도록 추진하였다. 인공수정 방법에 의한 안정적인 증식이 이행되도록 교배되었으며 이를 통해 연구기간 동안 혈통부화에 의한 번식성적에서 수정율은 87.4%~93.2%범위로 나타났으며 수정대부화율 79.1%~89.1%의 범위로 나타났다.

표 3. 순계 집단의 혈통부화 결과(2017~2021)

부화 년도	생산 회차	발생일	입란수	수정율 (%)	수정대 부화율 (%)	입추 수수
2017	1	2017-11-26	15,110	91.1	92.0	8,350
	2	2017-11-28	8,984	88.4	89.1	4,441
2018	1	2018-10-24	20,836	91.4	81.9	9,063
	2	2018-11-06	3,471	93.0	88.3	1,880
2019	1	2019-10-21	15,689	87.4	79.7	6,376
	2	2019-11-01	6,517	91.3	81.3	2,909
2020	1	2020-10-30	16,049	92.4	79.3	5,883
	2	2020-11-13	8,826	89.8	79.1	4,830
2021	1	2021-11-01	9,990	93.2	83.8	4,604
	2	2021-11-15	16,590	89.9	80.0	6,409

2. 방역관리

순계육성이 추진되고 있는 원종농장은 차단방역상 지리적 이점을 지니고 있으나 외부 오염원 유입에 의한 차단방역 관리 강화 필요성에 따라 농장 주변 방역펜스 설치, 외부 사료 이송장치에 의한 사료 반입으로 외부 차량의 농장 내부 접근이 차단되도록 하였으며, 농장내부 바닥에 콘크리트를 타설하여 질병 및 방역관리상 유기물이 농장 내 잔존할 수 있는 가능성을 최소화하고자 하였다. 또한 관리 직원의 숙소를 외부로 이전하고 농장 내부로 출입 시 대인소독 관리를 할 수 있도록 샤워시설 및 전실 공간을 마련하여 방역관리를 강화하여 순계 자원의 안정적 육성을 도모하였다.



〈 농장 내 콘크리트 타설 〉 〈 외부 사료이송장치 설치 〉 〈 보강된 농장 진입 환경 〉

그림 13. 순계육성농장의 차단방역 관리 강화

3. 순계집단의 검정정보 수집 및 능력개량

가. 검정정보 수집

닭의 상업적 활용을 위해서는 닭 육종구조의 최상위 단계의 순계의 능력을 개량하고 이를 모본으로 원종계로 이용하고 종계 단계 및 실용계 증식과정의 교배를 통한 잡종강세 효과로 생산능력이 향상된 실용계를 생산하는 체계를 따르게 된다. 이에 본 연구에서는 수립된 육종계획에 따라 산업화 활용에 유망한 중점육종관리 5계통을 중심으로 검정정보 수집을 추진하였다.

(1) 체중능력 검정

본 연구에서는 신품종 토종닭 개발이 육용형으로 추진되는 점을 고려하여 성장능력 개량을 위해 8주령 체중을 개량 형질로 선정하여 정보를 수집하였으며 그 결과는 표 4, 표 13 및 그림 13, 그림 14에 나타난 바와 같다. 한협진산 F 계통과 한협진산 H계통은 신품종 개발 시 부계로 활용성이 유망한 계통으로 부화세대별로 조사된 8주령 체중의 표현형은 두 계통의 암컷 및 수컷 집단 모두 검정 개시된 2014년에서 2020년 부화 세대에 이르기까지 증가한 결과를 나타내어 개발 활용 목적에 부합되도록 육성되었다. 변이계수는 부화 세대 경과에 따라 감소하는 경향을 나타내어 집단의 균일성이 개선되고 있는 것으로 사료 된다. 다만, 특정 부화 세대를 기점으로 표현형의 증감이 관찰되었으며 이는 부족한 능력검정 인력, HPAI발생 상황에 따른 방역수칙 준수(농장 간 이동금지, 축산관련종사자 이동제한 조치 등)에 따라 집단의 체중 능력 검정 시기의 일관성이 유지되지 못한 것에 영향하는 것으로 사료 된다.

신품종 개발 시 모계로 활용성이 유망한 계통으로 한협 금산 Y계통, 한협 추부 S계통, 한협

W계통에 대하여 부화 세대별로 조사된 8주령 체중은 능력검정이 시행된 2014년부터 2020년까지 소폭의 증가 경향을 나타내었다. 이는 모계의 주된 활용성에 따라 산란능력 확보에 가중치를 두고 매 세대 선발 시 체중의 증가를 억제하는 방향으로 추진한 결과가 반영된 것이라 사료 된다. 또한, 중점육종관리 5계통의 체중 능력은 일반적으로 알려진 계통의 품종 특성에 부합하는 것으로 사료된다.

변동계수는 세 계통에서 검정 개시연도 대비 동일한 수준을 유지하거나 오히려 상승한 결과를 나타내어 한협 진산 F계통과 한협 진산 H계통의 경향과 상반되는 결과를 보였다. 이는 앞서 언급한 바와 같이 집단의 검정 시기가 일관되게 추진되지 못한 결과로 사료되며 이에 따라 각 계통의 체중분포 범위가 커진 것이라 판단된다. 향후 유전능력평가의 정확도 향상을 위해 동일한 사양조건 및 측정 시기에 능력검정이 추진되어야 할 것이다.

표 4. 한협진산 F계통 암컷 집단의 부화 세대별 8주령 체중 기초통계

한협진산 F-암컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	848	1,020.2	195.2	445	1,785	19.1
2015	1,284	1,461.7	239.6	625	2,215	16.4
2016	1,252	1,210.8	163	465	1,615	13.5
2017	901	1,291.3	117	685	1,735	9.1
2018	843	1,304.3	137.1	725	1,855	10.5
2019	607	1,658.8	179.7	1,105	2,545	10.8
2020	803	1,618.3	144.6	1,165	2,205	8.9

표 5. 한협진산 H계통 암컷 집단의 부화 세대별 8주령 체중 기초통계

한협진산 H-암컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	423	1,038.8	166.9	410	1,605	16.1
2015	441	1,396.5	243.6	635	2,135	17.4
2016	952	1,173.7	146.5	420	1,530	12.5
2017	811	1,253.9	128.1	750	1,725	10.2
2018	612	1,182.5	134.7	705	1,670	11.4
2019	536	1,656.3	195.5	905	2,540	11.8
2020	811	1,541.6	142.6	1,090	2,210	9.3

표 6. 한협진산 F계통 수컷 집단 of 부화 세대별 8주령 체중 기초통계

한협진산 F-수컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	810	1,110.0	217.5	175	1,765	19.6
2015	831	1,388.9	271.1	595	2,240	19.5
2016	775	1,277.6	117.3	805	1,640	9.2
2017	666	1,363.8	139.1	730	1,750	10.2
2018	506	1,492.2	172.2	825	2,060	11.5
2019	443	1,843.4	240.4	1,070	2,950	13.0
2020	596	1,737.7	152.8	1,215	2,175	8.8

표 7. 한협진산 H계통 암컷 집단 of 부화 세대별 8주령 체중 기초통계

한협진산 H-수컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	406	1,125.7	206.6	535	1,820	18.3
2015	378	1,487.1	306.5	630	2,315	20.6
2016	974	1,278.3	165.9	610	1,880	13.0
2017	611	1,352.2	143.3	825	1,840	10.6
2018	445	1,481.3	160.4	805	2,005	10.8
2019	488	2,155.7	232.4	1,220	2,900	10.8
2020	535	1,803.9	159.8	1,040	2,195	8.9

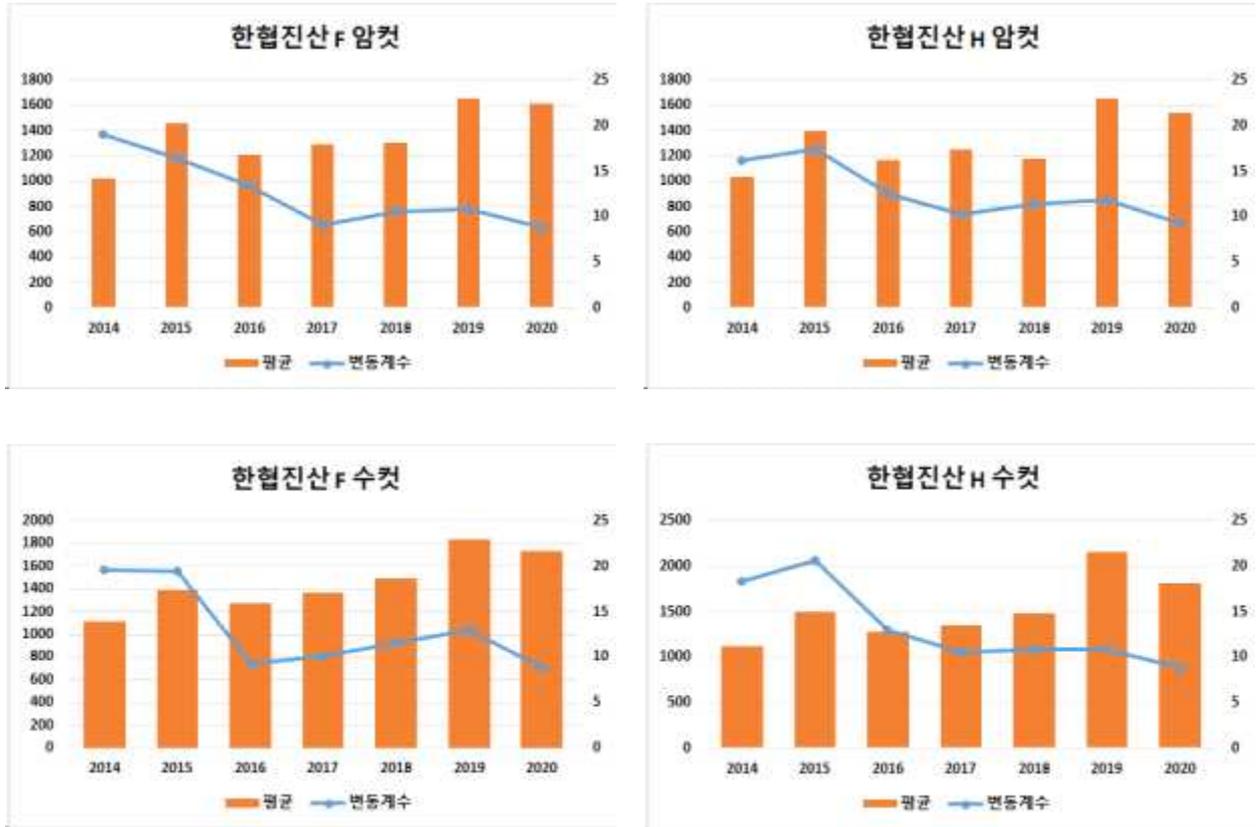


그림 14 . 한협진산 H, 한협진산 F계통에 대한 8주령 체중 성적 및 변이계수 변화

표 8. 한협추부 S계통 암컷 집단 of 부화 세대별 8주령 체중의 기초통계량

한협추부 S-암컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	1,327	575.3	88.5	260	870	15.4
2015	1,115	657.5	86.4	380	890	13.2
2016						
2017	1,996	561.2	66.5	335	775	11.9
2018	1,333	593.2	67.7	300	860	11.4
2019	1,384	674.2	102.5	405	1,220	15.2

표 9. 한협추부 W계통 암컷 집단 of 부화 세대별 8주령 체중의 기초통계량

한협추부 W-암컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	1,325	526.9	83.1	170	840	15.8
2015	1,210	696.2	90.7	390	1015	13.0
2016						
2017	1,663	523.3	77.3	140	845	14.8
2018	1,505	609.9	71.74	10	865	11.7
2019	1,190	667.2	111.4	265	1,415	16.7

표 10. 한협추부 Y계통 암컷 집단 of 부화 세대별 8주령 체중의 기초통계량

한협금산 Y-암컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	528	551.8	80.9	240	760	14.7
2015	753	724.1	87.1	435	980	12.0
2016						
2017	1,967	647.3	76.5	320	980	11.8
2018	1,407	646.0	79.3	55	985	12.3
2019	2,126	623.4	102.1	285	1390	16.4

표 11. 한협추부 S계통 수컷 집단 of 부화 세대별 8주령 체중의 기초통계량

한협추부 S-수컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	1285	675.8	111.4	270	1000	16.5
2015	463	783.4	91.9	105	1070	11.7
2016						
2017	406	663.5	73.5	405	860	11.1
2018	477	720.1	85.2	305	935	11.8
2019	272	798.5	129.3	410	1,430	16.2

표 12. 한협추부 W계통 수컷 집단 of 부화 세대별 8주령 체중의 기초통계량

한협추부 W-수컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	632	633.8	98.8	380	960	15.6
2015	312	810.4	99.4	460	1,090	12.3
2016						
2017	308	574.3	71	395	730	12.4
2018	505	728.1	84.21	235	1,025	11.5
2019	290	783.7	144.7	440	1,435	18.5

표 13. 한협추부 Y계통 수컷 집단 of 부화 세대별 8주령 체중의 기초통계량

한협금산 Y-수컷						
Hatch year	N	MEAN	STD	Min	Max	CV(%)
2014	299	657.9	99.9	390	970	15.2
2015	839	846	102.5	400	1115	12.1
2016						
2017	420	744.6	79.2	430	960	10.6
2018	476	767.4	83.9	470	975	10.9
2019	366	844.3	131.6	470	1360	15.6

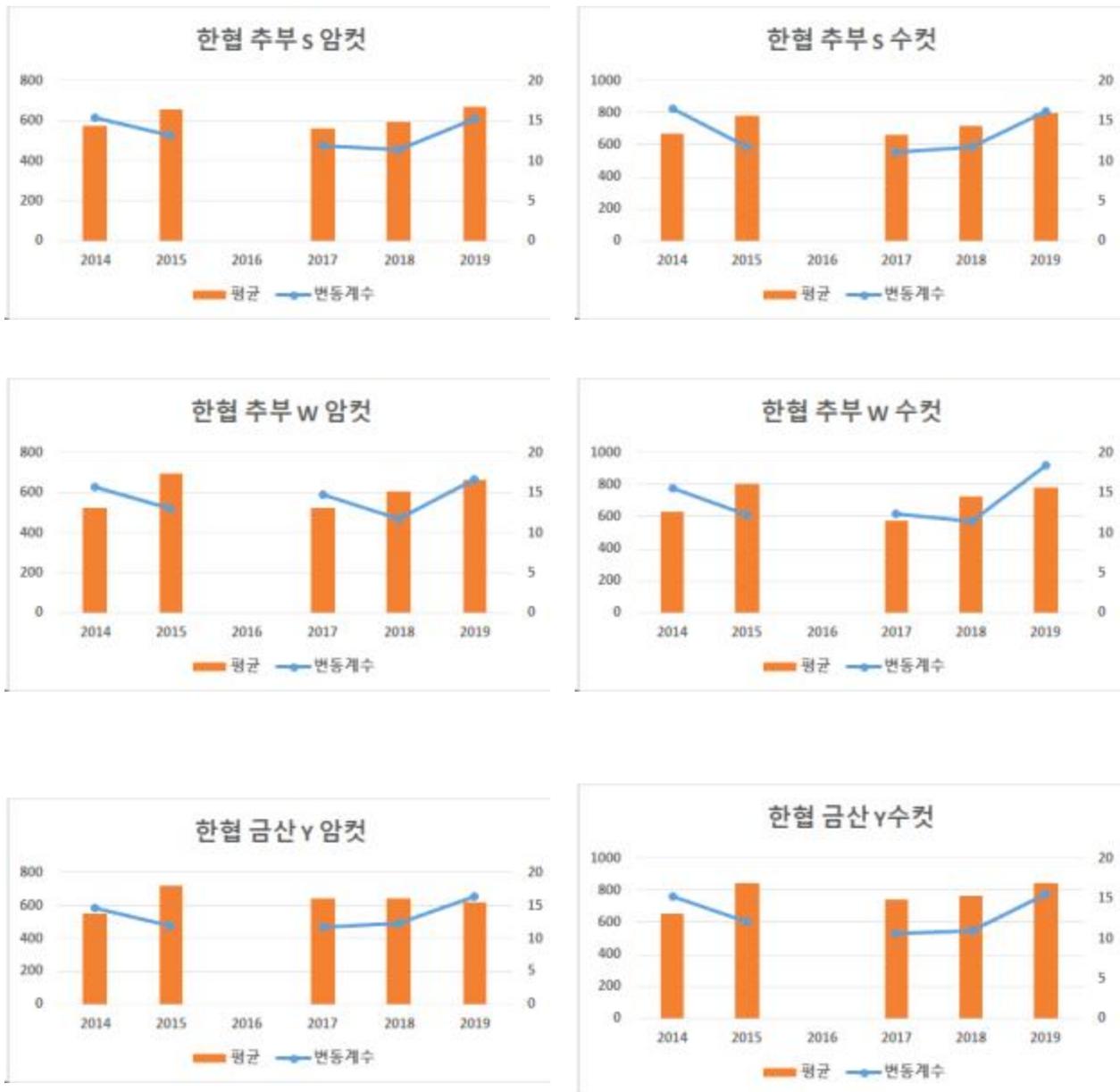


그림 15. 한협추부 S계통, 한협추부 W 계통, 한협금산 Y계통에 대한 8주령 체중 성적 및 변이계수 변화

(2) 산란검정 정보

종계의 산란능력은 닭의 상업적 이용 체계에서 증식능력과 관련된 정보로 품종개발 이용 순계 계통에 대한 산란 수 능력에 대한 검정 정보수집을 추진하였다. 계통을 구성하는 개체 단위의 산란 수 정보는 순계 집단이 1년 1세대로 증식되는 운영계획과 토종닭 순계의 초산일령이 통상 20주 이후로 개시되는 생물학적 특성을 고려하여 검정기간을 20주령 초부터 40주령 말까지 설정하여 수집하였다. 산란능력 검정 기간인 20주 동안 수집되는 개체별 산란 수 정보가 방대하여 이를 수기 기록하고 전산화 하는데 많은 시간과 노력이 소요되어 산란 수 정보의 정확성 부재 등 원활한 산란능력검정이 수행되기 어려운 문제를 개선하고자 RFID시스템을 활용한

산란 수 능력에 대한 개체 정보수집을 추진하였다(그림 16). 약 8,000수의 개체가 약 80%의 계란을 생산하는 시점에 능력검정을 할 경우 하루 6,400건을 기록하고 이를 다시 전산화하는데 많은 시간이 소요되나 RFID 체계를 적용할 경우 수집된 정보의 입력 및 관리 측면에서 정확도가 향상되는 효용성이 있는 것으로 판단된다.



그림 16. RFID활용 산란 수 정보 수집 장치(좌: 케이지별 RFID 태그, 우: 정보 수집 장치)

RFID시스템을 이용한 산란 수 정보수집 체계는 개별 케이지마다 RF태그를 부착하고 태그번호와 각 개체의 고유 개체번호를 연동시키고 리더기를 태그에 접촉시켜 집계되는 횟수를 산란수로 표시되도록 하여 정보를 수집하게 된다. 수집된 정보는 별도의 입력과정이 없이 장치 내부 저장소에 저장되며 해당 정보를 컴퓨터에 내려받아 분석에 활용할 수 있도록 고안하여 적용하였다. 고안된 시스템을 적용하여 품종개발에 활용되는 순계 5계통에 대해 2018~2020년 부화세대까지 총 2세대 동안 수집된 산란능력 현황을 표 14 및 표 15에 제시하였다.

표 14. 2018~2019년 육성된 중점육종관리 순계 5계통의 산란검정 성적 기초 통계량

계통	N	평균 시산일령		평균 산란 수 (20wks~40wks)		개체별 검정기간 평균 산란율(%)	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
한협 진산F	333	159.0	7.7	96.5	11.95	68.9	0.08
한협 진산H	258	163.8	9.5	84.3	19.36	60.26	0.13
한협 추부S	717	156.8	6.8	113.3	9.64	80.99	6.8
한협 추부W	729	157.2	7.8	110.4	9.57	78.86	6.84
한협 금산Y	629	156.4	7.2	109.49	12.3	78.2	8.8

표 15. 2019~2020년 육성된 증점육종관리 순계 5계통의 산란검정 성적 기초 통계량

계통	N	평균 시산일령		평균 산란 수 (20wks~40wks)		개체별 검정기간 평균 산란율(%)	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
한협 진산F	413	177.28	12.43	64.51	15.58	57.0	11.25
한협 진산H	320	160.14	12.88	60.76	13.95	56.85	11.45
한협 추부S	603	164.14	5.64	94.32	6.68	75.04	4.86
한협 추부W	604	166.76	6.85	88.34	8.96	71.73	6.42
한협 금산Y	630	161.91	10.08	89.39	7.4	73.05	5.53

부화세대 2018년에 수집된 순계 5계통의 산란능력 현황(표 14)을 보면 체중이 높은 한협 진산 F계통과 한협 진산 H계통의 시산일령이 각각 159일, 163일로 가장 늦게 시산하는 것으로 나타났고 나머지 모계 활용으로 구분되는 한협 추부 S계통, 한협 추부 W계통, 한협 금산 Y계통은 약 156일에서 157일 범위로 시산한 것으로 나타났다. 평균 산란 수에서는 총 140일의 검정기간 동안 한협 진산 H계통이 약 84개로 가장 적은 산란 수를 나타냈으며 한협 추부 S계통이 약 113개를 산란하여 가장 많은 산란 수를 나타내었다.

2019년 부화세대에 수집된 순계 5계통의 산란능력 현황(표 15)에서 부계 활용 한협 진산 F계통과 한협 진산 H계통의 시산일령이 각각 160일, 177일로 나타나 2018년 부화세대와 동일하게 가장 느린 시산일령 현황을 보였으나 두 계통의 시산일령 현황은 이전 세대(2018년)와 상반된 결과를 보였다. 그리고 한협 진산 F계통은 한협 진산 H계통과 비교하여 늦은 시산이 늦음에도 평균 산란 수에서 한협 진산 H계통 보다 평균 산란 수가 많은 결과를 나타내었는데 이는 산란기간 동안 산란지속성이 길게 나타난 것으로 사료 된다. 모계 활용 3계통에서는 한협 추부 S계통이 이전 세대와 동일하게 평균 산란 수에서 높은 결과를 보였으며 2세대 동안 수집된 산란정보는 일반적으로 알려진 품종의 특성과 활용성에 부합하는 것으로 사료 된다. 본 연구에서 고안한 RFID를 이용한 산란 수 정보 수집과정에서 검정 정보의 부정확성을 초래할 수 있는 요인들이 발생하였는데 이의 원인을 추정해보면 사육환경 여건에 따라 개체번호와 연동된 RF 태그의 탈락이 빈번히 발생하였고 이를 신규 태로 대체하여 운용할 시 태그 등록의 오류, 케이지 번호와 개체번호의 연동 오류 등 시스템을 유지 및 관리하기 위한 절차가 복잡한 것에 기인하는 것으로 사료 된다. 이에 현장에서 유지관리가 용이한 정보 수집 체계 마련을 위해 종축 사업단과 협력하여 바코드 시스템으로 전환하여 산란능력 검정 정보수집의 정확성을 제고 할 수 있도록 개선 조치를 하였으며 본 연구사업 종료 후에도 육종농가에서 지속적으로 정보를 수집하고 순계의 산란능력 개량에 활용될 수 있도록 농가 기술 지도를 추진하였다. 또한 바코드 체계의 활용도를 제고하기 위하여 시스템 운용 상황을 점검해 나갈 계획이다.



〈 기존 RFID 산란 수 정보 수집 〉



〈 개선된 바코드 체계 〉

그림 17. 순계의 산란 수 정보 수집을 위한 시스템 개선

나. 품종 개발 활용 부계 계통의 체중 유전능력 개량

본 연구에서 이용된 토종닭 순계는 과거 계통별 증식 시점에 조사된 체중과 산란 수 및 외모 등의 표현형 성적 고려하여 개체를 선발하여 교배하였으나 연구개발 과정을 통해 획득된 혈통 정보와 검정정보를 활용하여 유전능력평가에 의해 추정된 육종가를 기반으로 유전능력이 우수한 종축으로서 가치를 지닌 개체를 선발하여 매 세대 교배를 추진하였다. 이전 1단계 사업에서도 출된 교배조합 능력검정 결과로 부터 부계로 활용이 적합한 2계통을 선정 하였으며 닭의 상업적 생산체계에서 부계 증계의 산육 특성을 이용함에 따라 체중능력을 개량하고자 하였다. 이에, 유전능력평가 대상 형질은 육성기간 중 형질측정의 용이성과 성장효율이 빠른 8주령 시 검정한 개체별 체중 정보를 이용하였다. 그 외 수집된 체중형질 과 산란 수 검정 정보는 2세부 과제에서 수행한 육종모델 설정 연구 및 실시간 유전능력평가 시스템과 연계하여 선발·교배에 활용되도록 하였다.

부계 활용 2계통의 8주령 체중 능력개량을 추진을 위하여 BLUPF90(ver. 1.54) 프로그램을 이용하여 개체별 육종가를 추정하였으며 분석모형은 단형질 개체모형(Single trait Animal model)을 이용하였다.

$$Y_{ij} = \mu + CG + sex_j + a + e_{ij}$$

여기서,

CG: (부화년도 및 생산 회차의 동기군 그룹(Fixed))

Sex: 성별(Fixed)

a: 개체효과(random)

e: 오차(random)

8주령 체중에 대한 유전능력평가에 의한 한협진산 H 계통과 한협진산 F계통의 육종가 추정 결과를 표 16과 표 17에 나타내었다. 한협진산 H계통의 8주령 체중 육종가는 2013년 - 7.29g에서 2020년 199.86g으로 매 부화세대마다 상승하는 결과를 보였다. 부화세대에 따른 육종가 변화의 추세를 1차 선형회귀로 추정한 결과 매 세대당 약 31.46.g의 개량 추이를 나타내었다.

또한 한협진산 F계통의 8주령 체중의 추정 육종가는 2013년 - 1.42g에서 2020년 202.91g으로 역시 매 부화세대당 육종가가 상승하는 결과를 나타내었으며 부화세대에 따른 육종가 변화 추세를 1차 선형회귀로 추정하였을 때 매 세대당 약 31.01g씩 개량되는 추세를 나타내었다.

두 계통의 추정 육종가의 정확도는 유전능력평가에 포함된 초기 2013년 세대에서 한협진산 H

및 한현 진산 F 계통 각각 0.61, 0.59의 결과를 보였으며 이후 부화세대가 경과함에 따라 두 계통 모두 최대 0.78까지 정확도가 증가하는 결과를 나타내었다. 이는 매 부화세대 검정정보 및 혈연관계 정보가 축적된 결과로 향후 정보의 정확성과 축적 수준이 올라갈 경우 보다 높은 정확도를 나타낼 것으로 사료된다. 아울러 두 계통의 근교계수의 범위는 매 세대 1% 미만으로 유지되고 있는 것으로 나타나 혈통관리에 의한 집단관리의 정확성이 유지되고 있는 것으로 사료된다.

표 16 . 한협진산 H계통의 8주령 체중에 대한 부화세대별 육종가

부화세대	N	육종가	정확도	표현형	근교계수
2013	134	-7.29	0.61	-	0.0000
2014	829	-3.68	0.70	1081.26	0.0000
2015	840	29.98	0.78	1433.68	0.0006
2016	1,881	55.01	0.77	1226.70	0.0022
2017	1,421	98.17	0.77	1296.21	0.0023
2018	903	123.40	0.76	1302.31	0.0071
2019	963	170.17	0.77	1893.27	0.0064
2020	1,346	199.86	0.75	1645.88	0.0085

8주령 체중 육종가 추세(한협진산 H)

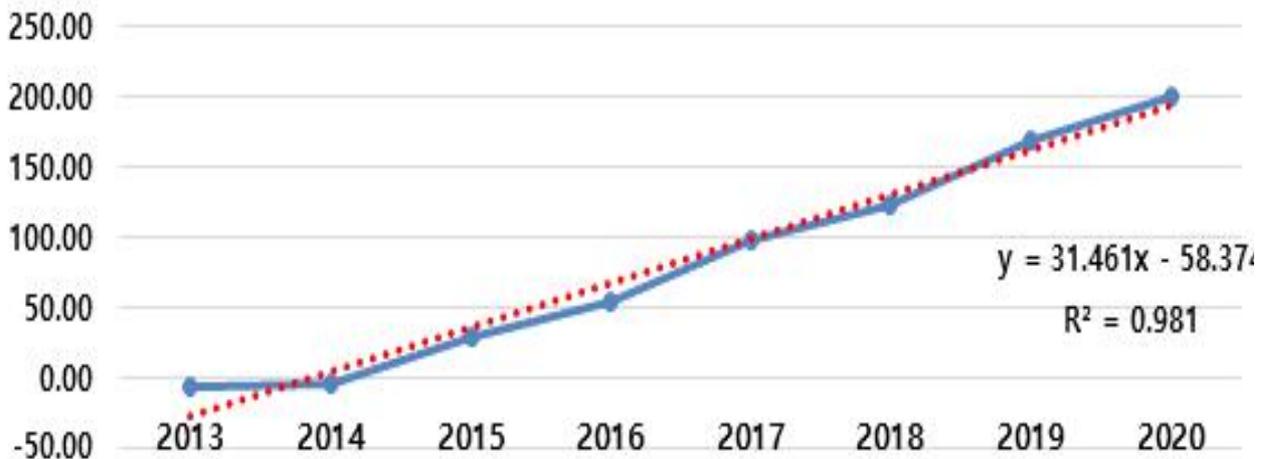


그림 18. 한협진산 F계통의 8주령 체중에 대한 부화세대별 추정 육종가의 변화 추세

표 17. 한협진산 F계통의 8주령 체중에 대한 부화세대별 육종가

부화세대	N	육종가	정확도	표현형	근교계수
2013	270	-1.42	0.59	-	0.0000
2014	1,682	4.35	0.70	1,064.62	0.0000
2015	2,122	41.95	0.78	1,432.71	0.0009
2016	2,017	63.96	0.77	1,236.52	0.0004
2017	1,566	100.58	0.77	1,322.09	0.0036
2018	1,114	132.09	0.77	1,377.06	0.0069
2019	990	177.94	0.77	1,710.50	0.0035
2020	1,581	202.91	0.73	1,669.18	0.0055

8주령 체중 육종가 추세(한협진산 F)

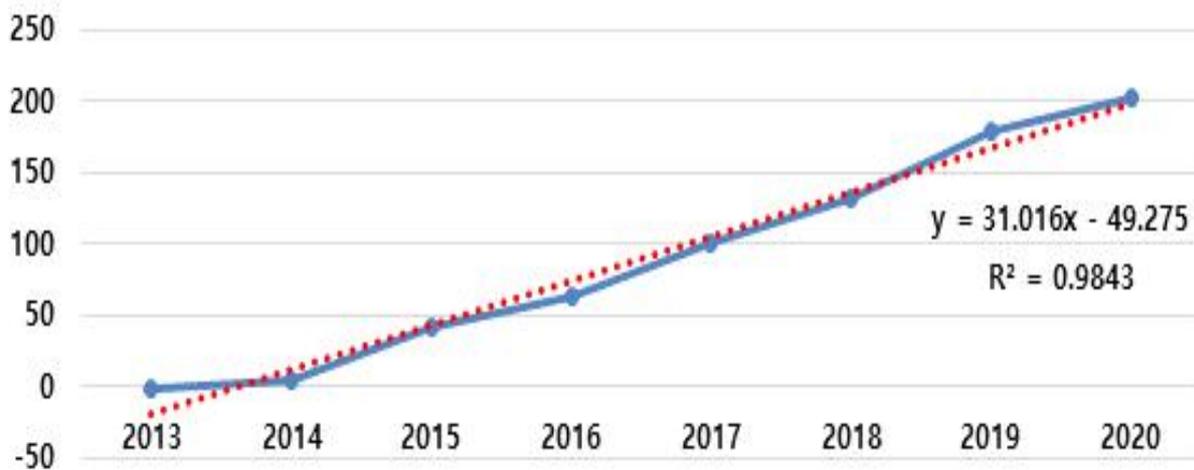


그림 19. 한협진산 F계통의 8주령 체중에 대한 부화세대별 추정 육종가의 변화 추세

4. 신제품 토종닭의 깃털감별 생산체계 적용을 위한 모계 만우성 계통 조성

본 연구에서는 3세부과제서 수행한 깃털 자가 성감별 신제품 종계 계통 조성 연구결과를 반영하여 순계집단의 육종사업 및 신제품 토종닭 생산체계에 적용되도록 하였다. 깃털 성감별은 닭 깃털의 발육 형태에 따라 구분되는 조우성 및 만우성의 반성유전원리를 이용한 것으로 기존의 향문돌기 감별 시 전문 감별사에 의해 판별되는 것을 농가단위에서 용이하게 암컷과 수컷을 감별할 수 있다. 깃털 성감별을 생산체계에 적용하기 위해서는 원종계의 모계의 깃털 발육형태가 만우성 호모 형태로 조성이 필요하며 이에 따라 십자유전(Cross) 현상에 따라 최종 실용계에서 만우성과 조우성 암컷으로 분리되어 감별이 가능해지는 조건이 성립된다. 이를 위해 종계를 생산하는 원종계의 모계 라인 한협 진산 F 계통의 혈액시료를 채취하여 조우성과 만우성 개체를 분자생물학적 방법으로 식별한 결과를 제공 받아 암컷과 수컷을 조우성 및 만우성으로 분리하였으며 만우성 수컷을 대상으로 호모와 헤테로 식별을 위한 검정교배를 추진 결과에 따라 만우성 호모 집단 조성을 위한 개체만을 대상으로 교배계획을 수립하여 순계의 증식을 추진하였다. 아울러 유전능력평가 결과에 의한 성적 등을 참고하여 총 8가계로 구성되도록 기초집단이 조성되었으며 그 내역은 표 18에 나타낸 바와 같다.

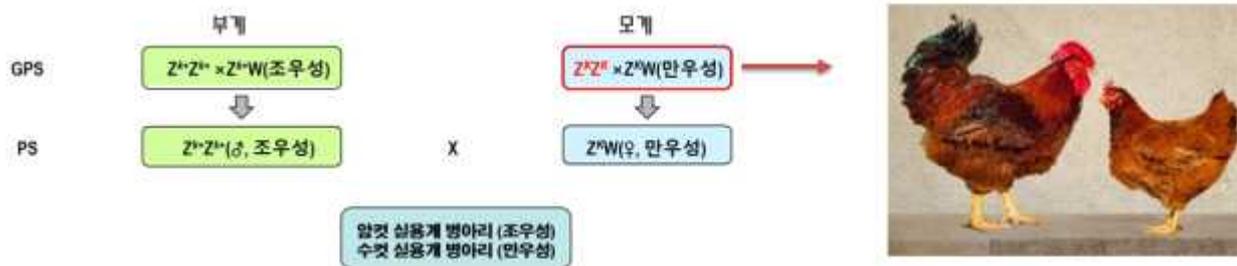


그림 20. 깃털 성감별 기술 적용을 위한 원종계 모계라인 조성 조건

표 18 . 깃털 성감별 생산체계 이용 만우성 모계 집단의 가계별 개체(수컷) 내역

Strain	Animal	Sire	Dam	Sex	Bw8	EBV	SE	Acc.	Inb	Feather-type
LF	F20205199	F20195258	F20190165	M	1,595	129.82	83.77	0.74	0.002	slow__homo
LF	F20205294	F20195290	F20190138	M	1,675	168.24	82.23	0.75	0.005	slow__homo
LF	F20205345	F20195374	F20190379	M	1,850	235.53	82.62	0.75	0.005	slow__homo
LF	F20205375	F20195389	F20190388	M	1,615	158.52	83.02	0.75	0.006	slow__homo
LF	F20205493	F20195120	F20190521	M	1,505	82.25	82.11	0.75	0.004	slow__homo
LF	F20205496	F20195121	F20190369	M	1,910	265.90	83.96	0.74	0.004	slow__homo
LF	F20205609	F20195017	F20190344	M	1,800	250.80	84.40	0.73	0.003	slow__homo
LF	F20205618	F20195008	F20190353	M	1,730	278.62	81.77	0.75	0.008	slow__homo

제 2절 신제품 토종닭 육종 모형 개발 및 통합관리 체계 구축

1. 개체, 혈통, 형질 및 유전자형 자료 수집 및 통계

가. 데이터 수집 형식 배포

체계적인 데이터 수집과 관리를 위해서 제각각이었던 데이터 입력(기록) 양식을 통일하였다. 세부기관과의 논의를 통해 최종 데이터 입력 양식(그림 1, 2)을 확정하고 각 세부 프로젝트 기관에 확정 양식을 배포하였다. 입력양식은 개체데이터 양식과 구 데이터 양식의 두 가지로 구성되어 있으며 각 파일은 일반시트와 형질에 대한 시트로 구성되어 있다. “일반”시트에는 해당 개체와 구의 일반적인 정보를 기록하고, 형질 시트는 각각의 형질명으로 시트이름을 지정하고 컬럼명은 “{형질명}_{측정주}”로 정의한다. 표준편차 정보가 있으면 “{형질명}_{측정주}_{표준편차}”의 형식으로 컬럼명을 정의한다.

그림 1. 개체 데이터 입력양식

그림 2. 구 데이터 입력양식

나. 데이터베이스 모델, DB 구조 최적화

다양한 형태의 데이터를 효과적으로 관리하기 위해 기존 데이터베이스 구조를 보완하고 최적화 하였다. 특히, 구 단위의 체계적 데이터 관리를 위해 데이터베이스에서 “구” 모델의 구조를 최적화 하였다.

표 1. 구 모델 입력 구조

컬럼명	속성	설명
id	AutoField	pk
line	ForeignKey (id)	그룹이 속한 계통
code	CharField	그룹 코드
description	TextField	그룹 설명

표 5. 구 표현형 모델 (GroupPhenotype)

컬럼명	속성	설명
id	AutoField	pk
group	OneToOneField (id)	그룹
registrant	ForeignKey (id)	등록자
ctime	DateTimeField	등록일
first_egg_weight	FloatField	초산난중 (g)
first_spawn_day	IntegerField	시산일령 (일령)
mtime	DateTimeField	최근 수정일

표 6. 구 동적 표현형 모델 (GroupTimePhenotype)

컬럼명	속성	설명
id	AutoField	pk
group	ForeignKey (id)	그룹
registrant	ForeignKey (id)	등록자
alive_num	IntegerField	생존 수
ctime	DateTimeField	등록일
egg_production	IntegerField	산란 수
egg_weight	FloatField	난중 (g)
feed_intake	FloatField	먹이섭취량
mtime	DateTimeField	최근 수정일
time	SmallIntegerField	시간
time_unit	CharField	시간 단위 (week or day)

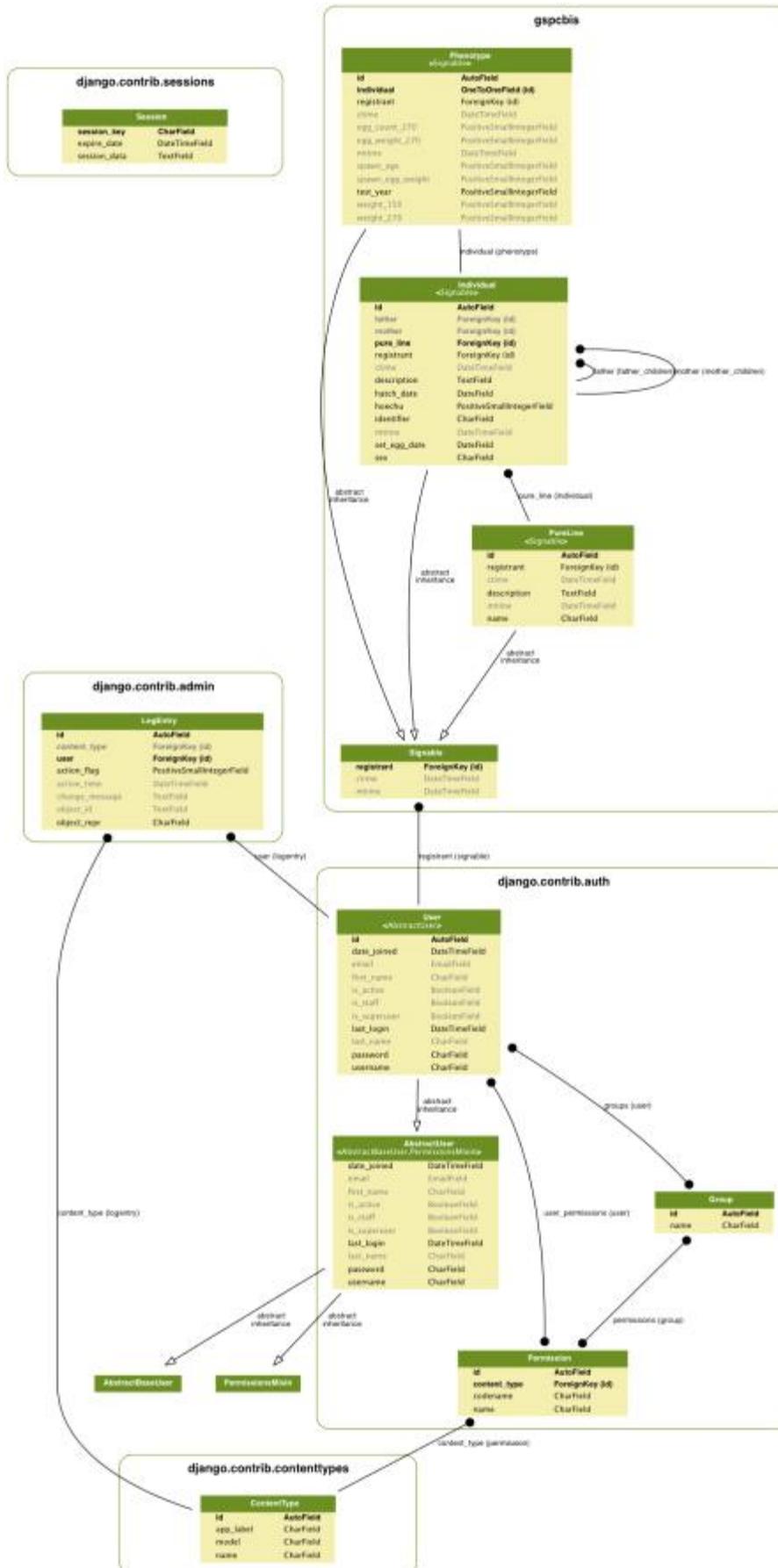


그림 3. 관계형 데이터베이스 엔티티 관계도

구축된 DB에 추가할 정보가 있음을 확인하고, DB 재구성을 진행하였다. 추가로 등록된 정보는 1세부연구에서 수집된 산란정보로 이의 저장을 위해 DB 모델을 변경하고 관련 자료를 등록하였다. 수집된 토종닭 순계 5계통에 대한 산란 성적은 그림 0 같이 부화된 개체의 최대 40주령까지의 산란수와 함께 태그ID, 사육동(House), 케이지번호(Cage_ID), 계통종류(Line)와 산란일자가 기록된 형태이다. 데이터 관리를 위해 새로운 DB를 구축하거나 기존의 DB 구조를 수정 방안을 협의하여 기존 DB를 수정하여 적용하는 방법을 채택하였으며 이를 위해 산란 정보(누적 산란 수 및 산란 일자 등)에 대한 새로운 모델 속성을 부여하고 개체 ID(Primary key)와 함께 등록자(registrant, Foreign key)를 추적하여 개체 관리가 가능하도록 모델 재구성 및 업데이트를 진행하였다. 이후 DB의 범용성을 위해 일반사용자가 로그인하여 직접 데이터를 등록할 수 있는 기능을 구현하고자 DB 모델을 변경을 추진하였다. 변경된 내용은 “측정(Measurement)” 테이블을 신규로 구성하고 특정 개체에 대해 특정 일시에 측정한 정보가 별도로 저장될 수 있도록 하였으며 1세부연구와 논의를 통해, 사용자 직접 등록 가능한 데이터의 형질정보는 체중, 정강이길이, 산란수로 고정하고, 날짜별 측정 기록을 지속적으로 추가할 수 있도록 구성하였다.

	A	B	C	D	E	F	G
1	Tag_ID	House	Cage_ID	animal2	Line	date	number of laying
2	B2B828C0		2 2-04-041	A20180123	A	20190326	1
3	B2B828C0		2 2-04-041	A20180123	A	20190328	1
4	B2B828C0		2 2-04-041	A20180123	A	20190329	1
5	027E08C0		2 2-04-003	A20180117	A	20190330	1
6	67A782C5		2 2-04-008	A20180091	A	20190330	1
7	B2B828C0		2 2-04-041	A20180123	A	20190330	1
8	027E08C0		2 2-04-003	A20180117	A	20190401	3
9	0DDA83C5		2 2-04-022	A20180094	A	20190401	1
10	1011A789		2 2-06-023	A20180017	A	20190401	2
11	67A782C5		2 2-04-008	A20180091	A	20190401	2
12	B2B828C0		2 2-04-041	A20180123	A	20190401	1
13	027E08C0		2 2-04-003	A20180117	A	20190402	1
14	0DDA83C5		2 2-04-022	A20180094	A	20190402	1
15	1011A789		2 2-06-023	A20180017	A	20190402	2
16	4D1B82C5		2 2-06-047	A20180139	A	20190402	1

그림 4. 산란성적 데이터 형식

표 7. 산란성적 입력을 위한 모델(Egg Record model)

컬럼명	속성	설명
id	AutoField	pk
group	OneToOneField (id)	그룹
registrant	ForeignKey (id)	등록자
ctime	DateTimeField	등록일
house	CharField	사육동
cage_id	CharField	케이지 번호
line	ForeignKey (id)	계통
laid_date	DateTimeField	산란일자
egg_num_at40wks	IntegerField	산란 수
mtime	DateTimeField	최근 수정일

다. 데이터 수집 현황

2016년부터 2020년까지 토종닭 순계에 대한 혈통정보를 보정하고 8주령 체중, 정강이 길이, 산란 수 정보를 최종 정리하여 57,029건을 수집 완료하였다(그림). 또한 연구과정에서 생산된 교배조합 능력검정 자료 및 유전자형 데이터는 국립축산과학원 보유 순종 12계통 174,845수 한 협 순종 12계통에 대한 59,468수, PS(종계)교배조합 1단계 및 2단계 검정 자료 각각 5,616수, 4,227수 실용계(CC) 능력검정 자료 546수에 대한 자료 총 244,701건의 개체 정보가 등록되었다. 유전자형자료는 고밀도 칩 288수, Fludigm은 192수에 대한 자료가 등록되었으며 DB웹 인터페이스를 구축을 통해 상기 자료를 조회하고 열람할 수 있도록 하였다(그림 0).

년도/CG	2014 요약	2015 요약	2016 요약	2017 요약	2018 요약	2019-2020	총합계
계통							
F	2,480	2,381	2,329	1,567	1,349	1,050	11,156
H	1,084	1,081	2,186	1,422	1,116	1,024	7,913
S	3,156	2,162	2,363	2,402	1,810	1,656	13,549
W	2,482	1,903	2,362	1,971	2,010	1,480	12,208
Y	957	2,242	2,242	2,387	1,883	2,492	12,203
총합계	10,159	9,769	11,482	9,749	8,168	7,702	57,029

그림 5. 순계 데이터 수집 현황

계통	개체수	표준편차	유전자형정보	SNP 유전자형정보	SNP 유전자형정보	SNP Array정보
GA-01	15,445	97	95	145	24	5
CB-05	8,275	5,955	81	134	24	5
CB-01	26,375	5,925	85	87	24	5
CB-02	4,821	2,811	85	81	24	5
CB-22	27,908	4,226	81	85	24	5
CB-07	1,412	84	81	91	24	5
CB-08	23,878	7,581	87	100	24	5
CB-03	25,178	7,871	83	97	24	5
CB-04	12,408	4,515	87	86	24	5
CB-06	1,868	1,223	85	81	24	5
CB-11	15,863	4,913	85	85	24	5
CB-14	4,212	991	81	86	24	5
CB-17	4,834	3,831	85	130	24	7
CB-09	4,817	3,963	87	86	24	7
CB-12	3,718	3,823	87	91	24	7
CB-10	1,127	1,889	85	9	24	7
CB-04	11,327	4,288	84	85	24	7
CB-21	4,821	5,222	85	22	24	7
CB-15	4,217	3,374	85	86	24	7
CB-16	1,178	815	83	5	14	7

그림 6. 데이터 현황(웹 DB제공 화면)

2. 데이터 분석 및 육종모델 설정

가. 데이터 분석

(1) 데이터 정리 및 혈통 정보 분석 (1차년도~5차년도)

(가) 혈통 데이터 수집

Pure line인 A, B, F, G, H, S, Y, Z 총 8품종에 대해서 각 집단별 혈통 조사.

(나) Pedigree structure and inbreeding 조사

CFC, Endgo4.8 프로그램 이용 혈통 조사

표 8. Summary statistice of the pedigree analysis.

RESULTS RESUME									
Line	A	B	F	G	H	S	Y	Z	
Number of animals	1050	1149	7490	2413	4434	8264	5530	2004	
Number of founders	64	37	313	180	141	607	145	292	
Number of individuals with both known parents	674	824	4690	892	3215	4513	4432	959	
Number of individuals with no progeny	868	974	6460	2006	3910	6630	4563	1578	

(다) PCI(Pedigree completeness index)

- Genetic variability은 유용한 혈통정보의 양에 크게 의존함. 여기서 유용한 혈통정보의 양의 정도를 pedigree completeness로 표기함.
- PCI described by MacCluer et al. (1983) :

$$PCI = 2 C_{sire} C_{dam} / C_{sire} + C_{dam}; \text{ where } C_{sire} \text{ and } C_{dam} \text{ are contributions from the paternal and maternals lines, and } C = \frac{1}{d} \sum_{i=1}^d g_i ;$$

where g_i is the proportion of known ancestors in generation i ; and d is the number of generations that are taken into account.

- Endgo4.8 프로그램 이용

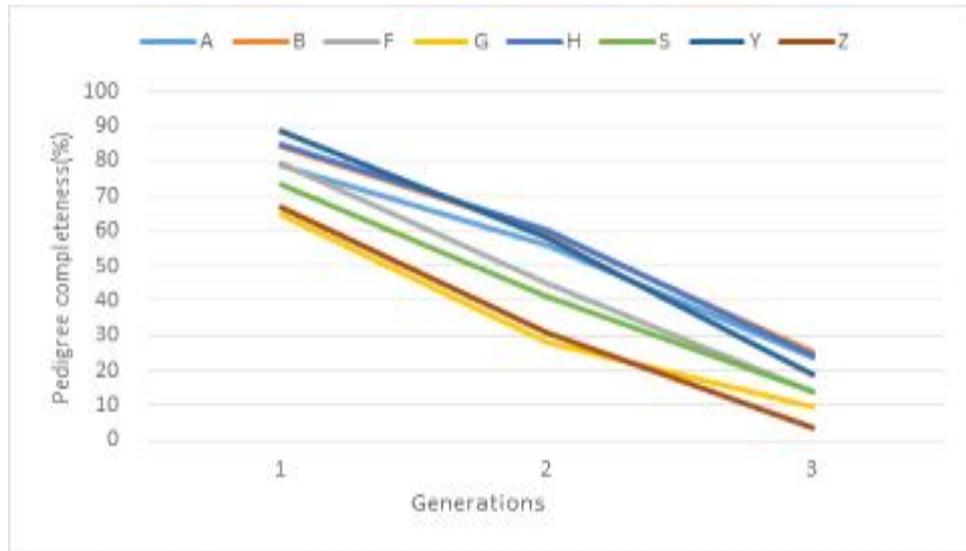


그림 7. Pedigree completeness index in all Line

- Y계통에서 1st generation에서 혈통 정보를 아는 개체 비율이 거의 90%를 나타내고 있고 generation이 증가할수록 감소하는 경향을 보임.

(라) inbreeding

- 유전적변이성(Genetic variability)은 IBD(Identity by Descent)를 기반으로 F(Inbreeding coefficient), AR(average relatedness), ΔF (individual increase in inbreeding)로 나타낼수 있음.
- Endgo4.8 프로그램 이용.

표 9. Diversity parameter based on probability of identity by descent.

Line	A	B	F	G	H	S	Y	Z
F(%)	0.93	0.39	0.04	0.02	0.13	0.03	0.09	0.02
AR(%)	2.89	3.54	0.53	0.56	1.37	0.24	0.99	0.76
ΔF (%)	0.77	0.42	0.06	0.02	0.10	0.02	0.10	0.01
Inbreds in total	50	88	43	19	45	23	104	11

- A 집단과 B 집단에서 ΔF (individual increase in inbreeding) 값이 다른 집단에서 보다 높음을 알 수 있음.

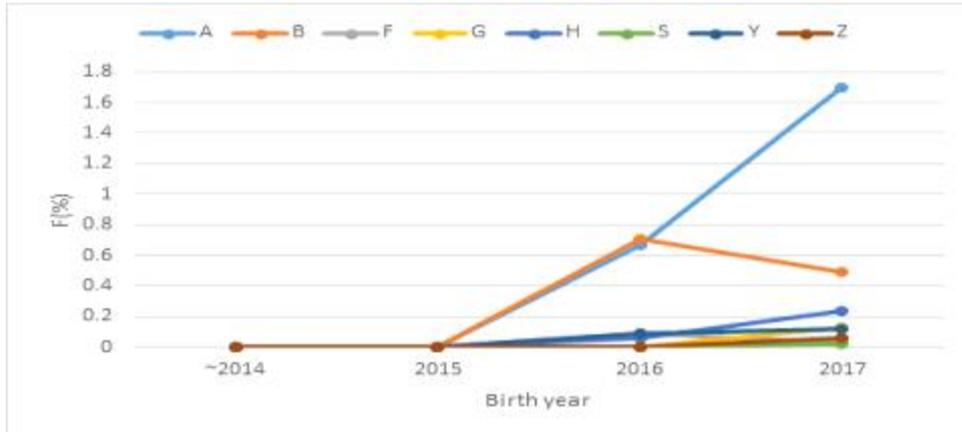


그림 8. Inbreeding(%) trend for year

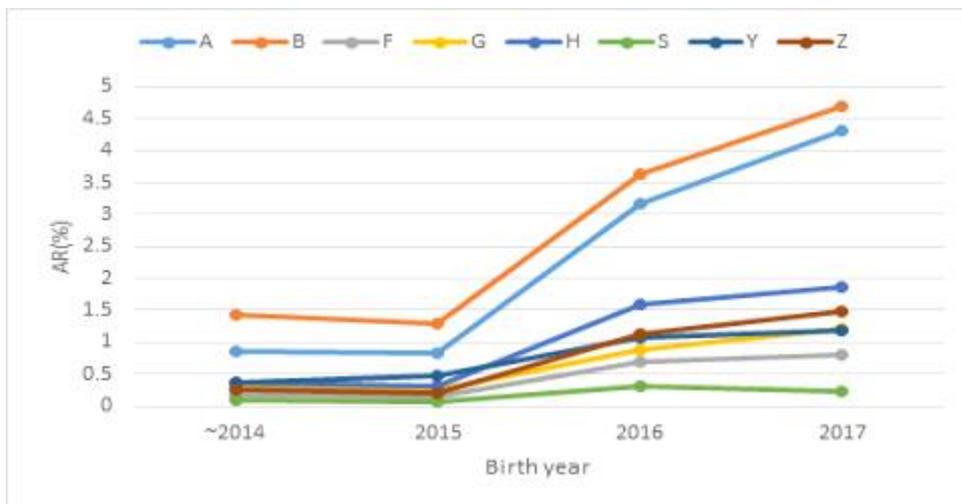


그림 9. AR(%) trend for year

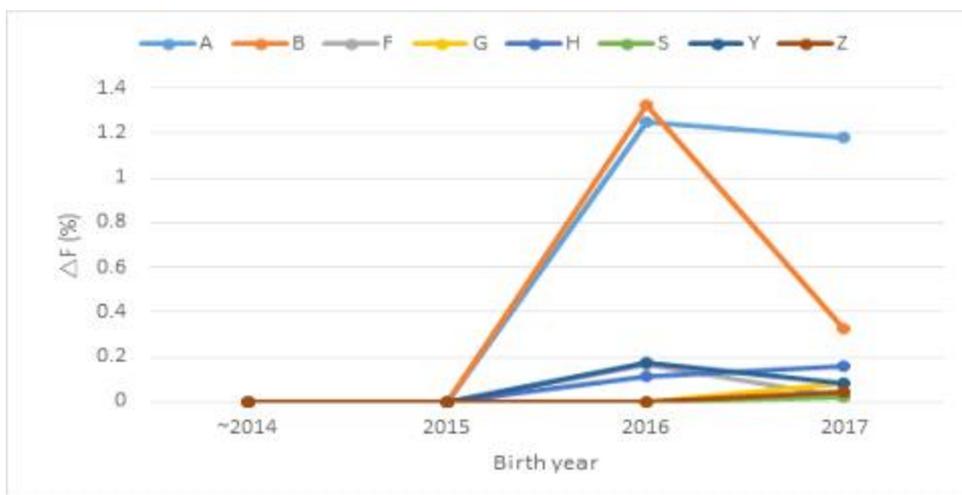


그림 10. ΔF (%) trend for year

(마) Effective Population Size

- 유효집단크기 추정 방법 :
- 아버지와 어미의 수를 이용하여 추정(Wrighth, 1931).

$$N_e = \frac{4 \times N_{sire} \times N_{dam}}{N_{sire} + N_{dam}}$$

여기서, N_{sire}: 교배에 참여한 sire수 , N_{dam}:교배에 참여한 dam 수

- 개체의 평균근교계수변화량(ΔF)를 이용하여 추정.(Gutierrez ea al(2009))

$$\Delta F_i = 1 - \sqrt[t]{1 - F_i}$$

여기서, F_i : individual coefficient of inbreeding, t : equivalent complete generations.

$$\overline{N_e} = \frac{1}{2\Delta F}$$

- 세대별 평균 근교계수 변화량(ΔF)를 이용하여 추정.

표 10. The result of effective population size

RESULTS RESUME									
Line	A	B	F	G	H	S	Y	Z	
Increase in Inbreeding by individual	0.77	0.42	0.06	0.02	0.10	0.02	0.10	0.01	
Effective Population Size	65	119	827	3032	484	2732	494	3632	
Mean Maximum Generations:	2.06	2.22	1.88	1.49	2.18	1.76	2.18	1.47	
Increase in Inbreeding by Maximum Generation	0.75	0.2	0.02	0.05	0.11	0.04	0.05	0.03	
Effective Population Size	67	246	2585	1064	455	1349	948	1844	
Mean Complete Generations	1.12	1.19	0.93	0.57	1.21	0.83	1.17	0.75	
Increase in Inbreeding by Complete Generation	0.86	0.26	0.02	0.06	0.12	0.04	0.07	0.03	
Effective Population Size	58	196	2453	902	414	1131	757	1703	
Mean Equivalent Generations (cfc)	1.59	1.69	1.38	1.03	1.69	1.29	1.66	1.01	
Increase in Inbreeding by Equivalent Generation	0.81	0.24	0.02	0.05	0.12	0.04	0.06	0.04	
Effective Population Size	62	207	2278	961	430	1211	782	1386	

- 모든 계통에서 ΔF(%)를 보면 0.02~0.81%로 1%를 넘지 않는 것을 볼 수 있음
- A, B 계통에서 다른 계통에 비해 ΔF(%)가 높게 나타남. 이는 번식에 참여하는 아버지, 어미의 수가 적게 유지 되었을 것으로 사료됨.

(바) Probabilities of gene origin

- 유전적 다양성을 설명하는 founder alleles의 보존은 gene origin의 probability의 기반으로 측정되어 설명되어짐.
- Endgo4.8 프로그램 이용.

표 11. Parameters derived from the probability of gene origin in all population.

Line	A	B	F	G	H	S	Y	Z
Number of animals in the Reference Population	674	824	4600	892	3215	4513	4432	959
Number of Founders (f)	89	92	394	205	187	800	376	128
Number of Equivalent Founders	62	59	280	146	130	553	239	118
Number of Ancestors contributing to the Reference Population	60	78	262	119	117	513	310	113
Effective Number of Founders (fe)	38	33	167	89	88	329	125	54
Effective number of ancestors (fa) = Ancestors for the Reference Population	24	28	107	50	52	203	99	46
Founder genome equivalents (fg)	1676	1736	8929	3846	4274	15625	7576	3650
fe/f ration	0.43	0.36	0.42	0.43	0.47	0.41	0.33	0.42
fe/fa ratio	1.58	1.18	1.56	1.78	1.69	1.62	1.26	1.17
fg/fe ratio	0.44	0.53	0.53	0.43	0.49	0.47	0.61	0.68
No. of ancestors to explain:								
N ^o of ancestors explaining 50% of gene pool	9	10	35	18	18	68	33	16
N ^o of ancestors explaining 100% of gene pool	60	78	262	119	117	513	310	113

*Reference Populations is taken as the animals with both parents known

- Effective Number of Founders(fe)는 33~329 값을 가짐. 이 값이 높다는 것은 이 집단 founder로부터 비교적 더욱 균형(안정적으로) 있게 기여 했다는 것을 의미. 이 값은 전체 founders의 수에서 33%~47%로 설명되어짐.
- reference 집단에서 gene pool을 100% 설명하기 위해 필요한 ancestors수는 60~513 값을 가짐.
- 높은 Founders를 가진 집단은 effective number of founders, number of founder genome equivalents 높은 값을 가짐.
- fe/fa 비율은 1.17~ 1.78 값을 가짐. Z 품종을 경우 이 비율이 1.17로 가장 낮은 값을 가지며 이는 효율적으로 기여하는 ancestors의 수에 대해 안정적이라는 의미이고 병목 현상이 이 집단에 큰 역할을 하지 못했음을 알 수 있음. 만약 이 비율이 1보다 훨씬 크다면 집단에서 병목현상이 이 집단의 구성하는데 큰 역할을 작용했음을 알 수 있음.
- Founder genome equivalents(fg)는 16.76~156.25 값을 가짐. 이는 각 집단에서 관측 되어진 genetic diversity 정보를 설명함. 비슷하게 fg/fe 비율은 Z 품종(0.68)보다 다른 7품종에서 낮게 나타남. 이는 Z 품종보다 나머지 품종들에서 램던 이주에 의한 유전적 다양성(genetic diversity) 손실(allele의 손실)에 더 크게 영향을 받았다는 것을 의미함.

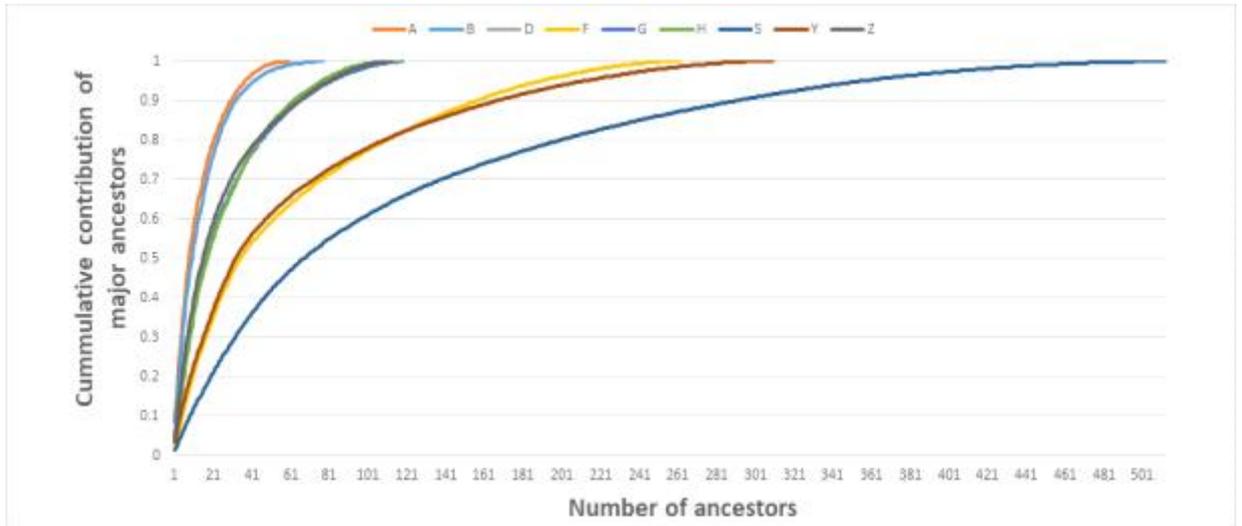


그림 11 . Cumulative contributions of major ancestors.

- reference 집단에서 gene pool을 100% 설명하기 위해 필요한 ancestors수는 60~513 값을 가짐.
- A품종을 경우 60 ancestors로 이 집단의 gene pool을 설명 할 수 있지만 S품종을 경우 513 ancestors가 필요함. 이는 큰 ancestors의 수는 그 집단의 gene pool에 대해서 조금밖에 기여를 하지 않는다는 의미임.

(사) The loss of Genetic Diversity

- genetic diversity(GD)의 손실은 f_g, f_e 값에서 유도됨.
- 집단의 전체 유전적 다양성(GD)의 양 :(Lacy , 1995)

by formula of Lacy (1995):

$$GD = 1 - \frac{1}{2f_g}$$

- unequal founder 기여도에 의한 유전적 다양성의 손실(GD*)을 고려한 그 집단의 genetic diversity 양:(Lacy, 1995)

표 12. The loss of genetic diversity(%).

Line	A	B	F	G	H	S	Y	Z
GD	97.02	97.12	99.44	98.70	98.83	99.68	99.34	98.63
1-GD	2.98	2.88	0.56	1.30	1.17	0.32	0.66	1.37
GD*	98.68	98.48	99.70	99.44	99.43	99.85	99.60	99.07
1-GD*	1.32	1.52	0.30	0.56	0.57	0.15	0.40	0.93
GD*-GD	1.67	1.36	0.26	0.74	0.60	0.17	0.26	0.44

- A(2.98%), G(1.30%), H(1.17%) 그리고 S(0.32%) 집단에서 전체 GD의 손실은 병목현상의 원인보다 genetic drift[A(1.67%), G(0.74%), H(0.60%), S(0.17%)]의 의해 더 영향을 받았음.
- B, F, Y, Z집단에서 unequal founder의 기여도에 의한 유전적 손실의 비율이 genetic drift의 유전적 손실의 비율보다 더 크게 나타남.
- A 집단과 B 집단에서 전체 유전적 다양성 손실이 가장 많음을 알수있음.
- 위의 결과에서 , A 집단과 B 집단에서 ΔF (individual increase in inbreeding) 값이 다른 집단에서 보다 높게 나온 결과와 일치함.

나. 육종모델 설정

(1) 최적 모델 및 육종가 추정 (1차년도~5차년도)

(가) 표현형 데이터 수집 : 체중 관련 데이터

- 순계5품종 7,702두 자료 수집.

Breed	phe_수(중복오류포함)	id수(중복오류제거)	중복오류개체로제거된데이터수
F	1,050	1,050	-
H	1,024	1,024	-
S	1,656	1,656	-
W	1,480	1,478	2
Y	2,492	2,482	10
	7,702	7,690	12

- 동일한 개체에 대해 다른 형질 값을 가진 12두를 제거함.

표 13. 순계 5품종의 8주체중, 10주체중 그리고 12주체중에 대한 기초 통계 조사

Breed	형질	전체N	missing N	평균	표준편차	변동계수	최소	최대
F	8주체중	1050	0	1736.69	226.55	0.13	1070	2950
H		1024	0	1894.29	328.63	0.17	905	2900
S		1656	0	694.62	116.79	0.17	405	1430
W		1478	0	689.33	125.62	0.18	265	1415
Y		2482	0	654.63	130.75	0.20	285	1390
F	10주체중	1050	41	2326.29	265.38	0.11	1460	3060
H		1024	1024					
S		1656	1656					
W		1478	1478					
Y		2482	47	882.27	190.72	0.22	410	1655
F	12주체중	1050	198	2487.64	312.25	0.13	1325	3300
H		1024	107	2137.37	309.83	0.14	1200	3105
S		1656	138	1016.85	142.13	0.14	650	1635
W		1478	112	1013.98	149.44	0.15	590	1550
Y		2482	364	979.63	208.91	0.21	430	1720

- 총 순계 5품종에 대해서 missing 데이터 제거후 7,690 데이터 남음.

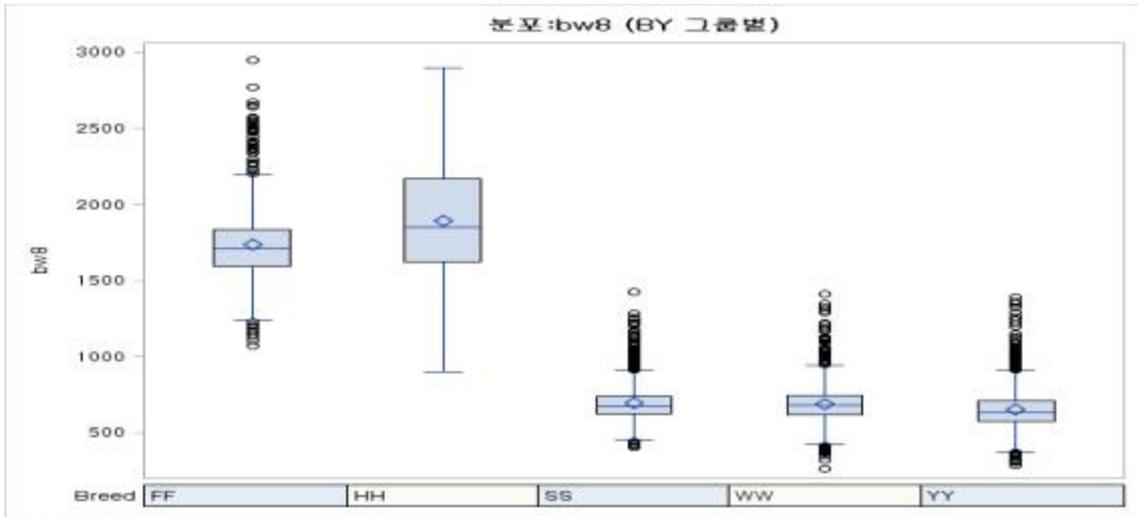


그림 12. 5품종 8주 체중 plot.



그림 13. 5품종 10주 체중 plot.

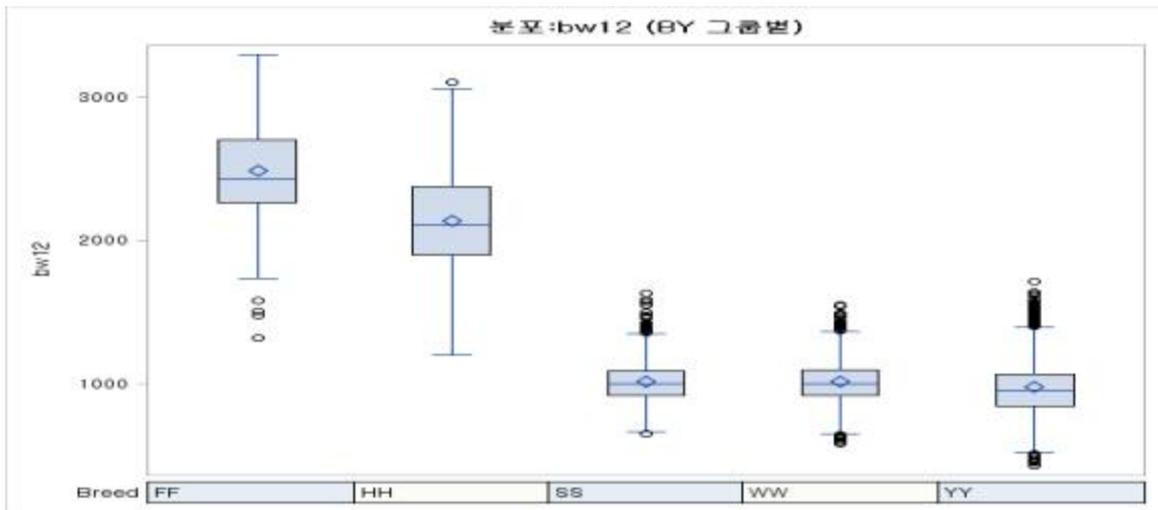
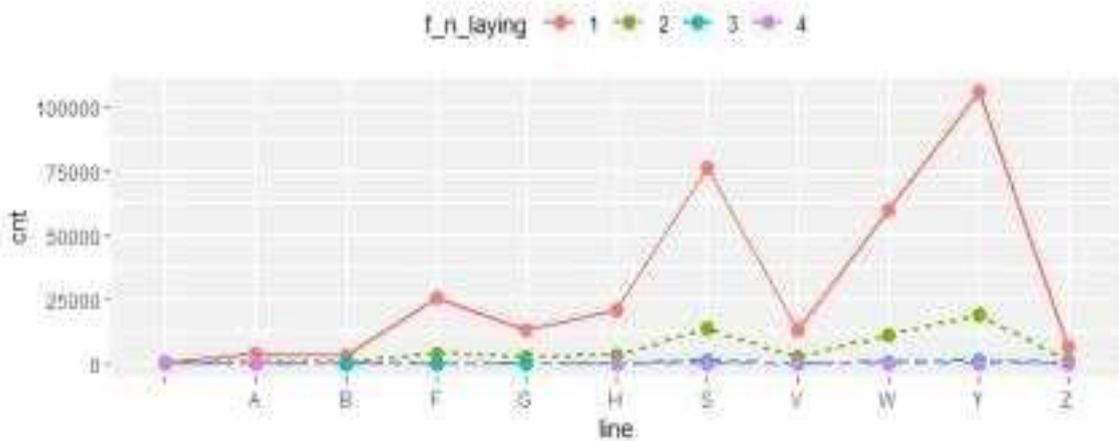


그림 14. 5품종 12주 체중 plot

(나) 표현형 데이터 수집 : 산란수 관련 데이터
 - 10계통 395,097개 자료 수집.

표 14. 순계 10계통의 산란 수 수집 데이터 현황

line	총데이터수	id수	산란날짜_최소	산란날짜_최대	총 산란기간(day)
A	4769	98	2020-04-03	2020-08-04	123
B	3932	69	2020-03-30	2020-08-04	127
F	30311	562	2020-03-23	2020-08-01	131
G	16297	262	2020-03-20	2020-08-04	137
H	24613	497	2020-03-25	2020-08-04	132
S	92457	1310	2020-03-18	2020-08-03	138
V	15739	268	2020-03-22	2020-08-04	135
W	72106	1060	2020-03-18	2020-08-03	138
Y	126253	1923	2020-03-19	2020-08-04	138
Z	7793	151	2020-04-03	2020-08-04	123
N/A	827		2020-05-07	2020-08-03	88
	395097	6200			



	A	B	F	G	H	S	V	W	Y	Z	
1	722	4055	3308	25856	13470	21117	76623	13030	59842	105951	6553
2	101	685	587	4206	2640	3391	14182	2534	11225	18893	1200
3	3	25	37	232	181	101	1592	167	1003	1351	39
4	1	4	0	17	6	4	60	8	36	58	1

그림 15. 10계통 산란 수에 대한 자료조사

- 개체가 한번 산란을 할 때 보통 1~4개의 알을 낳으며 보통 1~2개의 알을 낳음.

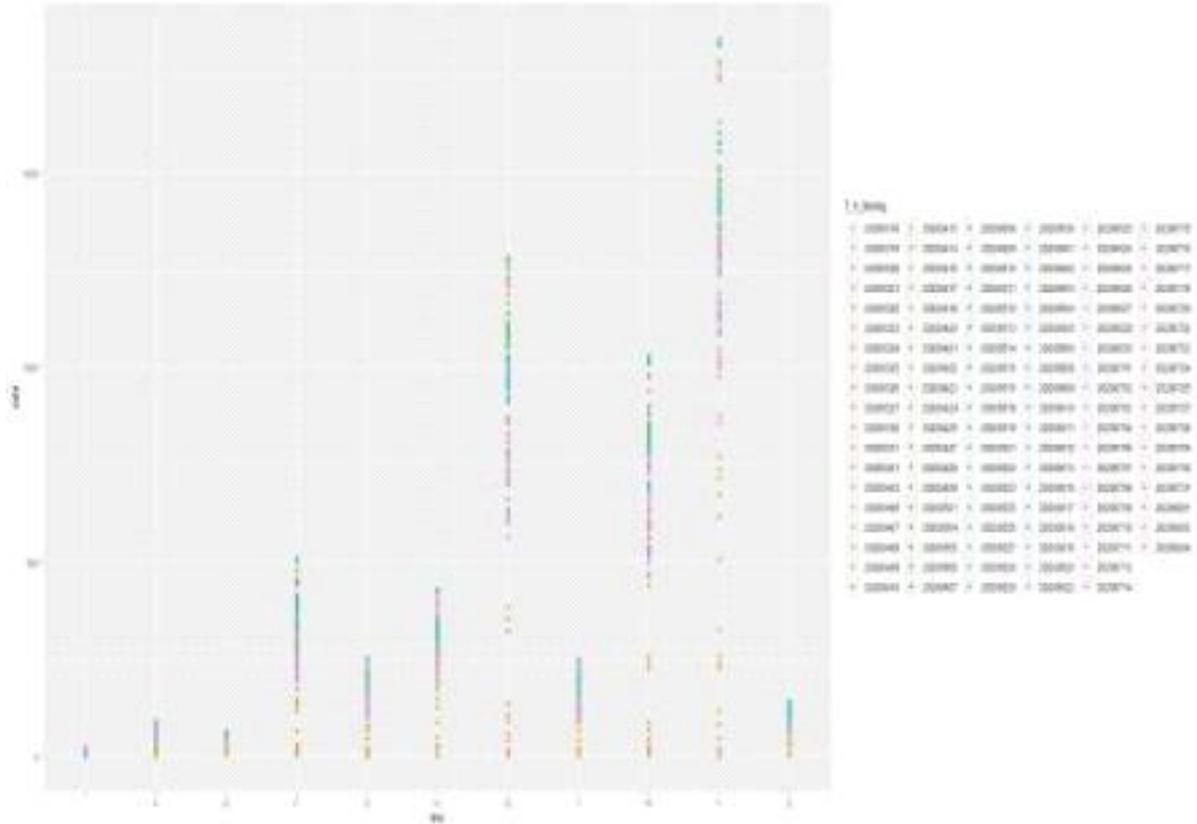


그림 16. 순계 10계통의 산란 수에 대한 자료조사

- 부모 정보가 있는 5계통의 각 개체별로 산란일수(마지막 산란날짜-첫 산란날짜)에 대한 그 기간의 산란수를 합친 총 산란수로 데이터를 정리함.

표 14. 순계 10계통에 대한 정제된 산란 수 자료의 기초 통계

line	개체수	N(중복포함)	산란수				산란일수			
			평균	표준편차	최소	최대	평균	표준편차	최소	최대
A	98	4,769	56	16	3	90	99	15	33	122
B	69	3,932	67	18	9	94	108	18	26	127
F	562	30,311	62	19	1	127	103	22	-	131
G	262	16,297	74	18	1	171	112	17	-	137
H	497	24,613	57	20	1	142	98	23	-	132
S	1,310	92,457	84	16	1	211	119	11	-	138
V	268	15,739	70	18	1	100	110	20	-	135
W	1,060	72,106	81	17	1	189	117	15	-	138
Y	1,923	126,253	77	16	1	178	114	17	-	137
Z	151	7,793	60	18	2	87	101	18	6	123
NA	1	827	937	-	937	937	70	-	70	70
6,201		395,097								

- 평균 128일의 산란일수 동안에 평균 148개의 알을 낳음.
- 10계통의 산란수 자료에 대해서 부모 정보가 있는 5계통(F,H,S,W,Y)에 대해서만 분석하기로 결정함.

(다) 혈통자료 수집

- 순계5계통 7,702 데이터의 혈통정보 사용.
- 혈통자료 오류체크: appearing more than once in the progeny list 오류 발생(총 121두)
- 93 개체의 혈통정보인 부, 모 missing처리함.

표 15. 순계 5계통의 혈통오류 체크

Breed	N(error:appearing more than once in the progeny list.)
F	1
H	3
S	54
W	10
Y	25
	93

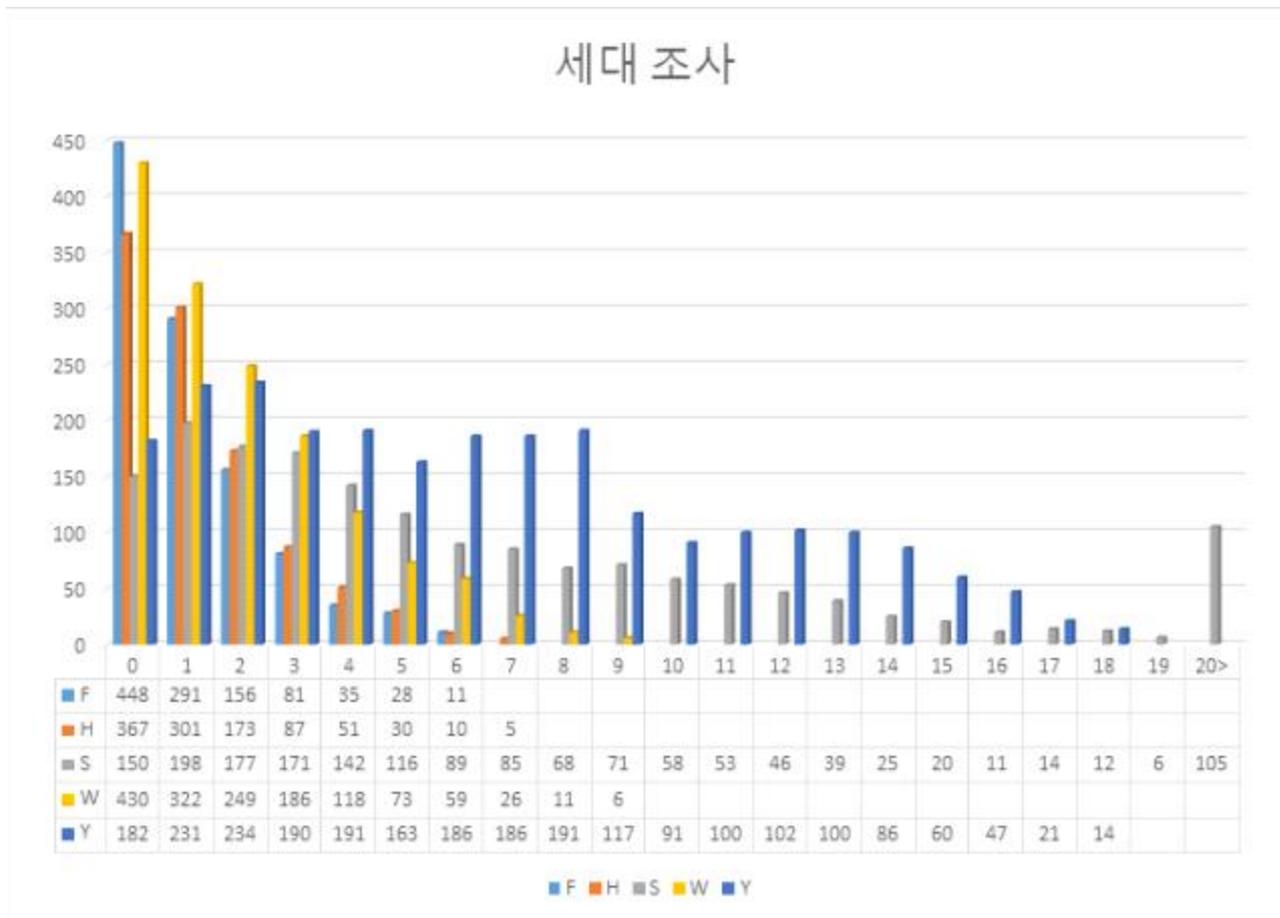


그림 17. 순계 5계통에 대한 각 집단별 generation 조사

- 순계 5계통에 대해서 각 집단 개체별 근친계수 추정
- 혈통정보에 대해 CFC 프로그램을 이용하여 혈통정보를 활용한 근친계수 (Numerator_relationship,NAM) 구함.

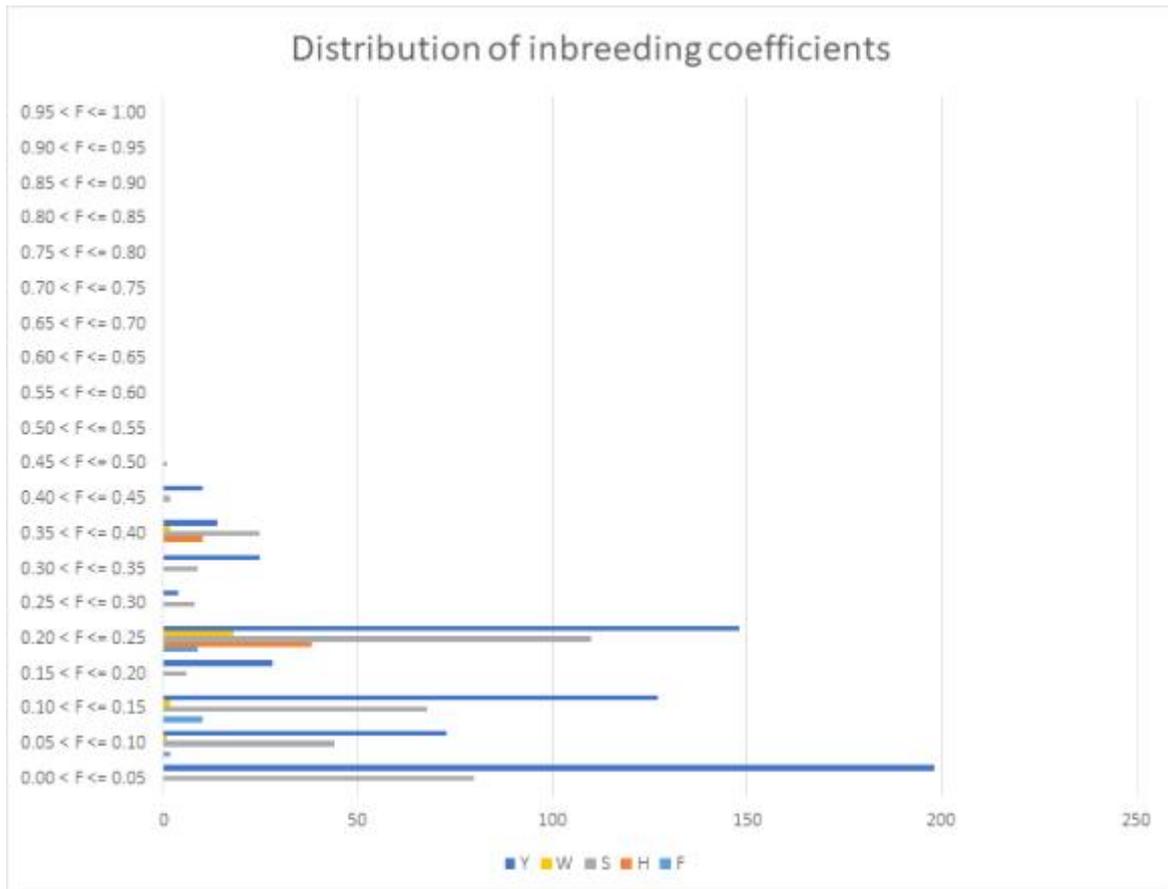


그림 18. 순계 5계통에 대한 근친계수 수준별 분포 현황

(라) 5계통별 육종가 및 정확도 분석

- 한협 개체에서 1세대 이상 정보를 가지는 5계통에 대해서 유전력 분석
- 8주 체중, 10 주 체중 ,12주 체중 그리고 산자수에 대해서 혈연정보를 근거로 한 Multiple trait animal model 이용해 유전분산 추정.
- Asreml4.0 이용

$$y = Xb + Za + e$$

여기서, Y: 표현형들 벡터, b: 고정효과로 y절편, 성별, e: 잔차벡터, a: 임의 효과로 개체효과

표 16. 각 품종별 8주 체중, 10주 체중, 12주 체중 그리고 산자 수에 대해서 유전분산 추정 결과.

표 16. 각 품종별 8주 체중, 10주 체중, 12주 체중 그리고 산란 수에 대해서 유전분산 추정 결과.

F Covariance/Variance/Correlation Matrix Residual					F Covariance/Variance/Correlation Matrix animal				
TRT	8주체중	10주체중	12주체중	산란수	TRT	8주체중	10주체중	12주체중	산란수
8주체중	16930	0.74	0.60	-0.04	8주체중	8083	0.92	0.85	-0.11
10주체중	14820	23800	0.72	-0.02	10주체중	8659	11010	0.97	-0.35
12주체중	12420	17530	25100	0.03	12주체중	8913	11770	13460	-0.24
산란수	-67.46	-42.46	47.09	138.60	산란수	-35.25	-125.50	-97.65	11.92

H Covariance/Variance/Correlation Matrix Residual				H Covariance/Variance/Correlation Matrix animal			
TRT	8주체중	12주체중	산란수	TRT	8주체중	12주체중	산란수
8주체중	26000	0.67	0.04	8주체중	5426	0.90	0.23
12주체중	19700	33400	0.10	12주체중	4973	5589	0.43
산란수	106.6	335.3	356.3	산란수	86.86	166.7	26.65

S Covariance/Variance/Correlation Matrix Residual				S Covariance/Variance/Correlation Matrix animal			
TRT	8주체중	12주체중	산란수	TRT	8주체중	12주체중	산란수
8주체중	8730	0.77	-0.05	8주체중	1275	0.98	0.32
12주체중	8727	14500	-0.01	12주체중	1783	2579	0.18
산란수	-66.55	-10.69	210.6	산란수	71.13	57.39	39.99

W Covariance/Variance/Correlation Matrix Residual				W Covariance/Variance/Correlation Matrix animal			
TRT	8주체중	12주체중	산란수	TRT	8주체중	12주체중	산란수
8주체중	8067	0.79	0.09	8주체중	1836	0.92	0.00
12주체중	8132	13270	0.08	12주체중	2034	2682	-0.08
산란수	126	156.6	267.2	산란수	0.24	-18.68	20.28

Y Covariance/Variance/Correlation Matrix Residual					Y Covariance/Variance/Correlation Matrix animal				
TRT	8주체중	10주체중	12주체중	산란수	TRT	8주체중	10주체중	12주체중	산란수
8주체중	8255	0.65	0.57	-0.04	8주체중	1079	0.90	0.83	0.003
10주체중	7597	16760	0.653	-0.09	10주체중	1164	1546	0.94	-0.07
12주체중	7181	11720	19230	-0.04	12주체중	1536	2078	3172	-0.16
산란수	-35.87	-133.3	-56.24	124.7	산란수	0.37	-9.61	-31.58	11.72

표 17. 각 계통에 대한 유전력 추정 결과

Line Trt	F		H		S		W		Y	
	유전력	SE								
8주체중	0.32	0.08	0.17	0.07	0.13	0.04	0.19	0.05	0.12	0.03
10주체중	0.32	0.08							0.08	0.03
12주체중	0.35	0.09	0.14	0.07	0.15	0.04	0.17	0.05	0.14	0.04
산란수	0.08	0.06	0.07	0.06	0.16	0.04	0.07	0.04	0.09	0.03

표 18. 각 계통에 대해서 육종가 평균 결과

전체 개체(혈통)						표현형 있는 개체				
F breed	cnt	mean	stdev	min	max	cnt	mean	stdev	min	max
8주	1207	4.41	53.4	-166.0	259.2	562	5.23	59.84	-166	259.2
10주	1207	4.40	63.1	-195.1	264.3	562	5.29	71.12	-195.1	264.3
12주	1207	4.33	68.9	-222.5	261.4	562	5.04	77.78	-222.5	261.4
egg	1207	0.00	1.4	-7.7	5.3	562	-0.03	1.61	-7.673	5.269
H breed	cnt	mean	stdev	min	max	cnt	mean	stdev	min	max
8주	1115	0.49	39.7	-148.3	136.4	497	0.84	43.49	-127	136.4
12주	1115	-0.36	39.3	-151.0	134.2	497	-0.20	43.54	-134	134.2
egg	1115	-0.15	1.9	-5.9	5.9	497	-0.17	2.12	-5.867	5.095
S breed	cnt	mean	stdev	min	max	cnt	mean	stdev	min	max
8주	1754	-2.17	20.8	-75.4	84.1	1310	-2.34	21.27	-75.35	84.11
12주	1754	-3.16	29.2	-116.1	118.8	1310	-3.36	29.89	-116.1	118.8
egg	1754	-0.07	3.8	-15.9	14.7	1310	-0.11	3.88	-15.91	14.68
W breed	cnt	mean	stdev	min	max	cnt	mean	stdev	min	max
8주	1689	0.18	22.6	-77.6	115.0	1060	0.32	24.41	-73.33	115
12주	1689	-0.62	27.4	-103.1	130.8	1060	-0.51	29.60	-103.1	130.8
egg	1689	0.06	1.8	-5.9	9.0	1060	0.06	1.92	-5.905	9.043
Y breed	cnt	mean	stdev	min	max	cnt	mean	stdev	min	max
8주	2586	-0.42	19.6	-61.1	70.2	1923	-0.32	20.21	-61.05	70.2
10주	2586	-0.64	23.9	-72.5	85.0	1923	-0.50	24.55	-72.51	85.01
12주	2586	-0.57	33.8	-100.7	123.4	1923	-0.37	34.74	-100.7	123.4
egg	2586	0.03	1.7	-6.6	8.3	1923	0.04	1.77	-6.625	8.345

표 19. 각 계통에 대한 육종가 정확도의 평균 결과

Line	TRAIT	육종가의 정확도 평균	육종가의 정확도 표준편차
F	8주	0.67	0.05
	10주	0.69	0.04
	12주	0.68	0.05
	egg	0.47	0.03
H	8주	0.56	0.04
	12주	0.55	0.04
	egg	0.43	0.06
S	8주	0.57	0.05
	12주	0.56	0.05
	egg	0.58	0.04
W	8주	0.58	0.04
	12주	0.57	0.04
	egg	0.42	0.04
Y	8주	0.56	0.04
	10주	0.56	0.04
	12주	0.57	0.04
	egg	0.51	0.05

3. 실시간 유전능력 평가 프로그램 개발

가. 혈연기반 유전능력 평가 개요

세대 간격이 짧은 종계 육종에 적절한 선발 및 교배계획을 수립하여 유전적 개량 효과를 극대화 하기 위해서, 육종가 및 유전모수 추정이 필요할 때 마다 즉시 정보를 업로드 하고 분석할 수 있는 실시간 유전능력 평가 프로그램을 개발하였다.

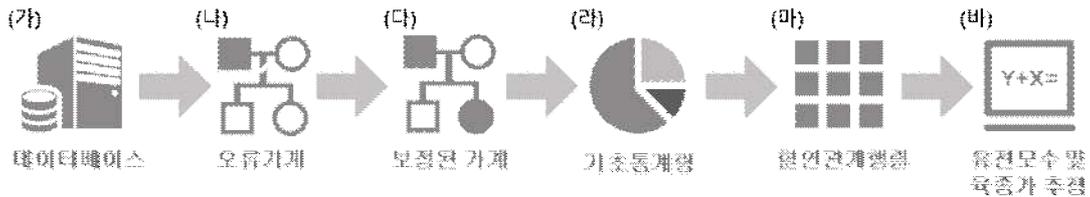


그림 20. 온라인 유전능력평가 전체 모식도

전체 분석 과정은 위 그림과 같다.

- (1) 그림 (가). 선택된 가축 계통의 표현형과 가계 정보 및 모델 식을 보정하기 위해 고정 효과로 (Fixed Effect) 이용될 개체의 부가정보들을 데이터베이스에서 추출한다.
- (2) 그림 (나)와 (다). 추출된 가계 정보에서 오류를 찾아 해당 개체를 제거한다.
- (3) 그림 (라). 추출된 표현형과 분석에 순수히 이용되는 표현형의 기초통계량을 조사하여 보여준다.
- (4) 그림 (마)와 (바). 가계 정보를 이용하여 혈연관계행렬을 만들고 혈연관계를 이용한 혼합모형으로 유전 모수 및 육종가를 추정한다.

나. 혈통정보 보정

(1) 혈통정보 보정 개요

혈연관계행렬을 제작하기에 앞서, 데이터베이스에서 추출한 가계 정보에서 오류 개체 정보를 확인하고 오류를 수정해야 하는 전처리 작업이 반드시 필요하다.

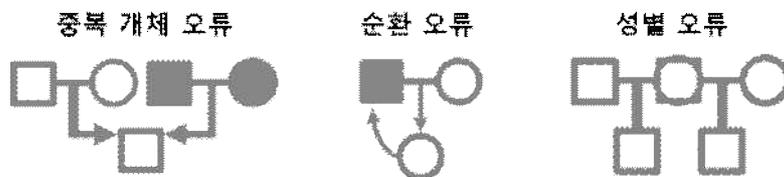


그림 21. GSP 가계 정보에 포함된 오류들

위의 그림처럼 가계 정보에는 크게 3가지 종류의 오류가 포함될 수 있으며(그림 21.) 각 오류가 나타날 경우, 어떤 개체를 남기고 지울지는 데이터를 다루는 분석자의 판단에 달려있다. 기존의 가계 오류확인용 소프트웨어 및 패키지는 '가계 정보상 에러의 유무를 표현하는데 그치거나 복잡하게 얽혀있는 오류의 경우 찾아내지 못하는 한계점들도 존재하고 있다. 또한 '실시간 유전능력 평가'처럼 분석 시 분석가가 개입하지 않은채 일괄적으로 오류정보를 찾고 수정하는 프로그램에는 공개 및 상용툴이 적당하지 않음을 확인하였다.

이에 따라 위 그림의 3종류의 오류를 세분화 하여 지금껏 종계GSP DB에서 확인되었던 혹은 일어날 가능성 있는 오류들을 정의하고 그에 따른 처리 모듈을 직접 개발하였다.

(2) 중복 개체 오류

(가) 부모의 결측치가 없는 경우

중복 개체의 Sire와 Dam의 두 아이디 모두 동일 할 때: 이 경우엔 정확히 같은 개체가 반복으로 입력된 것이기 때문에 하나의 데이터만 남기고 삭제를 진행한다.

ID	Sire	Dam
C	A	B
C	A	B



ID	Sire	Dam
C	A	B

그림 22. 중복 개체의 부모 아이디가 모두 동일한 경우

중복 개체의 Sire와 Dam의 두 아이디가 모두 다를 때: 이 경우 중복된 모든 개체들의 모든 가계정보를 지워 잘못된 계산된 혈연행렬 계산을 방지한다.

ID	Sire	Dam
C	A	B
C	D	E



ID	Sire	Dam
-	-	-

그림 23. 중복 개체의 부모 아이디가 모두 다를 경우

중복 개체의 두 부모 중 하나의 아이디가 다를 때: 두 개체 이상의 중복 개체에서 그들의 Sire(혹은 Dam)의 ID가 고정일 경우에는 등록자의 정보가 신뢰할만하다 판단되므로 개체 정보를 지우지 않고 Dam(혹은 Sire)의 ID만 결측치로 교체하여 혈연관계가 끊김을 방지한다.

ID	Sire	Dam
C	A	B
C	A	D



ID	Sire	Dam
C	A	-

그림 24. 중복 개체들의 부모 중 하나의 아이디만 다를 경우

(나) 부모 중 한쪽이라도 결측치가 존재 하는 경우

개체의 결측치가 아닌 부모 정보를 합칠 때 각각 하나로 수렴되는 경우 하나의 개체 데이터로 결측이 아닌 부모정보를 합쳐 개체의 정보를 보존한다.

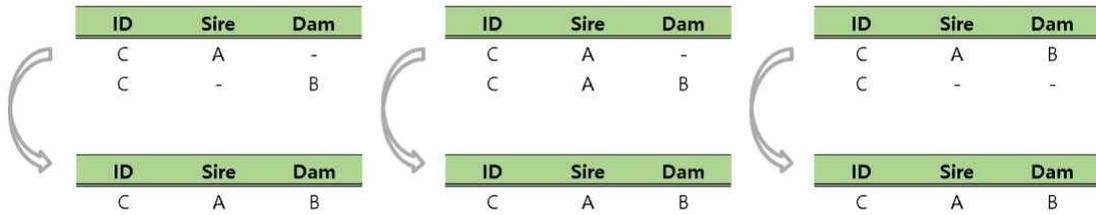


그림 25. 결측치 아닌 부모 정보를 통합 가능한 경우

(다) 결측치가 아닌 부모 정보를 합칠 때 각 Sire와 Dam이 하나로 수렴되지 않는 경우: 하나로 통일되지 않는 Sire와 Dam의 정보는 결측치로 나타낸다.

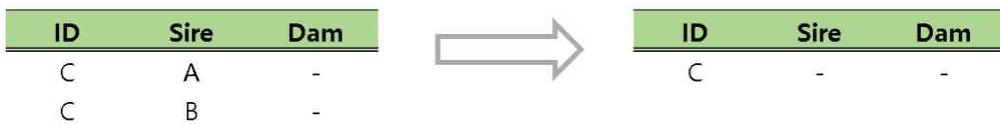


그림 26. 결측치 아닌 부모 정보를 통합 불가능한 경우

(3) 순환오류

순환오류는 자손이 선조의 부모로 다시 나타나는 오류이다. 이 경우는 가계정보가 가질 수 있는 심각한 오류 중 하나로, 바로 윗세대 부모와 자손만 고려해야 하는 부분부터 불특정한 세대 수 차이가 나는 선조와 혈연관계로 이어진 자손들 간의 관계를 모두 짚어보아야만 확인되는 오류이다.

자기 자신의 순환오류: 한 개체의 부(또는 모)가 자기 자신의 ID인 경우에도 오류 처리가 필요하다. 이러한 경우에 해당 개체를 삭제한다.



그림 27. 개체 자기 자신의 순환오류

부모 동일 오류는 부와 모가 서로 동일한 ID인 경우는 순환오류 이자 일종의 성별 오류도 포함인 경우이다. 이 단계에서 해당 부모 정보를 가진 개체를 제거하지 않더라도 성별 오류에서 제거가 가능하기 때문에 한쪽의 Sire나 Dam으로 취합하고 나머지는 결측으로 채워넣는다. 이때 한쪽 성별로 취합 할 때는 기존 개체의 부모로써 쓰인 정보를 찾아 성별이 고정되어있는 경우에만 가능하며 고정이 되어있지 않은 경우에는 두 정보를 결측으로 둔다.

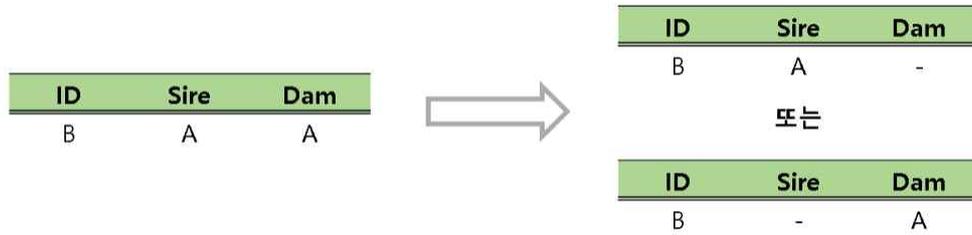


그림 28 순환오류 중 부모가 동일한 경우

자손이 선조의 부모로 다시 나타나는 순환 오류: 이의 경우는 계층적인 구조가 무너져서 이어진 개체들간의 선조와 자손의 구분이 불가능해 진다. (그림 8의 갈색 순환 화살표에 가담한 개체 참고) 결국 어디서부터 Human error가 들어간건지 장담할 수 있는 부분이 아니기에 혈연 정보의 손실이 크더라도 서클 오류에 가담하고 있는 모든 개체들을 가계정보로부터 들어내 제거함으로써 순환오류를 해결 할 수 있다.

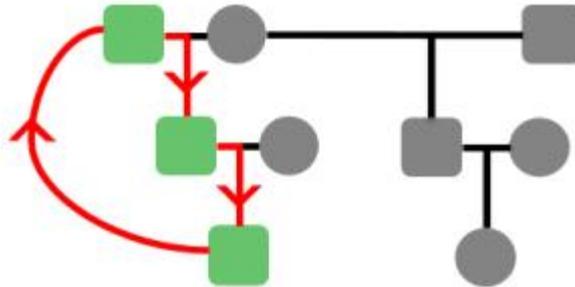


그림 29. 자손이 선조의 부모로 다시 나타나는 순환오류

(4) 성별 오류

간혹 특정개체가 부로써 이용되다가 다른 개체의 모로써 이용되는 경우를 성별 오류를 지닌 가계정보라고 할 수 있다. 두 성별을 가진 개체 중 비율이 큰 성별이 95% 미만 나타나는 경우: 위와 같은 경우는 성별이 명확하게 기록되지 않았다고 보여지기 때문에 가계데이터 전체의 혼란을 막기위해 아비나 혹은 어미로 사용된 정보를 모두 결측치로 나타낸다.

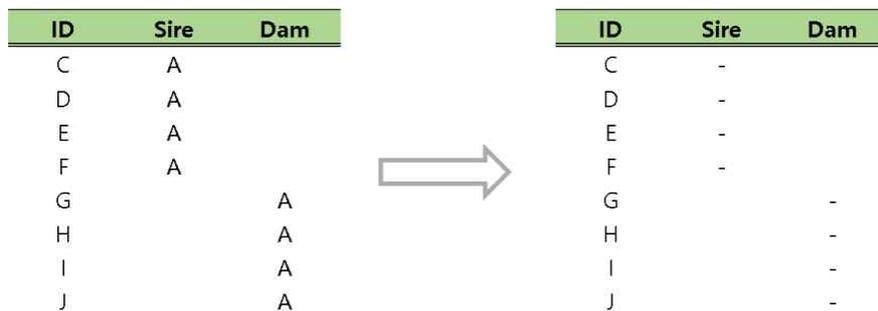


그림 30. 한쪽 성별로 보기 어려운 경우

두 성별을 가진 개체 중 비율이 큰 성별이 95% 이상 나타나는 경우: 자손을 많이 가질 수 있는 종에선 그만큼 부모로써 많은 기록이 만들어지는 것이므로 개체 삭제보단 최대한 개체를 살리는 것이 효율적이다. 이를 위해 특정 개체에 대해서 모든 성별 갯수와 비율을 계산하여 한 쪽으로 치우친 비율이 95% 이상일 때 나머지 성별 5%를 오류로 판단한다. 허나 5%의 성별 기록을 바꿔주게 되면 반대 성을 가진 부모의 정보가 문제가 생기므로 5% 오류의 부모 정보를 결측치 처리한다.

ID	Sire	Dam
C	A	
D	A	
E	A	
F	A	
G	A	
H	A	
I	A	
J		A

➔

ID	Sire	Dam
C	A	
D	A	
E	A	
F	A	
G	A	
H	A	
I	A	
J		-

그림 31. 5%미만의 잘못된 성별 정보를 수정 가능한 경우

(5) 혈연 관계 행렬 생성

오류 개체를 보정한 가계 데이터에 세대 수 계산 및 세대 순 정렬 및 조상세대를 추가하는 과정을 진행하여 혈연관계행렬을 위한 PED 파일 형식의 데이터를 생성하였다. (R 통계 소프트웨어의 'pedigree' 패키지 사용) 만들어진 PED데이터로 혈연관계 행렬을 생성한다. (R 통계 소프트웨어의 'nadir' 패키지 사용)

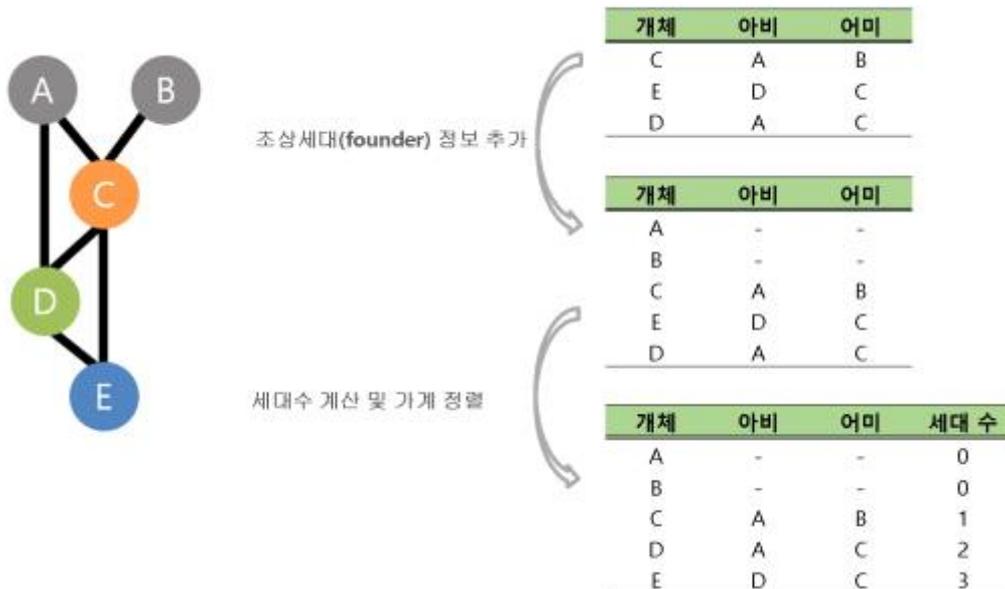


그림 32. 임의의 가계도와 가계 보정의 예시

다. 유전모수 및 육종가 추정

(1) 동물 혼합모형과 혼합모형방정식 활용

(가) REML 분석 방법을 이용하여 유전모수인 유전분산 (Genetic variance), 환경분산 (Environment variance), 유전력 (Heritability)를 추정.

$$y = Xb + Zu + e$$

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b \\ u \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}, \alpha = \sigma_e^2 / \sigma_u^2$$

X : 고정효과를 위한 디자인 행렬
 Z : 임의효과를 위한 디자인 행렬
 b : 고정 효과 벡터
 u : 임의 유전 효과 벡터
 b, u : 각 고정효과 임의효과 추정벡터
 σ_e^2, σ_u^2 : 각 유전분산, 환경분산 (REML 방법으로 추정)
 A : 혈연관계행렬 (NRM)

동물 혼합모형(Animal Mixed Model)과 혼합모형방정식(MME, 오른쪽)

(나) 앞서 제작한 혈연관계행렬을 이용하여 BLUP 분석 방법으로 Animal model을 동물 혼합모형방정식(Mixed model equation, MME)을 풀어 육종가, 예측오차분산(Prediction Error Variance, PEV), 육종가를 추정한다.

(다) R 통계 소프트웨어의 'pedigree' 패키지를 이용한다.

(2) 손쉬운 육종 모형 설정이 가능한 인터페이스 설계

(가) 유전능력을 평가하기 위해서 복잡한 수식 설정 및 불필요한 데이터 핸들링을 없애고 DB에 업로드된 데이터를 간단히 선택하여 Animal model식을 만들고 분석이 가능하게 화면을 구성하였다. 개발된 유전능력 평가 프로그램은 <http://gspcbis.kr/breedebv/> 주소로 접속해서 이용가능하며 로그인한 사용자에게 제공된다.

(나) 본인이 설정하고자 하는 식의 기본 구조와 내부적으로 이루어지는 일련의 분석 과정을 식과 모식도로 제공하고있으며 이를 바탕으로 분석자는 관심있는 계통과 표현형을 선택하여 분석을 진행하게 된다.

(다) 고정효과로 성별 정보가 기본으로 혼합모형 식에 포함이 되어있으며 표현형은 정적 표현형(한번의 측정으로 고정되는 표현형 측정 값. 예를 들면 시산일령, 시산난중이 있다.)과 동적표현형(시간의 흐름에 따라 측정 값이 변화하는 표현형들로 예를 들어 체중, 정강이 길이 등이 있다.)으로 나뉘 DB에 저장되어있는 데이터를 정확히 불러 사용할 수 있도록 하였다.

(라) 선택한 표현형과 품종 내의 개체 데이터 분포에 대한 이해를 돕고자 기초통계량 정보를 표와 차트로 요약하여 제공한다.(그림 34)

• 분석 | 유전능력평가 순

종개의 선형 방정식을 알아내고 특정 목표 성질을 위한 설명을 제공하는 유전 능력 평가 기능입니다.

분석모델

해당 계통내의 동물정보를 활용하여 방정식에서 있는 계통들의 유전효과를 고려한 아래의 Animal model 식을 적용합니다.

$$y = \mu + 20A + 10B + F$$

y : 관심있는 형질(체중질량, 출생연수)
 μ : 종속변수의 전체평균
 20A : 각 계통의 상형효과
 10B : 각 계통의 임의상 가계유전효과
 F : 잔향효과(오차)

분석과정

• 보정 PED: 각 계통의 스크립트와 각 "pedigre" 파일을 이용하여, 가계정보를 바탕으로, 생애오류, 표현형 및 고정효과 등 종속변수 중 여러 가지, Founder 세대의 추가, 계통을 설정

• 기초 통계: 계통번호, 세대를 번호, 유전형 정보 입력

• NRM: 각 "pedig" 파일을 이용하여 방정식계열 (Numeric Relationship Matrix, NRM) 제작

• EBV: 각 "NRM" 파일을 이용하여 NRM을 이용한 REML 방법으로 유종기 계산 - REML (Restricted estimated maximum likelihood) 방법으로 유전효과 추정

계통:

유전형:

종속변수:

유전형:

그림 33. 동물 모형식에 들어갈 계통 및 표현형 선택 사용자 인터페이스

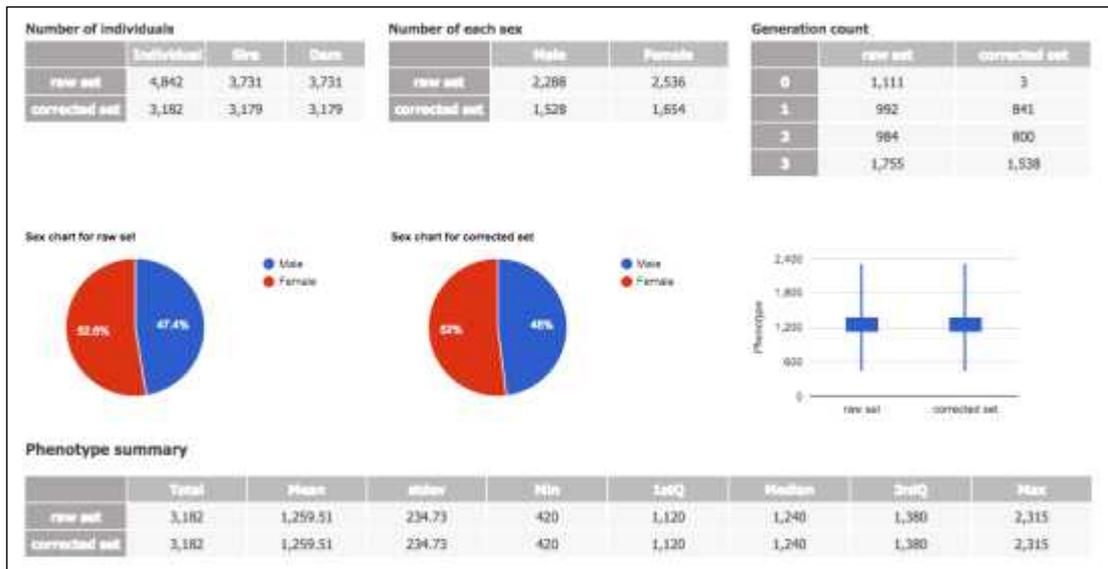


그림 34. 구현된 기초통계량 표와 차트 화면 구성

(마) 위의 페이지 결과 예시처럼 가계 내의 개체와 아비 및 어미 수, 성별 비율, 세대 수 분포, 표현형의 평균, 표준편차 등과 box plot이 제공된다.

(바) 선택된 품종에는 DB에 저장되었으나 결측치 혹은 가계의 오류 등의 이유로 유전능력 분석에 사용하지 못하는 데이터가 있기 때문에 데이터 통계를 2가지 데이터 세트로 나눠 제공하게 된다. raw set는 DB에서 추출한 원본 데이터 세트이며 corrected set는 분석모형에 넣을 수 있게 보정한 데이터 세트를 의미 한다.

(3) 실시간 유전모수와 육종가 제공

(가) 혈연관계를 근거로 추정된 유전 능력값들은 아래 화면처럼 구현하였다. 유전력을 계산하기 위한 유전분산과 환경분산은 REML 분석으로 얻게되고 실제 분석에 이용된 표현형들로부터 표현형 분산을 계산 하여 유전력을 보여준다.

$$h^2(\text{유전력}) = \frac{\sigma_G^2(\text{유전분산})}{\sigma_P^2(\text{환경분산})}$$

(나) 육종가(EBV)는 정확도와 관련된 추정치인 예측오차분산(PEV)과 함께 개체 마다 화면에 출력되며 분석에 쓰였던 개체 정보(가계정보, 성별, 표현형, 품종)함께 표로 보여진다.

(다) 사용자는 교배 및 선발에 우수개체 및 출하개체를 선별하기 쉽도록 오름 차순 또는 내림 차순 정렬을 선택할 수 있으며 농가 및 담당 기관에 결과를 배포하기 용이하도록 테이블을 엑셀로 저장 하거나 화면 출력이 가능하다.

유전 능력 분석 결과

용어정의 : EBV - Estimated breeding value, 추정 육종가, 후대에 전달될 개체의 유전적 능력에 관한 추정치.
PEV - Prediction error variance, 예측오차분산, BLUP의 StDev의 제곱 근.

유전 모수(Genetic parameter)

유전분산 (Vg)	유형분산 (Ve)	표현형분산 (Vp)	유전력 (h ²)
16,466.15	38,328.94	55,096.22	0.3

육종가 (EBV)

Show 10 entries Search:

Line	Individual	Sire	Dam	Sex	Phenotype	EBV	PEV
0	HH HH201703061	HH201602475	HH201600550	1	1,120.0	56.43	8,578.21
1	HH HH201703060	HH201602475	HH201600550	1	1,325.0	92.67	8,578.21
2	HH HH201703059	HH201602475	HH201600550	1	1,155.0	62.61	8,578.21
3	HH HH201703058	HH201602475	HH201600399	1	1,315.0	114.46	8,395.72
5	HH HH201703056	HH201602475	HH201600158	1	1,290.0	97.06	8,296.04
6	HH HH201703055	HH201602475	HH201600154	1	960.0	10.1	8,036.23
7	HH HH201703054	HH201602475	HH201600154	1	1,170.0	47.23	8,036.23
8	HH HH201703053	HH201602475	HH201600154	1	970.0	11.86	8,036.23
9	HH HH201703052	HH201602475	HH201600154	1	1,010.0	18.94	8,036.23
10	HH HH201703051	HH201602475	HH201600151	1	1,140.0	96.5	8,662.71

Showing 1 to 10 of 3,182 entries

Previous 1 2 3 4 5 ... 319 Next

그림 35. 유전 모수 및 육종가 화면 구성

(4) 선발 지수식 설정

(가) 개체를 부모로써 선발하면 하나의 형질에 대해서 고려만 하면 문제가 된다. 특정 형질 간에는 역방향 효과가 있는데 그에 대한 대표적인 예는 소에서 육량 형질을 키우기 위해 육종 방향을 치중하면 등지방 두께까지 같이 두꺼워 지는 효과가 생겨 전체적인 고기의 품질에선 큰 상향 개선이 되지 않는 것이다. 즉, 선발은 하나의 형질에 집중하기 보단 품질 좋은 개량에 목표를 두어 종합적인 개체 능력을 기반으로 진행하여야 한다. 따라서 개체의 능력을 종합적으로 평가하기 위해서 선발 지수식을 세워 관심있는 주요 경제 형질의 종합적인 개체 지표를 나타내고자 하였다.

$$I = b_1X_1 + b_2X_2 \qquad H = a_1G_1 + a_2G_2$$

I : 선발 지수	H : 종합 유전자형
b_i : i 번째 형질의 상대적 중요도	a_i : i 번째 형질의 상대적 경제 가치
X_i : i 번째 형질의 육종가 추정치	G_i : i 번째 형질의 유전자형가

그림 36. 선발 지수 식(Hazel and Lush, 1943)

(나) 선발 지수식은 잘 알려져 있는 축종의 경우 선발지수식에 들어가는 형질 별 가중치 값(b , 각 형질의 상대적 중요도)이 공개되어 있으나, 종계의 새로운 교배조합과 관련한 선발 지수식이 필요하다.

(다) 가중치 값을 결정하기 위해선 위의 선발지수의 두 방정식인 선발지수 I 와 종합유전자형 H 간의 상관계수를 가장 크게 해주는 중회귀 계수를 구하면 된다. 즉, 다음과 같은 연립방정식을 풀면 가중치를 추정 가능하다.

$$b_1\sigma^2_{PX_1} + b_2COV_P(X_1X_2) = a_1\sigma^2_{GX_1} + a_2COV_G(X_1X_2)$$

$$b_1COV_P(X_1X_2) + b_2\sigma^2_{PX_2} = a_1COV_G(X_1X_2) + a_2\sigma^2_{GX_2}$$

b_1 : 형질 X_1 의 상대적 중요도	$\sigma^2_{GX_2}$: 형질 X_2 의 상가적 유전분산
b_2 : 형질 X_2 의 상대적 중요도	$COV_P(X_1X_2)$: X_1, X_2 의 표현형 공분산
$\sigma^2_{PX_1}$: 형질 X_1 의 표현형 분산	$COV_G(X_1X_2)$: X_1, X_2 의 상가적 유전 공분산
$\sigma^2_{PX_2}$: 형질 X_2 의 표현형 분산	a_1 : 형질 X_1 의 상대적 경제 가치
$\sigma^2_{GX_1}$: 형질 X_1 의 상가적 유전분산	a_2 : 형질 X_2 의 상대적 경제 가치

그림 37. 선발 지수의 가중치(상대적 중요도)를 얻기위한 연립 방정식

(라) 선발지수는 적용될 가축의 집단에서 조사된 자료를 근거로 산출 된다. 즉, DB의 개체 성적 정보가 오랜 기간동안 쌓여 가며 계통 안의 개체 수 및 관심형질의 수 및 상대적 경제 가치의 변화에 따라 중요도의 가중치는 달라질 수 있으며, 가중치의 값을 선정하기 위해 현재 DB에 들어있는 개체의 정보를 추출 및 보정한 뒤 전체 데이터를 2세부-위탁(영남대학교)

에 전달하여 추정 가중치를 받아 계통별 중요도를 업데이트하였다.

(마) 교배추천 프로그램에서는 다음과 같이 종계육종에서 주요형질들인 정강이 길이(mm) 체중(g)에 관하여 최종 선발 지수식을 설정하였다. 추후 개체 정보가 축적 되고 관심 개량 형질의 종류와 개수가 변동되었을 때 업데이트가 빠르게 진행될 수 있도록 고려하여 알고리즘을 구성하였다.

$$I = b_1X_1 + b_2X_2$$

I : 선발 지수

b_1 : 체중 형질의 상대적 중요도

b_2 : 정강이 길이 형질의 상대적 중요도

X_1 : 체중 형질의 육종가 추정치

X_2 : 정강이 길이 형질의 육종가 추정치

그림 38. GSPCBIS에 현재 적용된 선발 지수 식

(바) 해당 선발지수는 사용자가 선택한 계통내에 존재하는 모든 개체에 관하여 계산이 되며 이를 이용하여 높은 값부터 순위를 매겨 부모로 선발할 경우 선발지수 내에 변수로 들어가 있는 다형질들에 대해 동시 개량이 가능하다.

4. 유전자형 기반 품종 구분 프로그램 개발

가. 품종 구분 프로그램 개요

5세부와 함께 고밀도 SNP 칩 19종 288수 실험결과로부터, 기계학습 방법으로 특정 품종을 구분할 수 있는 마커셋을 선발하였으며 1단계 결과를 통해 한협CC를 구분할 수 있는 마커셋과 2단계 결과를 통해 한협 GSP를 구분할 수 있는 마커셋을 각각 구현하여 적용하였다.

나. 한협CC 품종 구분 프로그램

(1) 프로그램 구현

(가) 1단계와 5세부프로젝트에서 선별한 HH/HF에 기반한 한협 CC와 타 품종을 구분하는 SNP마커 48개의 정보를 데이터베이스에 저장하고 한협의 CC인지 아닌지의 여부를 예측할 수 있는 예측프로그램을 구현하였다. GSPCBIS 시스템의 “분석>품종구분분석” 메뉴를 통해서 이용할 수 있다.

(나) 품종예측 분석을 하고자하는 미지의 유전자형 정보를 그림 38과 같은 csv파일 양식으로 작성하고 분석 폼(그림 40)에서 입력파일 선택 후 분석 버튼을 눌러서 분석을 수행할 수 있다.

(다) 분석결과는 각각의 개체에 대해 한협 품종인지 아닌지의 여부와 예측알고리즘으로부터 나온 가중치를 테이블 형태로 제공한다. “Download results” 버튼을 눌러 결과를 파일로 다운로드 받을 수도 있다.

	A	C	G	T	A	C	G	T	A	C	G	T
1	AX-76307	AX-76200	AX-76798	AX-76771	AX-80996	AX-76370	AX-76272	AX-76006	AX-76305	AX-76304	AX-76303	AX-76302
2	C1-09	AA	AG	AG	AG	AA	AA	AG	AA	AG	AG	AA
3	C1-10	AG	AA	AA	AG	AA						
4	C1-11	GG	AA	AG	AA	AG	AG	AA	AA	AG	AG	AG
5	C1-12	AG	AA	AA	AA	AG	AG	AA	AG	AG	AG	AA
6	C1-13	GG	AA	AA	AG	GG	AG	AG	AA	AG	AG	AA
7	C1-14	AG	AG	AG	AA	AG	GG	AG	GG	AG	AG	AG
8	C1-15	AA	AA	AG	AA	AA	AG	AA	AA	AG	AG	AA
9	C1-16	AG	AA	AG	AG	AG	AA	AG	AA	GG	GG	AG
10	C8C01	GG	GG	GG	AG	AG	GG	GG	AG	GG	GG	AG
11	C8C02	GG	AG	GG	GG	GG	GG	AG	GG	GG	AG	GG
12	C8C03	AG	AG	GG	AG	GG	AG	AA	GG	GG	GG	AG
13	C8C04	GG	GG	AG	AG	GG	GG	AA	GG	GG	GG	AG
14	C8C05	GG	AG	AG	AG	GG	GG	AG	GG	GG	GG	GG
15	C8C07	GG	GG	AG	GG	GG	GG	AA	AG	GG	GG	AG
16	C8C10	GG	AG	AG	AG							
17	C1-01	AG	AG	AG	AA	AA	AG	AG	AA	AA	AA	AG
18	C1-02	AG	AG	AA	AA	AA	AG	AA	AA	AG	AG	AA
19	C1-03	AG	AG	AA	AA	AG	GG	AG	AA	GG	GG	AA

그림 39. 품종 구분분석을 위한 입력 양식 예

다. GSP 품종 구분 프로그램



그림 40. 품종구분 분석 폼

다. GSP 품종 구분 프로그램

(1) 프로그램 구현

(가) 2단계 5세부프로젝트에서 선별한 HH/HF/HS에 기반한 GSP 품종과 타 품종을 구분하는 SNP마커 61개의 정보를 데이터베이스에 저장하고 GSP 여부를 판별함.

(나) 기계학습 AdaBoost 알고리즘을 이용하며, 민감도/특이도 모두 99% 이상 정확도를 확인함

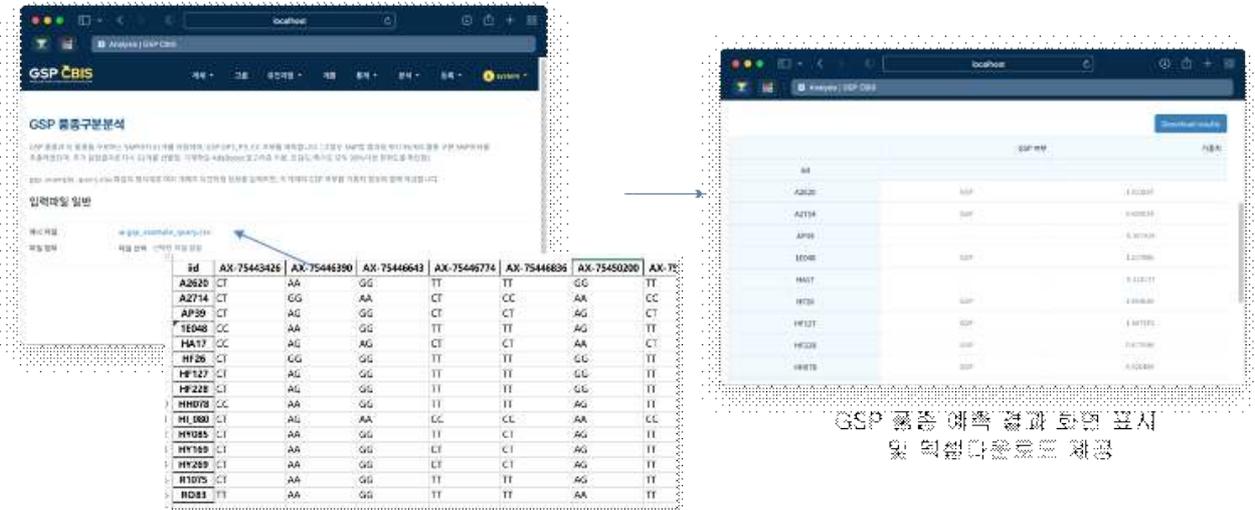


그림 41 GSP 품종구분 분석 화면 예시. 엑셀로 유전자형 자료를 입력하면 결과 출력.

5. 현장 간편 활용 웹 DB구축

가. 개요

개발된 실시간 개체 데이터 관리, 유전능력 평가, 품종 구분 기능을 결합하여 일반 사용자가 직접 자신의 데이터를 등록하고, 관리하면서 직접 유전능력 평가 기능을 수행할 수 있는 기능을 구현하였으며 현장 간편 활용을 위해 모바일 환경에서도 편리하게 활용할 수 있도록 “반응형 웹” 기술을 적용하였다.

나. 향상된 웹 DB시스템 제공

모바일 환경에서도 웹 화면 열람을 편리하게 할 수 있는 반응형 웹 기술을 적용하여, 전체 시스템을 재구성함

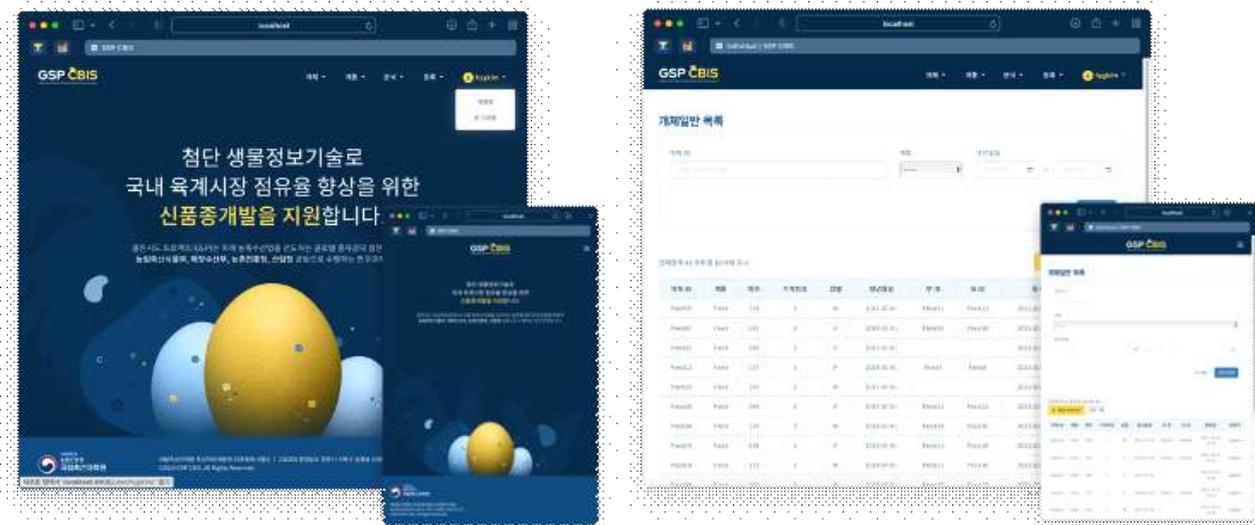


그림 42. 반응형 웹 화면 구현 예시 - PC와 모바일에서 각각 최적화된 화면을 표시

다. 실시간 유전능력 평가 기능 보완

- (1) 로그인 사용자가 직접 자신의 데이터로 유전능력 평가할 수 있도록 기능 보완
- (2) “측정” 정보로 등록한 체중, 정강이길이, 산란수에 대해 각각 유전능력 평가 수행 가능
- (3) 유전능력 평가 수행 결과는 별도로 저장하거나 다운로드가 가능하도록 구현함

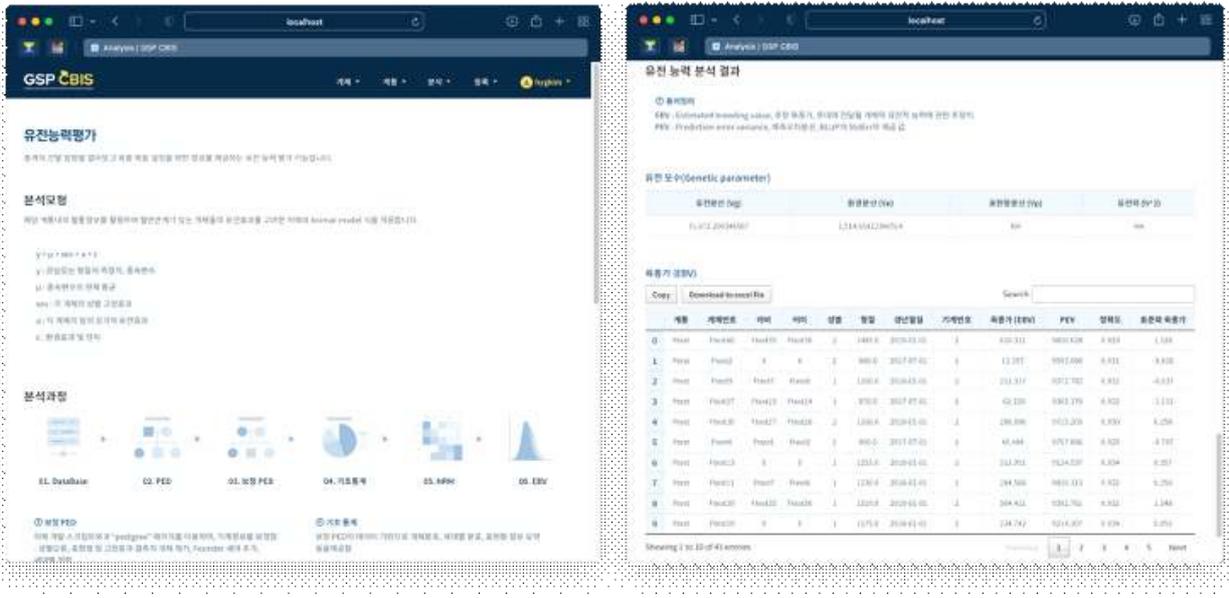


그림 43. 향상된 실시간 유전능력 평가 기능 제공

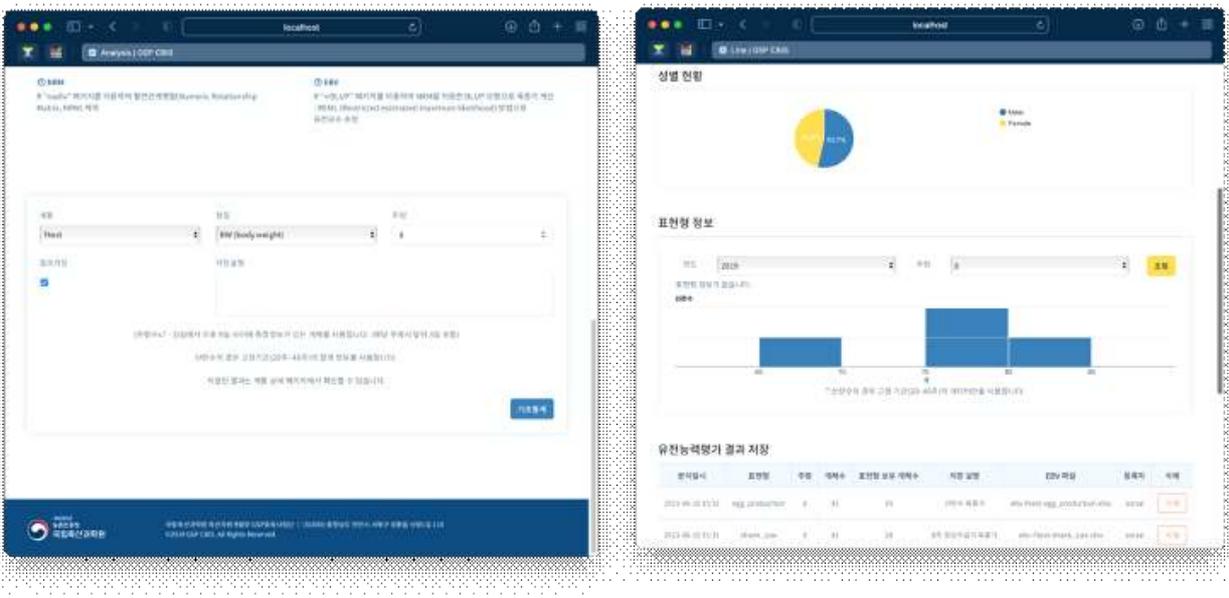


그림 44. 유전능력 평가 결과 저장 기능 제공

라. 복합형질 분석 및 선발지수 계산 기능 제공

- (1) 종계 품종내에서 최적의 아미와 어미 조합을 추천하기 위한 복합형질 분석 기능 제공
- (2) 복합형질(체중, 정강이길이, 산란수)에 가중치를 고려한 선발지수 계산
- (3) 사용자는 선발지수로 정렬하여, 선발에 활용할 수 있다.

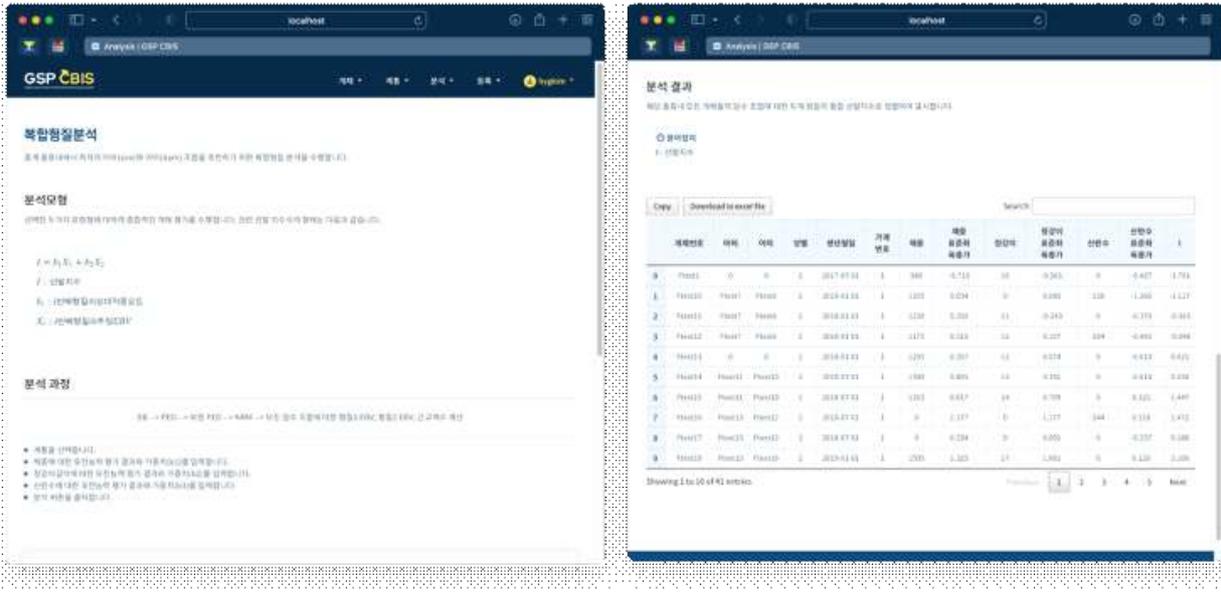


그림 45. 복합형질 분석 화면 예시 - 최종 선발지수를 정렬하여 볼 수 있다.

마. 데이터 직접 관리 기능

- (1) 구축 시스템의 민간활용을 위해 일반 사용자가 직접 데이터를 등록할 수 있도록 구현함
- (2) 엑셀 일괄입력기능을 통해 개체 일반정보, 체중, 정강이길이, 산란수 정보를 등록할 수 있도록 함. 등록시 데이터 이상 여부를 점검하여, 이상이 있을 경우, 이상이 있는 부분을 함께 불가 메시지로 표시함.

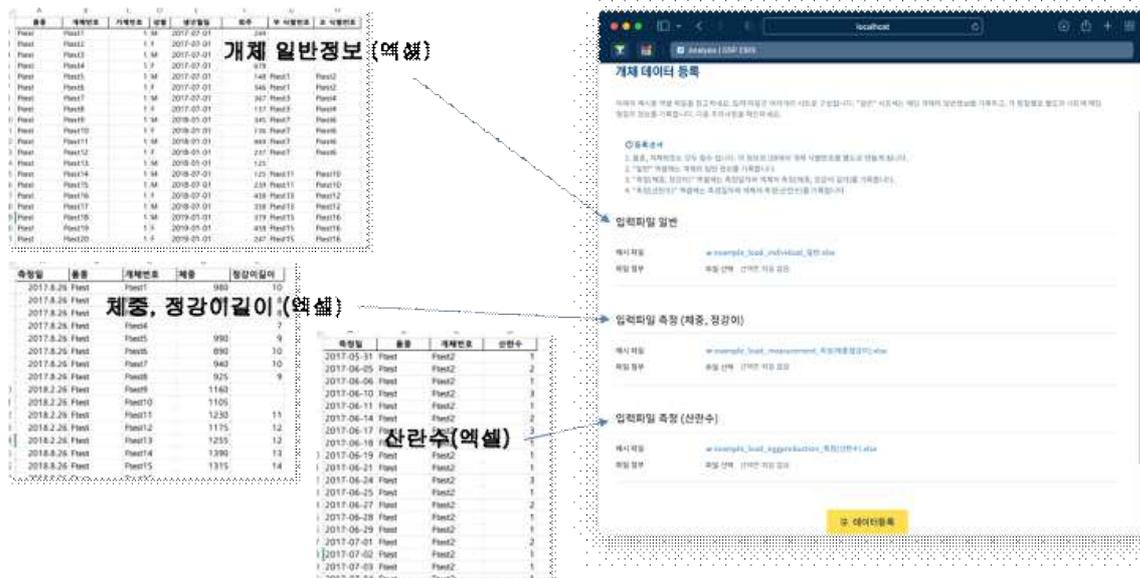


그림 46. 데이터 등록 기능 화면 예시

제 3절 신품종 토종닭 생산을 위한 교배조합 능력검정 시험 및 생산체계 확립

1. 이면교배조합 검정 시험을 통한 토종 종계 개발

가. 재료 및 방법

(1) 공시동물 및 시험설계

본 연구에서는 (주)한협원종이 토종닭으로 인정받은 10개 계통의 순계 중 산육성 위주의 2개 계통(H, F)과 산란성 위주의 2개 계통(S, Y)을 이용하였다. 이들 공시 계통은 (주)한협원종이 1962년부터 외국으로부터 Cornish, White Plymouth Rock, Barred Plymouth Rock, Partridge Rock, Rhode Island Red 및 Hampshire 종을 도입하여 토착종으로 개량하였고, 이들로부터 10개의 토종닭 순계 계통을 확립한 것 중 일부이다. 원종계(GPS)의 교배조합 검정 시험은 공시된 4개 계통을 4×4 이면교잡하여 생산한 16개 조합의 암컷 934수를 대상으로 실시하였다. 교배조합의 구성과 조합별 검정 수수는 Table 1과 같다.

Table 1. The 4×4 diallel cross combinations using Korean native chicken grandparent stock strains

♂ \ ♀	H	F	S	Y
H	HH(53)	FH(59)	SH(55)	YH(60)
F	HF(59)	FF(59)	SF(59)	YF(60)
S	HS(58)	FS(60)	SS(59)	YS(58)
Y	HY(59)	FY(60)	SY(59)	YY(57)

Brackets are the number of chicks

(2) 사양관리

종계의 능력 검정은 경남과학기술대학교 종합농장 내 육추사 및 종계사에서 2016년 7월부터 2017년 4월까지 수행하였다. 공시계들은 육성기(0-15주) 동안 강제 환기 및 자동 온도조절시스템이 완비된 무창계사 내 3단 2열 배터리형 케이지에 사육하였고 (220cm²/1수), 16주령에 종계사로 이송한 후 2단 4열 케이지(580cm²/1수)에서 40주령까지 사육하였다. 사료 급여는 사육 단계별로 종계 사양관리 지침에 따라 시판용 초이사료, 병아리 육성기 사료, 산란기 사료를 급여하고 3주령 이후부터 체중별 상위, 중위, 하위 그룹으로 나누어 (주)한협원종이 제시한 육용종계 권장 급여량으로 제한 급여하였다. 점등 관리는 종계 표준 점등프로그램에 따라 실시하였고, 사양 기별 백신 접종은 (주)한협원종의 표준 백신 접종프로그램에 따라 수행하였으며 7일령에 부리다듬기를 실시하였다. 그 밖의 사양관리는 경남과학기술대학교 닭 사육관리지침에 따라 실시하였고, 시험에 관련된 닭의 관리 및 취급은 본 대학 동물실험윤리위원회(IACUC, No. 2018-7)의 승인을 얻은 후 규정에 따라 시행하였다.

(3) 조사항목

(가) 외모형태

교배 조합별 12주령 또는 16주령 때 개체의 벗 모양과 깃털 색을 조사하고 조합별 깃털 색의 분포 빈도를 분석하였다.

(나) 생존율

조합별 생존율은 발생 후 중추기까지(0~15주령)와 대추기 이후 산란기 동안(16~40주령)으로 구분하여 조사하였다. 생존율은 시기별 입실수 대비 총 생존수에 대한 백분율로 나타내었다.

(다) 체중

체중 측정은 발생 시 체중을 시작으로 20주령까지는 2주 간격으로 전수에 대한 개체별 체중을 측정하였고, 20주령부터 40주령까지는 4주 간격으로 측정하였다.

(라) 산란형질

산란형질로 초산일령, 산란율 및 난중을 조사하였다. 초산일령은 교배 조합별 검정계의 산란율이 5%에 도달한 평균 일령으로 하였다. 일계산란율(Hen-day production)은 25주령부터 검정 종료일까지 주간별 연 생존 수수에 대한 총 산란수의 비율을, 산란지수 (Hen-housed production)는 동일 시기의 전체 산란수를 25주 생존 수수로 나눈 값으로 나타내었다. 난중은 32주령에 산란한 교배 조합별 달걀의 전수에 대한 평균 난중으로 하였다.

(4) 분석 방법

(가) 생산 능력 분석

교배 조합별 생산 능력 측정값 간의 차이에 대한 통계 분석은 SAS 통계패키지(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)의 one-way ANOVA procedure를 이용하여 유의성 유무를 검정하였다. 측정치의 유의적 차이가 인정되는 경우 각 조합 간 평균값의 비교는 Tukey's HSD 검정 방법으로 분석하였다.

(나) 결합능력 분석

결합능력의 추정에는 완전 이면교배에서 사용되는 Griffing's Method I(Griffing, 1956)의 Model I을 사용하였고, Diallel Analysis R statistical packages 프로그램(v3.3.1)을 이용하였다. 본 분석에 대한 선형모형은 다음과 같다.

$$X_{ijkl} = \mu + g_i + g_j + S_{ij} + r_{ij} + \frac{1}{bc} \sum_k \sum_l e_{ijkl}$$
$$i, j = 1, \dots, p,$$
$$k = 1, \dots, p,$$
$$l = 1, \dots, p,$$

여기서,

X_{ijkl} = 양친 i 와 j 사이에서 태어난 k 번째 교잡구의 l 번째 자손의 평균 능력

μ = 집단 평균

g_i (g_j) = 양친 i 와 j 각각의 GCA effect

s_{ij} = 양친 i 와 j 사이의 SCA effect, $s_{ij} = s_{ji}$

r_{ij} = 양친 i 와 j 사이의 reciprocal effect, $r_{ij} = -r_{ji}$

e_{ijkl} = Error term (environmental effect)

결합능력 요소에서 다음과 같은 제한을 두었다.

$$\sum_i e_i = 0 \text{ and } \sum_j s_{ij} = 0 \text{ (for each } j)$$

(다) 조합가 추정

결합능력을 이용한 조합가의 추정은 다음과 같은 수식으로 계산하였다.

$$M_{xy} = GCA_x + GCA_y + SCA_{xy}$$

여기서,

M_{xy} = x 계통과 y 계통 간 교잡에서 생산된 자손의 평균능력

GCA_x = x 계통의 일반결합능력

GCA_y = y 계통의 일반결합능력

SCA_{xy} = xy 교배조합의 특정결합능력 = $\mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + e_{ijkl}$

나. 결과 및 고찰

GPS의 교배조합 시험은 (주)한협원종이 보유한 4계통(H, F, S, Y)을 4×4 이면교잡(diallel crossing)하여 생산한 16개 중계 조합의 암컷 개체를 대상으로 조합별 외모 형태와 생존율, 산육 및 산란능력을 검정 후 최적의 중계 조합을 선정하였다.

(1) 외모 형태

모든 교배조합에서 개체들의 깃털 모양은 단관으로 나타났다. 교배조합 간 개체별 깃털 색의 변이는 그리 크지 않은 것으로 나타났는데 크게 황갈 및 적갈색과 이들 색 간의 혼합 양상이 대부분이었다. 조합별 16주령 깃털 색의 발현 양상을 Fig. 1에 제시하였고, 이들의 분포 빈도를 Table 2에 정리하였다. 분석 결과, 황갈 및 적갈색의 단일 깃털 색만 보이고 이모 색이 전혀 나타나지 않는 조합은 YY, FY, SY, YS로 총 4개의 조합이었다. 이모 색의 변이 양상으로는 황갈과 적갈 이외에 흑색, 적색, 갈색, 황색의 혼합 및 횡반 형태로 색의 농담에도 차이가 있는 것으로 나타났다.

Fig. 1. The representative feather colors of Korean native chicken parent stock combinations



Table 2. Frequency of distribution of feather color in Korean native chicken parent stock combinations

♂×♀	Yellowish Brown	Reddish Brown	Mixed color					Barring
			Yellow /Brown	Black /Brown /White	Black /Brown	Yellow /Brown /Black	Red /Brown/Black	
HH	0	79.17	0	0	2.08	6.25	12.5	0
FF	1.92	7.69	0	0	1.92	0	0	88.46
SS	0	79.17	0	0	0	0	20.83	0
YY	11.90	88.10	0	0	0	0	0	0
HF	0	21.43	0	0	0	0	51.79	26.79
FH	0	33.96	0	0	0	1.89	1.89	62.27
HS	0	77.78	3.7	0	0	0	11.11	7.41
SH	4.00	58.00	0	0	0	0	38.00	0
HY	0	88.89	5.56	0	0	0	5.56	0
YH	12.28	64.91	0	0	0	0	15.79	7.02
FS	0	96.30	0	0	0	0	0	3.70
SF	0	96.23	0	0	0	0	0	3.78
FY	0	100	0	0	0	0	0	0
YF	9.62	67.31	0	0	0	0	23.08	0
SY	0	100	0	0	0	0	0	0
YS	4.26	95.74	0	0	0	0	0	0

Values are mean±standard deviation.

The different letters of superscript within the column significantly differ ($P<0.05$).

(2) 생존율

병아리의 발육 과정에 따라 0~15주령, 16주령 이후로 구분하여 발육 단계별 생존율을 측정하고 이의 결과를 Table 3에 제시하였다. 분석 결과, 입식 대비 15주령까지의 평균 생존율은 89.3%로 조합 간 유의한 차이($P<0.05$)를 보이고 HF, YH 및 FY조합이 95%의 높은 생존율을 보인 반면, YY구는 73.8%로 가장 낮은 생존율을 나타내었다. 16주령 이후 산란기의 평균 생존율은 97% 정도로 육성기에 비해 높은 생존율을 나타내었으며 FH, SH, FS, SF, YF 및 YS 조합이 100%의 생존율을 보이고 HH가 91.4%로 가장 낮은 생존율을 나타내었다. 한편, 사육 전 기간에 순계 계통(HH, FF, SS, YY)의 생존율은 평균 80.2%인 반면 12개의 교잡 계통은 89.0%로 계통 간 교잡에 의한 생존율의 잡종강세 현상이 두드러지게 나타남을 알 수 있었다.

Table 3. Survival rates of Korean native chicken parent stock combinations

♂×♀	0~15weeks	16~40weeks	Total(0~40weeks)
HH	93.9±6.9a	91.4±8.8a	86.2±12.3ab
FF	88.1±3.0ab	96.0±4.0a	84.6±5.9ab
SS	83.0±6.0ab	95.8±4.2a	79.6±8.2ab
YY	73.8±20.8b	95.0±8.7a	70.5±22.7b
HF	94.9±3.0a	96.4±3.0a	91.4±3.3ab
FH	89.8±5.9ab	100.0±0.0a	89.8±5.9ab
HS	92.9±12.4a	96.7±5.8a	89.5±11.8ab
SH	91.3±7.8ab	100.0±0.0a	91.3±7.8ab
HY	93.3±8.2a	96.1±3.9a	90.0±11.1ab
YH	95.0±5.5a	98.3±2.9a	93.3±4.7a
FS	90.0±3.3ab	100.0±0.0a	90.0±3.3ab
SF	89.5±11.8ab	100.0±0.0a	89.5±11.8ab
FY	95.0±2.9a	94.8±5.9a	90.0±5.8ab
YF	86.7±12.5ab	100.0±0.0a	86.7±12.5ab
SY	89.6±10.4ab	93.6±7.0a	84.5±15.6ab
YS	81.4±13.4ab	100.0±0.0a	81.4±13.4ab
Means	89.3±11.1	97.1±5.3	86.8±12.3

(3) 산육 능력

교배 조합별 전 개체를 대상으로 개체별 발생 때부터 20주령까지의 체중을 2주 간격으로 조사하고 이후 산란기 동안 4주 간격으로 조사하였다. 조합별 사육 기간 동안의 체중과 성장 양상을 Table 4 및 Fig. 2에 제시하였다. 분석 결과, 검정 기간 모든 측정 주령에서 교배 조합간 유의한 체중의 차이를 보였다($P<0.01$). 4주령 이후부터 16개 교배조합은 고 체중 그룹, 중 체중 그룹 및 저 체중 그룹으로 구분되고 주령이 지날수록 이의 편차가 커지면서 그룹 간 차이가 확연히 나타났다. 고 체중 그룹은 산육형으로 개량된 2개 계통 간의 교배 조합구 4개(FH, FF, HF, HH)이고, 저 체중 그룹은 산란형으로 개량된 2개 계통 간의 교배 조합구 4개(SY, YY, YS, SS)이며, 나머지 8개(YF, FY, HY, FS, YH, HS, SF, SH)는 중 체중 그룹으로 산육형 계통×산란형 계통의 교배 조합구이다. 시험 종료 시점인 40주령을 기준으로 전체 교배 조합의 평균 체중은 3,134g으로 고 체중 그룹은 3,841g, 저 체중 그룹은 2,381g이며 중 체중 그룹은 3,156g으로 그룹 간에 거의 700g 정도의 차이를 보이고, 고 체중과 저 체중 그룹 간에는 무려 1,460g의 차이를 나타내었다.

Table 4. Body weights of Korean native chicken parent stock combinations

♂×♀	Hatching	6wks	12wks	20wks	30wks	40wks
-----	----------	------	-------	-------	-------	-------

HH	36.4±3.9cde	693.8±86.6a	1309.4±171.8ab	2113.1±330.5abc	3535.1±430.0a	3797.9±409.8a
FF	38.1±3.2abc	695.6±109.3a	1426.1±263.9a	2293.5±369.6a	3664.5±443.8a	3861.5±437.5a
SS	36.7±3.2bcde	422.1±96.5d	1015.4±188.6c	1590.7±233.0d	2116.9±294.5c	2267.5±322.6c
YY	37.2±3.2abcde	436.0±93.3d	1085.7±197.2c	1683.3±281.7d	2350.8±270.6c	2425.5±290.0c
HF	36.1±2.9de	647.7±72.5ab	1369.8±158.1ab	2152.6±252.2abc	3493.8±356.1a	3805.0±363.3a
FH	39.0±3.2a	700.9±90.4a	1407.8±223.7ab	2227.3±354.7ab	3675.9±407.1a	3904.3±445.8a
HS	36.0±2.9de	569.4±83.0c	1317.8±181.9ab	2055.4±198.3bc	2927.3±258.8b	3165.7±295.7b
SH	35.8±2.3de	609.4±111.8bc	1281.0±224.0b	2070.4±241.6bc	2849.2±343.5b	3004.5±333.1b
HY	37.6±3.0abcd	614.4±73.2bc	1348.7±174.5ab	2090.5±190.9bc	2991.8±297.7b	3222.5±281.9b
YH	35.4±2.9e	570.0±92.5c	1288.6±198.6ab	2066.0±247.4bc	2929.1±316.3b	3169.3±347.4b
FS	36.5±3.3cde	589.3±95.8bc	1296.8±214.8ab	2053.0±266.9bc	2948.4±365.6b	3193.4±387.1b
SF	35.9±2.7de	615.5±134.7bc	1339.8±243.8ab	2095.3±255.9bc	2842.7±282.6b	3008.2±287.5b
FY	37.6±3.1abcd	591.6±103.5bc	1290.0±229.2ab	2036.7±271.3c	2937.9±419.8b	3239.1±376.1b
YF	38.6±3.5ab	621.4±103.1bc	1329.2±200.0ab	2152.0±265.3abc	3004.0±286.0b	3244.2±328.5b
SY	35.6±2.5e	469.5±93.2d	1098.6±198.2c	1760.5±225.6d	2325.7±300.3c	2502.4±335.4c
YS	36.5±2.6cde	417.3±109.5d	1010.4±236.0c	1597.2±277.2d	2198.4±308.8c	2331.0±332.8c
Means	36.8±3.2	582.2±132.2	1267.8±242.2	2012.5±336.9	2942.5±581.1	3152.8±618.8

Values are mean±standard deviation.

The different letters of superscript within the column significantly differ ($P < 0.05$).

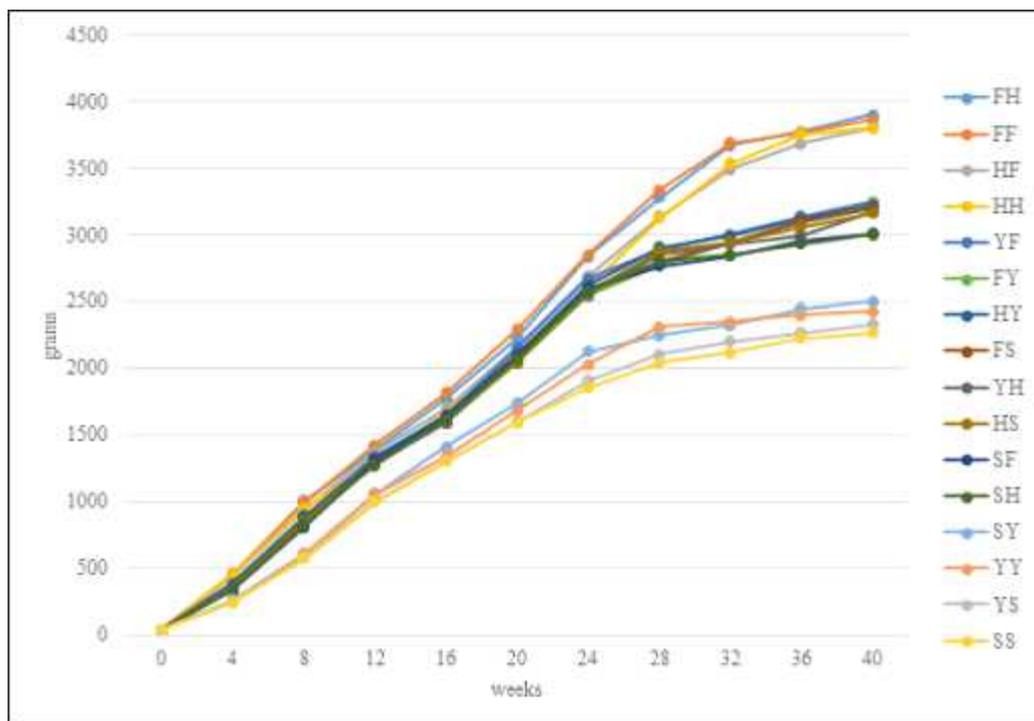


Fig. 2. Changes in body weight of Korean native chicken parent stock combinations from hatching to 40 weeks

따라서 교잡에 이용된 GPS의 유전적 특성에 따라 교배 조합간 성장 능력의 차이가 현저히 나타나고 계통 간 교잡 시 순계에 비해 높은 체중을 보여 잡종강세 현상이 발현됨을 알 수 있었다. 이러한 양상은 (주)한협원종의 종계를 이용한 5x5 이면교잡 시험에서도 거의 동일한 결과를 제시하고 있는데 총 25개 조합구의 체중 분석 결과, 4개의 상위 그룹과 12개의 중위 그룹 및 9개의 하위 그룹으로 조합별 뚜렷한 체중의 차이를 제시하였다(Manjula et al., 2016; Choi et al., 2017a). 또한 Choi et al. (2017a)은 이들 조합구 대부분에서 잡종강세 현상이 나타나고 특히 산육형 계통 × 산란형 계통 간의 교배조합구에서 두드러진 잡종강세효과를 보인다고 하였다.

(4) 산란 능력

교배 조합별 초산일령, 일계산란율, 산란지수 및 32주령 난중을 Table 5에 제시하였다. 전체 교배조합구의 평균 초산일령은 157일로 FY구가 145일로 가장 빨랐으며, HH구가 177일로 가장 늦었다. 전반적으로 고 체중구의 초산일령이 늦고, 저 체중구의 초산일령이 빠른 것으로 나타났다. 또한 순계구의 평균 초산일령은 164일이었고, 교잡구는 154일로 약 10일 정도 교잡구가 순계구보다 빠른 성성숙을 보였다. 이는 성성숙의 조만에도 잡종강세효과가 뚜렷하게 나타남을 의미한다(Choi, 2002; Kang et al., 2012; Choi et al., 2017a).

Table 5. Egg production performance of Korean native chicken parent stock combinations

♂ × ♀	Age at first egg laying (day)	Hen-housed egg production (egg)	Hardy egg production (%)	Egg weight at 32wks (g)
HH	177.3±2.6a	57.3±10.7e	52.2±8.9d	61.9±1.6ab
FF	161.3±5.8bcd	61.7±8.6e	56.0±7.9d	60.8±2.0abcd
SS	150.3±5.7de	85.6±3.5abc	77.5±2.9ab	57.3±1.9e
YY	170.5±5.2ab	72.6±2.3d	64.8±2.0c	58.3±1.8de
HF	166.5±7.6abc	54.2±1.4e	49.6±1.3d	61.5±2.2ab
FH	166.8±2.2abc	60.2±4.4e	53.8±4.0d	61.0±0.7abcd
HS	162.5±4.0bcd	83.4±2.7abc	76.9±4.8ab	60.6±1.4abcd
SH	155.3±3.3cde	82.7±3.0abc	73.9±3.1ab	61.7±2.0ab
HY	156.8±4.7cde	79.0±9.0bcd	71.6±9.0abc	59.4±0.5bcde
YH	155.0±10.5cde	77.3±3.1cd	69.9±2.1bc	61.3±2.4abc
FS	152.5±4.3de	83.9±3.0abc	74.9±3.0ab	60.3±1.3abcd
SF	147.0±10.4e	88.7±1.3a	79.2±1.0a	61.7±0.7ab
FY	145.5±9.3e	81.9±4.6abc	75.3±7.4ab	59.6±0.9bcde
YF	157.5±5.6cde	82.1±1.3abc	73.3±0.6ab	62.9±1.1a
SY	150.5±3.4de	87.9±1.8ab	79.5±2.1a	58.6±0.8cde
YS	146.5±14.0e	84.3±4.0abc	75.2±3.9ab	58.6±0.5cde
Means	157.6±11.3	76.4±12.2	69.0±10.9	60.3±2.1

Values are mean±standard deviation.

The different letters of superscript within the column significantly differ ($P < 0.05$).

교배 조합별 일계산란율(Hen-day egg production)은 25주령부터 검정종료일까지 연 생존수수에 대한 총 산란수의 비율을, 산란지수(Hen-housed egg production)는 동일 시기의 총 산란수를 25주 생존 수수로 나눈 수치이다. 각 교배 조합별 산란곡선은 Fig. 3과 같다. 전체 계군의 평균산란율은 69%이고, 산란지수는 76.4개로서 SF 및 SY구가 79%정도로 가장 높은 산란율을

보이고 HH, FF, HF 및 FH의 고 체중구가 56%이하의 낮은 산란 능력을 나타내었다. 또한 전체 계군의 피크산란시기는 34주령으로 평균 77.4%의 산란율을 보이고 교배 조합에 따른 다소의 차이는 있으나 대부분 32주령부터 35주령에 산란 피크를 나타내고 있다. 산란형 원종계 간 교잡구와 산란형×산육형 간 교잡구의 산란율은 비슷한 경향을 보이면서 산육형 원종계 간 교잡구에 비해 월등히 높은 산란율을 나타내었다. 교배 조합간 일계산란율과 산란지수의 결과는 거의 비슷한 경향을 나타내었다. Choi et al. (2017a)은 (주)한협원종이 보유한 동일 원종계 간 교잡시험에서 25주~40주까지 교배조합 전체의 평균 일계산란율(Hen-day egg production)은 56.7%이고, 산란지수는 69.2개로 보고하였고, 교배조합 간의 산란 성적은 본 연구 결과와 거의 비슷한 경향을 나타내었다. 검정계의 조합별 난중은 32주령에 산란한 달걀의 평균 난중으로 전체 교배조합의 평균 난중은 60.3g이었고, 조합별로 YF구가 62.9g으로 가장 무거웠으며, SS구가 57.3g으로 가장 가벼웠다. 전반적으로 산육형 조합구가 산란형 조합구에 비해 난중이 무거운 것으로 나타났고, 교잡구가 순계구에 비해 평균 1g 정도 무거운 것으로 나타났다.

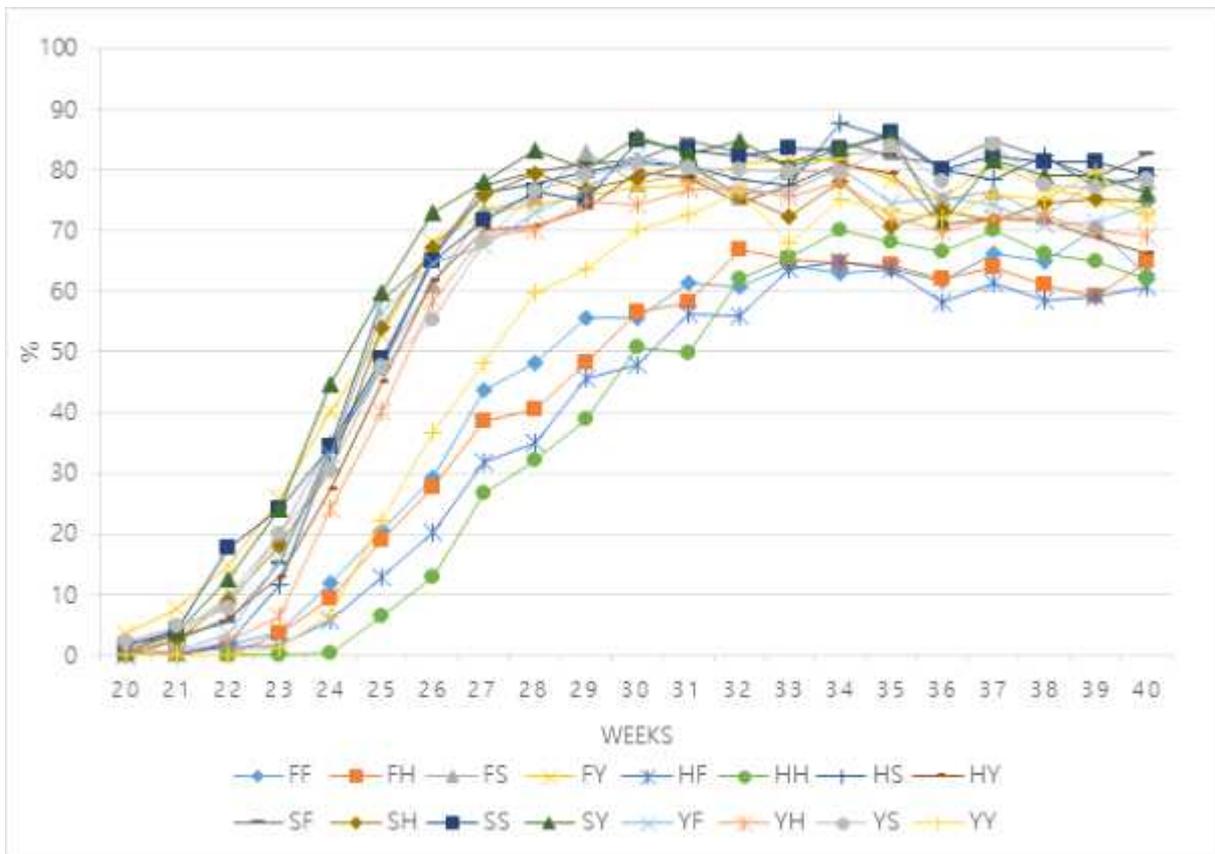


Fig. 3. Egg production curve of Korean native chicken parent stock combinations

(5) 조합가를 이용한 종계 선발

(가) 결합능력 추정

교배조합 간 생존율의 일반결합능력, 특정결합능력 및 상반교잡효과를 추정하여 Table 6에 제시하였다. 분석 결과 생존율의 경우 HY 및 FH 조합이 상대적으로 높은 조합가를 보였는데 HY의 경우 H와 Y계통 간 특정결합능력이, FH의 경우 F 및 H의 일반결합능력이 우수한데 기인한 것으로 나타났다. 생존율의 일반결합능력은 F와 H계통은 positive(+) 값을, S와 Y는

negative(-) 값을 나타내었고 반면 이들 간 교배조합의 특정결합능력은 대부분 positive(+) 값을 보임으로 생존율에는 비 상가적 유전 효과가 크게 작용하는 것으로 나타났다. 조합별 12주령 체중에 대한 일반결합능력, 특정결합능력, 조합가 및 상반교잡효과를 Table 7에 제시하였다. 분석 결과, 12주령 체중의 교배 조합별 조합가는 계통별 일반결합능력이 두 계통 간의 특정결합능력보다 크게 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이는 체중에 대한 유전적 효과는 상가적 유전 효과가 크게 작용하는 것을 의미하는 것으로 교배조합을 구성할 때 각 계통의 체중에 대한 유전적 특성이 더욱 중요하다. 산육형 원종계(F, H)의 일반결합능력이 산란형 원종계(Y, S)보다 2배 이상 높은 값을 보임으로 F와 H 간의 조합에서 가장 높은 조합가가 추정되었다. 특정결합능력은 H와 S 간의 조합 및 F와 Y 간의 조합에서 상대적으로 높게 나타났다. 반면, 암수 상반 교잡의 효과는 거의 영향이 없는 것으로 나타났다. Table 8은 교배 조합별 산란율의 일반결합능력, 특정결합능력, 조합가 및 상반교잡효과를 분석하여 제시한 결과이다. 산란율은 일반결합능력의 추정 범위나 특정결합능력의 추정 범위가 거의 비슷한 값을 나타내고 있는데, 이는 산란율에 대한 유전 양상은 상가적 유전 효과나 비 상가적 유전 효과가 거의 비슷하게 작용함을 의미한다. 산란형 원종계(Y, S)가 산육형 원종계(F, H)보다 월등히 높은 일반결합능력 값을 보인 반면 교배 조합간 특정결합능력은 H와 S간의 조합 및 F와 Y간의 조합에서 높게 나타났다. 또한 상반교잡효과는 대부분 S와 Y를 모(母)로 사용하였을 때 자손들의 산란능력이 상대적으로 높은 것으로 나타났다. 이상의 결과는 Choi et al. (2017b)이 한협 토종닭 원종계를 이용한 5×5 이면교잡 시험에서 대부분의 생산 형질에 있어 산육형 계통 간의 조합 및 산란형 계통 간의 조합에서 부(-)의 특정결합능력이, 산육형과 산란형 계통 간에는 모두 양(+)의 특정결합능력이 추정된 것과 거의 일치되는 양상이다.

Table 6. The combining abilities and mean values of survival rate in a 4×4 diallel crosses of Korean native chicken strains

Crossing(♂×♀)	GCAx1	GCAy1	SCAxy2	Mean value3	RE4
HF	2.8	2.1	-0.5	4.4	0
FH	2.1	2.8	-0.5	4.4	0.8
HS	2.8	-1.6	0.3	1.5	1.8
SH	-1.6	2.8	0.3	1.5	0
HY	2.8	-3.3	5.9	5.4	0
YH	-3.3	2.8	5.9	5.4	1.7
FS	2.1	-1.6	3.0	3.5	0.2
SF	-1.6	2.1	3.0	3.5	0
FY	2.1	-3.3	3.3	2.1	1.7
YF	-3.3	2.1	3.3	2.1	0
SY	-1.6	-3.3	0.1	-4.8	1.8
YS	-3.3	-1.6	0.1	-4.8	0
P-values	0.1888	0.1888	0.3639		0.9955

1 General combining ability, 2 Specific combining ability, 3 $M_{xy} = GCA_x + GCA_y + SCA_{xy}$, 4 Reciprocal effects.

Table 7. The combining abilities and mean values of body weight at 12 weeks in a 4×4

diallel crosses of Korean native chicken strains

Crossing(♂×♀)	GCAx1	GCAy1	SCAxy2	Mean value3	RE4
HF	146.5	129.8	-14.4	261.9	10.5
FH	129.8	146.5	-14.4	261.9	0
HS	146.5	-146.9	14.5	14.1	0
SH	-146.9	146.5	14.5	14.1	47.2
HY	146.5	-129.4	-0.1	17.0	0
YH	-129.4	146.5	-0.1	17.0	4.6
FS	129.8	-146.9	-0.1	-17.2	0
SF	-146.9	129.8	-0.1	-17.2	32.4
FY	129.8	-129.4	14.5	14.9	0
YF	-129.4	129.8	14.5	14.9	19.2
SY	-146.9	-129.4	-14.4	-290.7	0
YS	-129.4	-146.9	-14.4	-290.7	7.9
P-values	0.0244	0.0244	0.9739		0.9997

1 General combining ability, 2 Specific combining ability, 3 $M_{xy} = GCA_x + GCA_y + SCA_{xy}$, 4 Reciprocal effects.

Table 8. The combining abilities and mean values of hen-day egg production in a 4×4 diallel crosses of Korean native chicken strains

Crossing(♂×♀)	GCAx1	GCAy1	SCAxy2	Mean value3	RE4
HF	-5.9	-3.6	-3.9	-13.4	0
FH	-3.6	-5.9	-3.9	-13.4	0.5
HS	-5.9	5.8	4.9	4.8	1.1
SH	5.8	-5.9	4.9	4.8	0
HY	-5.9	3.7	3.8	1.6	0.9
YH	3.7	-5.9	3.8	1.6	0
FS	-3.6	5.8	2.6	4.8	0.9
SF	5.8	-3.6	2.6	4.8	0
FY	-3.6	3.7	4.9	5.0	2.7
YF	3.7	-3.6	4.9	5.0	0
SY	5.8	3.7	-1.9	7.6	0.3
YS	3.7	5.8	-1.9	7.6	0
P-values	<0.0001	<0.0001	<0.0001		0.4355

1 General combining ability, 2 Specific combining ability, 3 $M_{xy} = GCA_x + GCA_y + SCA_{xy}$, 4 Reciprocal effects.

(나) 종계 선발

토종닭의 개량 목표는 육질이 뛰어나고 산육 능력이 우수한 육용형 닭으로 설정하고 있다.(Jin et al., 2017) 따라서 우수한 토종닭을 생산하기 위해서는 종계의 부 계통은 산육성 위주로, 모 계통은 산란성 위주로 선발하는 것이 바람직하다. 이상의 생산능력과 결합능력의 분석 결과를 바탕으로 본 시험에 공시된 총 16개의 교배조합 구 중 순종 구를 제외한 12개의 교배조합에서 부 계통은 고 체중으로 생존율이 양호한 조합을 선정하고, 모 계통은 산란능력이 우수한 조합 중 저 체중은 배제하고 선정하였다. 이러한 기준에 따라 신품종 토종닭 종계로써 부계는 체중이 우수하면서 상대적으로 생존율이 양호한 FH나 HF 조합을, 모계는 산란능력이 우수하며 적절한 체중을 지닌 FY, FS, HY 및 SY 조합을 선발하는 것이 우수한 토종닭(CC)을 생산할 수 있는 바람직한 종계 조합으로 판단된다.

2. 신품종 토종닭 생산을 위한 교배조합 검정시험

가. 재료 및 방법

(1) 공시동물 및 시험설계

본 시험에 이용한 종계(Parent Stock: PS)는 (주)한협원종이 보유한 원종계(Grandparent Stock: GPS)의 이면교배조합 시험에서 우수 종계로 선발한 부계 2개 계통(FH, HF)과 모계 5개 계통(SY, YS, FY, FS, HY)으로(Sohn et al., 2021), 이들 종계 간 교잡(2×5)으로 10개의 교배조합을 구성하고 시판 중인 한협-3호를 대조 구로 하여 생산된 자손 암수 총 837수에 대하여 생산능력을 검정하였다. 교배조합의 구성과 조합별 검정 수수는 Table 1과 같다.

(2) 사양관리

교배 조합별 자손들의 능력 검정은 경상국립대학교 종합농장 내 시험 계사에서 2017년 10월부터 2018년 1월까지 12주간 수행하였다. 공시계는 육성 전기(0~8주) 동안 강제 환기 및 자동 온도조절 시스템이 완비된 육추사에서 3단 2열 배터리형 케이지에 사육하였고(220cm²/1수), 육성 후기(9~12주) 동안은 종계사에서 2단 4열 케이지(580cm²/1수)에 사육하였다. 사료 급여는 검정계 모두 시중 육계 배합 사료로 자유 급여하고 발육 시기에 따라 초이, 전기 및 후기 사료를 급여하였다. 점등 관리는 전 기간 23L:1D로 하였고, 사양 기별 백신 접종은 한협 토종 닭 백신 프로그램에 따라 수행하였다. 그 밖의 사양 관리는 경상국립대학교 닭 사육관리지침에 따라 실시하였고, 시험에 관련된 닭의 관리 및 취급은 본 대학 동물실험윤리위원회(IACUC, No. 2018-7)의 승인을 얻은 후 규정에 따라 시행하였다.

Table 9. Korean native chicken crossbreeding combinations constructed by 2 × 5 parent stock crosses

♂ \ ♀	SY	YS	FY	FS	HY
FH	FHSY (46)	FHYS (23)	FHFY (88)	FHFS (119)	FHHY (67)
HF	HFSY (84)	HFYS (48)	HFFY (60)	HFFS (107)	HFHY (108)
Control	Hanhyub-3 (87)				

Brackets are number of chicks

(3) 조사항목

(가) 외모 형태

교배 조합별 12주령제 개체의 벃 모양과 깃털 색을 조사하고 조합별 우모색의 분포 빈도를 분석하였다.

(나) 생존율

조합별 생존율은 1일령부터 12주간 조사하였다. 생존율의 분석은 교배 조합별 입식 수 대비 생존 수수에 대한 백분율로 나타내었다.

(다) 체중

체중의 측정은 조합별 전 개체를 대상으로 발생 시부터 6주령까지는 1주 간격으로 측정하고

이후 12주령까지는 2주 간격으로 측정하였다.

(라) 사료 섭취량 및 사료요구율

개체별 사료 섭취량은 조합 구별 및 반복별 주간 총 섭취량으로 조사하였고, 사료요구율은 반복별 전체 사료 섭취량을 해당 구의 증체량으로 나눈 중량비로 나타내었다.

(4) 분석 방법

교배 조합별 생산능력 측정값에 대한 통계분석은 SAS 통계 패키지(SAS Institute Inc. Cary, NC, USA)의 one-way ANOVA procedure를 이용하여 다음과 같은 모형으로 처리값 간의 차이에 대한 유의성 유무를 검정하였다.

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

여기서,

X_{ij} = 각 관측 값

μ = 전체의 평균

α_i = i 번째 조합의 효과

e_{ij} = i 번째 조합의 j 번째 개체의 임의의 잔여 효과

측정치의 유의적 차이가 인정되는 경우 각 조합 간 평균값의 비교는 Tukey's HSD 검정 방법으로 분석하였고, 조합별 일령에 따른 체중의 회귀함수는 동일 패키지의 regression procedure를 이용하여 추정하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 외모 형태

모든 검정 개체의 빛 모양은 흘벳으로 나타났다. 검정 개체들의 깃털 색은 조합 간 별다른 특징적인 차이가 없이 대부분 적갈색, 흑갈색 및 흑갈색과 적갈색의 혼합 양상을 나타내었다. 12주령 검정 개체들의 대표적인 깃털 색의 양상은 Fig. 1과 같고, 각 교배 조합별 깃털 색의 분포 빈도는 Table 2에 제시된 바와 같다. 조합별 깃털 색의 분포 빈도 분석 결과, 부계통으로 사용된 2개 계통에서 FH를 부계로 사용한 교배조합의 자손들은 흑갈색이 많지만, HF를 부계로 사용한 교배조합은 적갈색이 많아 HF 자손들이 FH 자손들과 비교하여 상대적으로 밝은 깃털 색의 양상을 나타내었다.



Fig. 1. The representative feather colors of Korean native crossbred commercial chickens

Table 2. Distribution frequency of feather colors of Korean native chickens according to crossbreeding combinations

Crossbred combination	Reddish brown	Dark brown	Mixed color of dark and reddish brown
FHSY	0.48	0.35	0.17
FHYS	0.13	0.09	0.78
FHFY	0	0.39	0.46
FHFS	0.08	0.23	0.68
FHHY	0.11	0	0.89
HFSY	0.73	0	0.27
HFYS	0.48	0	0.52
HFFY	0.32	0	0.68
HFFS	0.60	0.06	0.35
HFHY	0.58	0.06	0.36
Hanhyub	0.30	0.09	0.62

(2) 육성율

교배 조합별 입식 대비 12주령까지의 생존율을 Fig. 2에 제시하였다. 분석 결과, 전체 검정계의 평균 생존율은 93.1%로 각 교배 조합별로는 HFYS 조합 구가 97.9%로 가장 높은 생존율을 나타내었고 대조 구인 한협-3호가 75.3%로 가장 낮은 생존율을 나타내었다. 교배 조합별 육성률에 있어, HF를 부계로 이용한 조합들의 평균 생존율은 97.1%이고, FH를 부계로 이용한 조합 구는 92.6%로 HF 부계 자손들이 FH 부계 자손들보다 상대적으로 우수한 육성률을 보였다. 반면 5개의 모계 계통 자손들 간의 생존율 차이는 없는 것으로 나타났다. 이는 이들 종계의 육성기 생존율에서 HF는 94.9%이고, FH는 89.9%로 HF 종계가 FH 종계에 비해 우수하였는데(Sohn et al., 2021) 이러한 유전적 특성이 자손에 그대로 반영된 결과로 사료된다. 한편, 신품종 토종닭 생산을 위해 선정된 10개의 교배조합 자손들의 평균 생존율은 94.9%로서 조합 간 차이는 없는 것으로 나타났으나 대조 구인 한협-3호의 75.3%와는 유의한 차이를 보였다 ($P < 0.01$). 특히 육성 전기(0~8주) 때 교배조합 자손들의 평균 생존율은 98.5%인데 비해 한협-3호는 82.9%로 초기 병아리의 강건성에 큰 차이가 있는 것으로 나타났다. 토종닭의 육성률 연구로서 Shin et al. (2017)은 본 검정계와 유사한 토종닭 교배조합 시험에서 12주령까지의 육성률을 73~88%라고 보고하였고, 토착 육용종, 토착 겸용종 및 한국 재래종을 이용한 이원 교배조합 시험에서 자손들의 육성률은 76~92%(Kang et al., 2012), 삼원교배조합 시험에서는 84~91%(Park et al., 2010)라 하여 지금까지 보고된 토종닭의 육성률 보다 본 교배조합 시험계의 육성률이 훨씬 우수한 성적을 보였다.

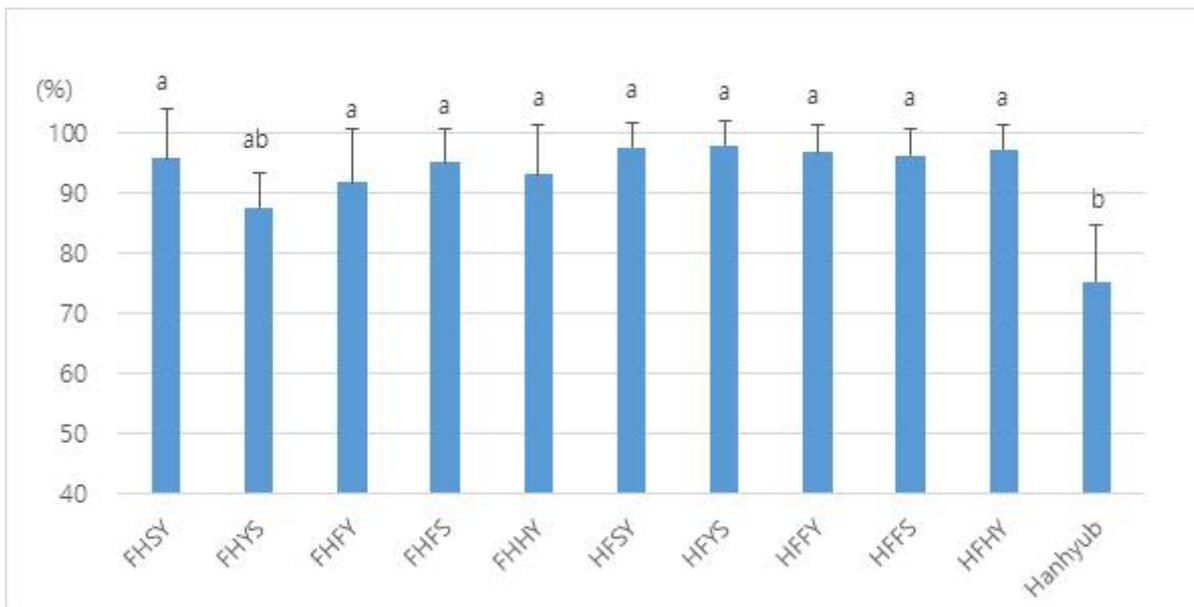


Fig. 2. Survival rates from hatching to 12 weeks in Korean native crossbred commercial chickens

(3) 체중

발생 후부터 12주령까지 교배 조합별 체중과 성장 양상을 Fig. 3에 제시하였다. 분석 결과, 모든 주령에서 교배조합 간 유의한 체중의 차이를 보이며($P < 0.01$) 검정계 전체의 평균 체중은 4주령에 626.2 g, 6주령에 1,118.9 g, 10주령에 2,095.5 g 및 12주령에 2,528.2 g으로 나타났다. 삼계 출하를 기준으로 6주령 체중의 경우 FHSY 구 및 한협-3호를 제외하고 모든 교배조합의

평균 체중이 1 kg을 넘었고, 육계 출하를 기준으로 10주령의 경우 FHSY, HFSY 구 및 한협-3호를 제외한 모든 조합에서 2 kg이 넘는 것으로 나타났다. 교배조합 중 SY 및 YS와의 교잡구는 전 기간 산육 능력이 저조한 것으로 나타났는데 이는 이들 계통의 유전적 특성이 산란성 위주이기 때문인 것으로 생각되고 이들 중 특히 HFYS는 10주령 이후 산육 능력이 매우 불량한 것으로 판단된다. Table 3은 교배 조합별 10주령 체중 측정 결과로서 FHHY 구가 2,300 g으로 가장 높았고, FHSY 구가 1,827 g으로 가장 낮았으며, FHFY 및 HFFY 조합 구도 상대적으로 우수한 성적을 나타내었다. 또한, 개체의 성장에 따라 암수 간 체중의 차이도 점진적으로 증가하는데 10주령을 기준으로 수컷은 2,334 g, 암컷은 1,876 g으로 암수 간에 무려 458g의 차이를 보였다. 상기 결과를 바탕으로 일령에 따른 체중 예측치를 회귀함수로 추정하여 각 교배 조합별 체중의 회귀방정식을 Table 4에 제시하였다. 본 회귀식에 따라 각 교배 조합별 출하 체중인 1.9 kg 도달 일령을 추정한 결과 FHHY 구가 60.3일로 가장 짧았고, FHSY 구가 73.2일로 가장 길었다. 상업용 토종닭인 한협-3호의 경우 1.9kg 도달 일령이 70일인데 반해 본 교배조합 중 FHFY, FHHY 및 HFFY 구의 시험계들은 61일 정도로 거의 9일 정도 단축된 결과를 보였다. 이는 본 검정계와 거의 동일한 토종닭 교배조합 시험에서 10주령 체중을 1,841~2,066 g으로 보고한 성적(Cha et al., 2016)과 1,900~2,016 g으로 보고한 성적(Shin et al., 2017)보다 높은 결과이고, 토착 육용종, 토착 겸용종 및 한국 재래종을 이용한 이원교배조합 시험에서 10주령 체중을 1,048~1,574 g이라 보고한 성적(Lee et al., 2013)보다는 월등히 우수한 결과이다.

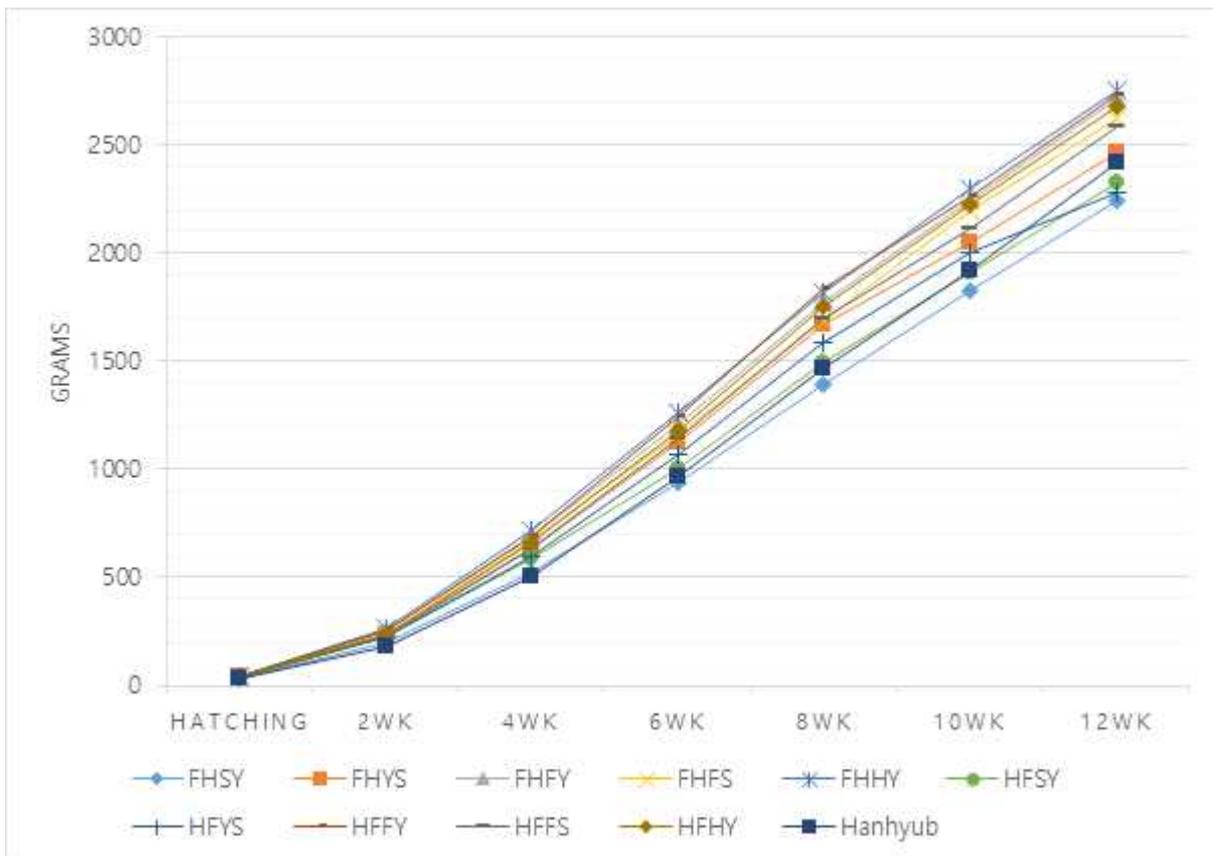


Fig. 3. Weight change in Korean native crossbred commercial chickens from hatching to 12 weeks

Table 3. Body weight and weight difference between male and female at 10 weeks in Korean native crossbred commercial chickens

Crossbred combination	Male (g)	Female (g)	Total (g)	Weight difference (g)
FHSY	2083.6±164.5cd	1570.4±156.5f	1827.0±304.2f	513.2
FHYS	2238.6±152bcd	1851.3±163.3bcde	2046.1±240.9bcde	387.3
FHFY	2496.1±246.6a	1970.2±184.7ab	2244.5±320.9a	525.9
FHFS	2416.7±316.3ab	1927.2±191.4abc	2192.9±335.6abc	489.5
FHHY	2533.0±224.4a	2029.0±251.0a	2299.8±314.1a	504
HFSY	2112.3±239.3cd	1697.3±149.5ef	1912.8±271.8ef	415
HFYS	2368.1±172.9ab	1780.1±144.8cde	2005.7±342.3cdef	588
HFFY	2443.7±356.5ab	2015.6±181.1a	2262.0±337.3a	428.1
HFFS	2312.4±240.6abc	1883.8±184.4abcd	2115.1±275.2abcd	428.6
HFHY	2468.9±324.2ab	1940.8±191.4ab	2222.3±365.8ab	528.1
Hanhyub	2062.2±295.3d	1753.0±245.4de	1922.7±278.0def	309.2
Mean	2333.6±313.6	1875.8±226.4	2095.5±354.5	457.8

Values are mean±standard deviation.

The different letters of superscript within the column significantly differ ($P < 0.01$).

Table 4. Estimation of regression equations of the body weights (Y) on the chicks age (X) for Korean native crossbred commercial chickens

Crossbred combination	Regression equation	R-square	Estimated days to reach	
			850 g	1.9 kg
FHSY	$Y = 0.1070X^2 + 18.5378X - 30.8137$	0.9238	38.8	73.2
FHYS	$Y = 0.0599X^2 + 25.6601X - 59.6423$	0.9514	32.9	66.2
FHFY	$Y = 0.0851X^2 + 26.4910X - 60.7490$	0.9432	31.2	61.7
FHFS	$Y = 0.0860X^2 + 25.3170X - 55.7389$	0.9330	32.2	63.5
FHHY	$Y = 0.0683X^2 + 28.4267X - 64.2089$	0.9449	30.0	60.3
HFSY	$Y = 0.0854X^2 + 21.4391X - 36.1188$	0.9384	36.1	70.5
HFYS	$Y = 0.0366X^2 + 25.8779X - 68.3091$	0.8919	33.9	69.3
HFFY	$Y = 0.0684X^2 + 28.3265X - 73.0575$	0.9339	30.4	60.7
HFFS	$Y = 0.0850X^2 + 24.8727X - 59.4198$	0.9512	32.9	64.5
HFHY	$Y = 0.0886X^2 + 25.9014X - 64.3363$	0.9313	31.8	62.5
Hanhyub	$Y = 0.1432X^2 + 17.6701X - 39.3714$	0.9467	38.4	70.0

X: Chicken age (days)

Y: Predicted values of body weight (g)

(4) 사료 섭취량 및 사료요구율

교배 조합별 발생 후부터 12주령까지의 사료 섭취량을 Table 5에 제시하였다. 전체 검정계의 1일 평균 사료 섭취량은 4~6주령에 80.5 g, 8~10주령은 106.8 g, 10~12주령은 126.7 g을 섭취하는 것으로 나타났다. 교배조합 간 사료 섭취량은 발생 후 4주령까지와 10~12주령에 유의적 차이가 있었고 그 밖의 모든 사육 기간에는 조합 간 차이가 없는 것으로 나타났다($P<0.05$). 체중 측정 결과, 상대적으로 낮은 체중을 보였던 YS와 SY를 모 계통으로 이용한 교배조합이 다른 교배조합들에 비해 낮은 사료 섭취량을 보였고, 사육 후기로 진행될수록 대조 구인 한협-3호의 사료 섭취량이 상대적으로 높은 것으로 나타났다. 교배조합 간 사육 기간별 사료요구율은 Table 6과 같다. 제시된 사료요구율은 증체량 대비 사료 섭취량으로서 분석 결과, 전체 평균 사료요구율은 6주령까지 2.00, 10주령까지 2.43 및 12주령까지 2.72로 나타났다. 발생 후 10주령까지의 사료요구율은 모든 사육 기별 교배조합 간 사료요구율의 차이는 없는 것으로 나타났으나 대조 구인 한협-3호는 모든 교잡시험 구보다 유의하게 높게 나타났다($P<0.01$). 한협-3호의 높은 사료요구율은 육성 초기에 상대적으로 낮은 증체량과 육성 후기에 높은 사료 섭취량에 기인된 결과로 보인다. 동일한 토종닭 교배조합 시험에서 Shin et al. (2017)은 12주령 1일 평균 사료 섭취량을 144.7~177.9 g으로, 발생 후 12주까지의 사료요구율을 2.86~3.09로 보고하였고, Cha et al. (2016)은 10주까지의 사료요구율을 2.41~2.70, 12주까지는 2.79~3.19로 보고하여 본 시험보다 높은 사료 섭취량과 사료요구율을 나타내었다. 또한 본 성적은 토착 육용종, 토착 겸용종 및 한국 재래종을 이용한 이원교배조합 시험에서 4주까지 사료요구율을 2.3~2.67, 8주까지 2.89~3.17 및 12주까지 3.64~3.8이라 보고한 성적(Kang et al., 2012)과 삼원교배조합 시험에서 5주까지 사료요구율을 2.09~2.30, 12주까지 2.87~3.20으로 보고한 성적보다 훨씬 양호한 결과이다.

Table 5. Average daily feed intake in Korean native crossbred commercial chickens

Cross combination	0-2wk	2-4wk	4-6wk	6-8wk	8-10wk	10-12wk
FHSY	18.9±0.7b	43.5±2.1cd	74.4±10.2	92.5±10.1	105.4±11.5	118.5±3.0b
FHYS	20.8±2.0ab	51.8±1.0ab	76.6±5.5	98.6±6.0	98.7±0.2	117.9±9.4b
FHFY	22.0±0.5a	54.4±2.0ab	84.3±7.5	103.5±6.2	107.4±7.4	123.6±10.8b
FHFS	21.8±0.3a	54.4±3.6ab	87.2±9.1	105.7±9.3	110.4±10.4	130.1±12.3ab
FHHY	21.9±0.5a	55.8±2.0a	86.6±8.8	103.5±9.0	110.7±6.6	129.4±11.0ab
HFSY	20.9±0.3ab	48.8±2.6bc	70.7±6.2	90.9±8.8	97.6±6.0	118.1±6.6b
HFYS	21.0±1.3ab	48.0±4.0bcd	74.6±5.6	98.2±8.7	106.9±3.9	117.8±4.7b
HFFY	22.1±1.6a	54.0±5.1ab	87.6±6.4	107.3±7.6	110.3±7.6	134.2±7.4ab
HFFS	21.7±1.7a	52.2±3.5ab	77.1±7.4	97.2±8.7	103.3±10.9	125.5±13.3b
HFHY	22.6±1.0a	53.9±2.3ab	80.6±5.9	104.4±7	109.6±6.4	132.5±9.1ab
Hanhyub	20.6±1.2ab	41.7±2.5d	73.3±11.2	100.4±12.4	111.2±8.8	148.9±19.7a
Mean	21.6±1.3	52.0±4.6	80.5±9.1	100.8±9.3	106.8±8.7	126.7±11.7

Values are mean±standard deviation.

The different letters of superscript within the column significantly differ ($P<0.05$).

Table 6. Feed conversion ratio in Korean native crossbred commercial chickens

Crossed combination	0-4wk	0-6wk	0-8wk	0-10wk	0-12wk
FHSY	1.79±0.07b	2.12±0.19b	2.37±0.21ab	2.56±0.19b	2.88±0.21
FHYS	1.71±0.07b	1.94±0.03 b	2.15±0.05b	2.39±0.03b	2.70±0.02
FHFY	1.67±0.06b	1.97±0.12b	2.19±0.13b	2.41±0.17b	2.64±0.15
FHFS	1.75±0.09b	2.09±0.15b	2.34±0.18ab	2.51±0.22b	2.86±0.20
FHHY	1.64±0.06b	1.92±0.15b	2.15±0.11b	2.37±0.11b	2.66±0.10
HFSY	1.77±0.09b	2.01±0.12b	2.19±0.16b	2.39±0.16b	2.71±0.21
HFYS	1.72±0.09b	1.95±0.09b	2.18±0.11b	2.39±0.13b	2.73±0.11
HFFY	1.66±0.16b	1.91±0.15b	2.12±0.10b	2.40±0.11b	2.69±0.09
HFFS	1.77±0.11b	1.96±0.12b	2.14±0.13b	2.38±0.12b	2.68±0.12
HFHY	1.72±0.05b	1.96±0.08b	2.13±0.05b	2.35±0.06b	2.67±0.08
Hanhyub	2.41±0.12a	2.58±0.01a	2.61±0.04a	2.97±0.03a	2.81±0.07
Mean	1.74±0.15	2.00±0.16	2.21±0.16	2.43±0.18	2.72±0.16

Values are mean±standard deviation.

The different letters of superscript within the column significantly differ ($P<0.01$).

(5) 신품종 토종닭의 선발

생산 능력이 뛰어난 새로운 품종의 토종닭을 선발하기 위하여 우수 종계를 선정하고 이들을 이용하여 교배조합을 조성한 후 조합별 자손들의 생산 능력을 비교 분석하였다. 토종 삼계는 850 g 출하를 기준으로 생산 능력을 비교하고, 토종닭은 1.9 kg 출하를 기준으로 비교 분석하였다. 분석 결과, 전체 교배조합 구에서 우모색의 변이는 다소 있으나 모두 갈색을 기본으로 한 유색 종으로 모색에 따른 조합 간 차이는 없는 것으로 나타났다. 교배 조합별 발생 후 12주령까지의 평균 생존율은 94.9%로서 조합 간 유의한 차이는 없었으며 대조 구인 한협-3호의 75.3%보다 월등히 높은 생존율을 보였다. 체중은 교배조합 간 주령별 유의한 차이를 보이는데 850 g 도달 일령이 FHHY가 30일, HFFY가 30.4일, FHFY가 31.2일 순으로 짧았으며, 1.9 kg 도달 일령 역시 동일 교배 구가 60~61일로 가장 짧았는데 반해 대조 구인 한협-3호는 각각 38.4일 및 70일로 선발 조합과 약 8~9일의 차이를 보였다. 사료요구율은 교배조합 간의 차이는 없었으나 한협-3호와는 유의한 차이를 보였다. 교배조합들 중 6주령까지 사료요구율은 HFFY가 1.91, 10주령까지는 HFHY가 2.35로 가장 양호하였는데 이는 한협-3호의 2.58 및 2.97과 비교하여 매우 우수한 성적이다. 이상과 같이 생존율, 체중 및 사료요구율을 기준으로 신품종 토종닭을 선발하였을 때 FHHY, FHFY 및 HFFY 교배조합 구가 삼계 및 토종닭 모두에서 가장 우수한 조합으로 판단된다. 본 조합으로 생산된 닭을 토종닭으로 이용할 경우 10주령을 기준으로 기존 한협-3호보다 18%의 체중 증가를 보이고, 사료요구율은 약 19%가 개선되는 것으로 나타났다. 그러나 모든 교배조합 구에서 성장이 진행됨에 따라 암수 간 체중의 차이가 커져 10주령 때 2.1 kg 기준 암수 간 약 458 g의 차이를 보임으로 암수 감별 및 분리 사육의 필요성이 요구된다. 또한, 교배조합 내 개체 간 체중의 변이 계수(coefficient of variance)가 다소 높게 분석되어(CV: 12~18) 생산 개체들의 균일도 향상을 위해 종계의 유전적 고정 작업이 더욱 진행하여야 할 것으로 사료된다.

3. 한국토종닭의 깃털 발육성 반성 유전자를 이용한 자가성감별 계통 조성

가. 재료 및 방법

(1) 공시동물 및 사양관리

본 연구에 이용된 한국토종닭 기초 계군은 경남과학기술대학교 종합농장에서 사육 중인 한국재래닭 적갈색종 557수를 대상으로 하였다. 시험계들은 본 대학 종합농장 내 부화사에서 자체 부화하여 발생한 개체로서 14주령까지 강제 환기와 자동 급이 및 자동온도조절시스템이 완비된 배터리형 케이지(660cm²/1수)에서 사육하고, 이후 40주령까지는 군사형 케이지(1,157cm²/수) 및 평사식 종계사(2,370cm²/1수)에서 암수 혼합 사육하였다. 사료 급여는 사육단계별로 어린병아리, 중병아리, 산란전기, 산란초기 및 산란중기로 나누어 상업용 시판 사료로 자유 급여하였다. 점등관리는 점감점증법으로 발생 후 16주령까지 점감하고, 이후 26주령까지 점증 후 사육 종료 때까지 16시간으로 고정하였다. 백신접종 등 그 밖의 일반 닭 사양관리는 경남과학기술대학교 닭 사육관리 지침에 따라 이루어졌고, 시험에 관련된 닭의 관리 및 취급은 본 대학 동물실험윤리위원회(IACUC)의 승인을 득한 후 규정을 준수하여 시행하였다.

(2) 조우성과 만우성 개체 식별

(가) 깃털 형태에 따른 조우성과 만우성 식별

깃털 형태에 의한 조만성 식별은 부화 직후 날개깃의 형태로써 감별하였다. 식별 방법은 Bang et al.(2018)이 제시한 병아리의 깃털 발생 양상을 기준으로 날개깃의 주익우(primary)와 부익우(coverts)의 형태와 길이의 차이로 구분하였다. 주익우가 평균 13mm 정도로 길고 부익우의 길이가 주익우의 절반 정도인 개체를 조우성으로 분류하고, 주익우가 8mm 정도로 짧고 주익우와 부익우의 길이 차이가 거의 없는 개체는 만우성으로 분류하였다.

(나) 분자유전학적 기법을 이용한 조만성 식별

조우성 개체와 만우성 개체의 식별을 위한 분자생물학적 검증으로 만우성 특이 DNA primer를 이용하여 PCR을 수행하였다. 시료로 사용할 genomic DNA는 혈액으로부터 추출하였고, 만우성 특이 DNA primer는 Iraqi and Smith(1994)가 제시한 JFIL-1 유전자의 일부 영역을 대상으로 제작하였다. PCR은 TaKaRa Taq™ kit(Takara, Kyoto, Japan)를 이용하여 10× buffer 2.5 μl, dNTP 2 μl, Taq polymerase(0.5 unit/μl) 2 μl, primer 4 μl (forward 2 μl, reverse 2 μl)과 genomic DNA 3 μl (100ng/μl), ddH₂O 11.5 μl를 넣어 총량이 25 μl이 되도록 혼합한 후 PCR machine(Takara, Kyoto, Japan)으로 증폭시켰다. PCR 반응 조건은 95℃에서 5분간 최초 변성시키고, 95℃에서 1분간 변성, 56℃에서 1분간 접합, 72℃에서 2분간 신장하는 3단계의 과정을 30회 반복한 후 72℃에서 15분간 마지막 신장 과정을 실시하였다. 반응물은 1.5% agarose gel에서 125V로 15분간 전기영동한 후 만우성유전자의 band 유무를 관찰하였다.

(3) 조우성과 만우성 개체의 생산능력 조사

조우성과 만우성 개체 간 생산능력의 비교는 생존율, 체중, 초산일령, 산란율 및 난중에 대해서 발생 이후 40주령까지 각 형질을 측정하고 비교 분석하였다. 생존율은 조우성과 만우성의 식별이 끝난 2주령부터 40주령까지 시험개시일의 개체 수에 대한 생존 수수의 비율로 나타내었다.

체중은 부화 직후부터 10주령 단위로 개체별 체중을 측정하였다. 초산일령은 각 계군의 산란율이 5%에 도달하는 날을 기준으로 산출하였고, 산란율은 21주령부터 40주령까지 주령별 생존수수 대비 총 산란수의 비율로 일계산란율(hen-day egg production)을 산출하였다. 난중은 계군별로 150일령 및 270일령에 생산한 달걀 전수를 대상으로 무게를 측정하였다.

(4) 만우성 개체의 유전자형 식별을 위한 검정교배

만우성 수컷 개체가 동형접합체(KK)인지 이형접합체(Kk)인지를 알기 위하여 열성인 조우성 암컷 개체(k-)와 검정교배를 수행하였다. 검정 대상은 만우성 수컷 40수로 이들의 유전자형을 확인하기 위하여 수컷 1수당 조우성 암컷 6수를 교배 시키고 이들로부터 생산된 자손들의 조우성과 만우성의 분포 비율을 조사하였다.

(5) 깃털 자가성감별의 유효성 검정

병아리의 깃털 감별을 위해 모계는 만우성(ZKW)으로 하고, 부계는 조우성(ZkZk)으로 하였을 때 생산되는 수평아리는 만우성, 암평아리는 조우성이 된다. 따라서 이와 같은 이론적 감별의 유효성을 확인하기 위하여 조우성(♂) × 만우성(♀) 뿐만 아니라 만우성(♂) × 만우성(♀), 조우성(♂) × 조우성(♀) 및 만우성(♂) × 조우성(♀)의 교배조합을 조성하고 이들로부터 생산된 총 613수의 병아리에 대하여 깃털 조만성 양상을 검정하였다.

(6) 통계분석

조우성과 만우성의 개체 간의 생산능력 분석은 SAS 통계 패키지(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 t-test로 평균값 간의 유의성을 검정하였고, chi-square test를 이용하여 교배체계에 따른 자손의 조만우성 비율에 대한 이론치와 관측치 간의 유의성을 검정하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 기초 집단 내 조우성과 만우성 개체의 분포 양상 및 유전자 빈도

한국재래닭 적갈색종 557수를 대상으로 기초 집단 내 깃털 형태에 따른 조우성과 만우성 개체를 식별하였고(Fig. 1), 조우성과 만우성 개체의 분포 현황과 유전자 및 유전자형 빈도를 추정하여 이의 결과를 Table 1에 제시하였다. 조사 결과, 본 집단 내 조우성 개체가 429수(77%), 만우성 개체가 128수(23%)로 확인되어 만우성 보다 조우성 개체의 빈도가 높게 나타났다. 또한 본 집단이 Hardy-Weinberg 평형상태에 있다는 가정하에 유전자 빈도를 추정한 결과 수컷의 조우성유전자(k) 빈도는 0.784, 만우성유전자(K) 빈도는 0.216으로 추정된 반면 암컷에서는 조우성유전자 빈도가 0.824, 만우성유전자 빈도가 0.176으로 추정되어 수컷 집단 내 만우성유전자 빈도가 암컷 집단에 비해 다소 높게 나타났다. 이를 토대로 본 집단 내 전체 조만성유전자 빈도를 계산한 결과 조우성유전자(k)의 빈도는 0.814, 만우성유전자(K)의 빈도는 0.186으로 추정되었다. 국내에서 사육하는 품종들의 집단 내 깃털 조만성의 분포 양상과 유전자 빈도에 관한 연구에서 Sohn et al.(2012)은 국가 보존 유전자원 토종닭 10품종을 대상으로 깃털 조만성의 분포 양상을 조사한 결과 토종 흑색코니시종, 토종 로드아일랜드레드종 및 한국재래닭 적갈색종에만 조우성과 만우성 개체들이 혼재되어 있고, 토종 갈색코니시종, 백색레그혼종, 오골종, 재래황갈종, 재래회색종, 재래백색종 및 재래흑색종은 집단 내 조우성 개체만 존재한다고 보고

하였다. 더불어 한국재래닭 적갈색종의 집단 내 조우성유전자 빈도는 0.856~0.871, 만우성유전자 빈도는 0.129~0.144로 보고하였다. 또한 Bang et al.(2018)은 (주)한협원종이 보유한 토종 종계로부터 생산된 실용 토종닭 병아리 856수를 대상으로 깃털 조만성 분석 결과, 조우성이 744수이고, 만우성이 112수로 나타나 이들의 종계 집단 내 조우성과 만우성유전자가 함께 있음을 제시하였다. 이처럼 집단 내 조우성과 만우성 개체의 빈도는 품종에 따라 큰 차이를 보이고 있고 조우성과 만우성 개체가 함께 존재하는 계군의 집단은 많지 않은 것으로 나타났다. 깃털 자가성감별 계통 조성을 위해서는 반드시 집단 내 조우성과 만우성유전자가 혼재되어 있어야 하고 이들 유전자의 분포 빈도가 일정 수준은 유지되어야 한다. 따라서 본 연구의 한국재래닭 적갈색종 기초 집단의 경우 조우성과 만우성 개체가 함께 있고, 조우성과 만우성 유전자 빈도 또한 깃털 자가성감별 계통 조성을 위한 가능한 빈도로 나타났다.



Fig. 1. Wing feather pattern of early-feathering chick (a) and late-feathering chick (b) at one-day old.

Table 1. Distribution of early- and late-feathering chickens and genotype frequency of feathering gene in fundamental Korean native chicken population

		Male	Female
Phenotype distribution	Total number of chicks	143	414
	No. of early-feathering chicks	88	341
	No. of late-feathering chicks	55	73
Genotype frequency	<i>KK</i>	0.047	
	<i>Kk</i>	0.338	
	<i>kk</i>	0.615	
	<i>K-</i>		0.176
Gene frequency	<i>k-</i>		0.824
	<i>K</i>		0.186
	<i>k</i>		0.814

(2) 깃털 자가성감별을 위한 종계 계통 조성

조우성과 만우성유전자를 이용하여 병아리의 자가성감별을 하기 위해서 모계는 만우성 (ZKW)으로, 부계는 조우성 (ZkZk)으로 고정되어야 한다. 따라서 자가성감별을 위한 종계의 모계통 조성을 위한 원종계의 교배조합은 ZKZK × ZKW로 하는 것이 바람직하다. 그러므로

모계통의 조성을 위해 만우성 유전자를 동형접합체(KK)로 가진 수컷의 선발이 필수적 요소이다. 우성 형질에 있어 특정 개체가 동형접합체를 가졌는지 이형접합체를 가졌는지는 열성동형접합체를 가진 개체와 검정교배하여 생산된 자손들의 형질 분리비로 쉽게 판별할 수 있다. 본 실험에서는 우성 형질인 만우성으로 확인된 한국재래닭 적갈색종 수컷 40수의 유전자형 검정을 위해 열성 형질인 조우성 암컷 개체와 수당 6수씩 검정 교배하여 생산된 자손들에 대한 조우성과 만우성의 분리비를 살펴보았다. 분석 결과, 자손 중 1마리라도 조우성 개체를 생산한 검정 수컷은 37수이고, 모두 만우성 자손만을 생산한 검정 수컷은 3수였다. 따라서 검정 수컷 중 조우성 자손이 한 마리도 생산되지 않은 3마리의 수컷을 만우성 동형접합체(ZKZK)를 가진 개체로 추정하였고, 나머지 37수는 이형접합체 형태의 만우성 개체(ZKZk)로 판단하였다. 이러한 검정교배로부터 생산된 총 420수의 자손에 대한 깃털 조만성의 발생 분포 양상은 Table 2와 같다.

Table 2. Number of chicks with feathering patterns which produced from crossing between homozygous(KK) and heterozygous(Kk) late-feathering paternal chickens and early-feathering(k-) maternal chickens

Crossings	EF progeny			LF progeny		
	♂	♀	Total	♂	♀	Total
Number of chicks						
♂ Heterozygous LF(ZKZk) × ♀ EF(ZkW)	62	56	118	119	135	254
♂ Homozygous LF(ZKZK) × ♀ EF(ZkW)	0	0	0	24	24	48

EF: early-feathering chicken, LF: late-feathering chicken

(3) 조우성과 만우성 종계의 생산능력 비교

조우성과 만우성 개체 간 생산능력의 차이는 자가성감별 계통을 조성하는 데 매우 중요한 요인으로 작용한다. 따라서 기초 집단 내 조우성 개체와 만우성 개체 간 생산능력을 비교하기 위하여 만우성 개체 128수와 조우성 개체 429수에 대한 생존율, 산육능력 및 산란능력을 비교 분석하였다. Table 3은 2주령부터 40주령까지 시험계들의 생존율을 나타낸 것으로 2~14주령까지 육성기와 15~40주령까지 산란기로 나누어 분석하였다. 분석 결과, 시험 전 기간 동안 조우성 집단이 만우성 집단에 비해 높은 생존율을 나타내었고, 특히 산란기 동안 두 집단 간 생존율의 유의한 차이를 보였다($P < 0.01$). 깃털의 조만성이 생존율에 미치는 영향에 대해서는 다양한 결과들을 제시하고 있는데 만우성 유전자는 ev21 유전자와 연관되어있으므로 leukosis virus의 감염에 취약하여 조우성 개체보다 생존율이 낮다고 하였다(Harris et al., 1984; Bacon et al., 1988; Smith and Fadly, 1994). 반면 깃털 조만성에 따른 마렉병의 감염율이나 폐사율의 차이는 없었으며, 브로일러에서도 조우성 개체와 만우성 개체 간 생존율의 차이는 없다고 하였다(Some and Jakowski, 1974; Lowe and Merkley, 1986). 한편 한국재래닭을 대상으로 깃털 조만성에 따른 생존율의 비교 연구에서 발생 이후 60주령까지 시험 전 기간에 걸쳐 조우성과 만우성 개체 간 생존율의 차이는 없다고 하였고(Sohn et al., 2013), 토종 종계에서는 암수 모두

만우성 집단이 조우성 집단보다 생존율이 우수하다고 보고하였다(Kim et al., 2019). 이와 같이 한국토종닭 집단에서 깃털 조만성이 생존율에 미치는 영향에 대해서는 각기 다른 결과들을 제시하고 있다. 따라서 생존율은 시험계들의 사양관리적 환경이 주된 영향을 미치는 것으로 생각되고 깃털 조만성에 의한 영향은 거의 없는 것으로 사료된다. 깃털 조만성에 따른 산육능력의 차이를 살펴보고자 조우성 개체와 만우성 개체들의 발생시, 10주령, 20주령, 30주령 및 40주령 체중을 측정하고 이들 간의 차이를 비교 분석하여 이의 결과를 Table 4에 제시하였다. 분석 결과, 시험 전 기간 동안 조우성 집단과 만우성 집단 간 수컷 체중의 차이는 없었고, 암컷은 발생 시 체중과 40주령 체중을 제외한 모든 주령에서 차이가 없었다. 깃털 조만성이 산육능력에 미치는 영향에 대한 보고에서 브로일러의 경우 조우성 개체들이 만우성 개체에 비해 빠른 성장과 높은 체중을 보인다고 보고(Dunnington and Siegel, 1986; Khosravinia, 2008)한 반면 만우성 개체의 성장 능력이 더 우수하다는 보고(Lowe and Merkley, 1986; Merkley and Lowe, 1988; Nahashon et al., 2004)도 있으며, 산육능력과 깃털 조만성 간에 관련이 없다는 보고도 있다(O'Sullivan et al., 1991; Fotsa et al., 2001). 한국재래닭의 경우 발생 후 60주령까지 모든 주령에서 조우성 개체와 만우성 개체 간 체중의 차이는 없는 것으로 보고하였고(Sohn et al., 2013), 토종 종계에서도 사육 기간 전반에 걸쳐 조우성과 만우성 암수 모두 체중의 차이는 없다고 보고하였다(Kim et al., 2019). 따라서 본 결과와 더불어 한국재래닭에 있어 깃털의 조만성과 산육능력 간에는 거의 관련성이 없는 것으로 판단된다. 조우성 개체와 만우성 개체 간 산란능력을 비교하고자 초산일령, 난중 및 산란율을 조사하고 이의 결과를 Table 5에 제시하였다. 분석 결과, 초산일령은 조우성 집단이 만우성 집단보다 약 6일 정도 빠른 것으로 나타났으나 일계산란율은 만우성 집단이 조우성 집단보다 유의하게 높은 것으로 나타났다($P < 0.05$). 반면 150일령 및 270일령에 산란한 달걀의 무게는 두 집단 간 차이가 없는 것으로 나타났다. 산란계의 경우 조우성 개체가 만우성 개체보다 초산일령이 빠르고 산란능력이 우수하다고 보고하였고(Somes, 1970; Havenstein et al., 1989; Durmus et al., 2010; Goger et al., 2017), 검용종 또는 육용 종계의 경우는 깃털 조만성에 따른 산란능력의 차이는 없다고 하였다(Ledvinka et al., 2011, 2014; Mincheva et al., 2012). 한편 한국재래닭의 경우 조우성 개체들이 만우성 개체들에 비해 빠른 초산을 보이지만 조우성과 만우성 개체 간의 산란능력의 차이는 없다고 하였고(Sohn et al., 2013), 토종 종계의 경우 조우성과 만우성 개체 간 초산일령의 차이는 없었으나 만우성 개체들이 조우성 개체들 보다 산란율이 높았다고 보고하였다(Kim et al., 2019). 난중은 산란계에 있어 만우성 개체의 달걀이 조우성 개체의 달걀에 비해 다소 무거웠다고 하였으나(Lowe et al., 1965; Somes, 1970), 여러 검용종에서는 조만성 개체 간 난중의 차이는 없다고 하였다(Lowe and Garwood, 1981; Mincheva et al., 2012; Ledvinka et al., 2014; Goger et al., 2017). 한편, 한국재래닭 및 토종 종계에 있어서도 깃털 조만성에 따른 난중의 차이는 없다고 하였다(Sohn et al., 2013; Kim et al., 2019). 이와 같이 연구자에 따라 조우성과 만우성 개체 간 산란능력의 결과를 다소 달리 제시하고 있으나 한국재래닭의 경우 깃털 조만성에 따른 산란능력의 차이는 없거나 만우성 개체들이 조우성 개체보다 좀 더 우수한 것으로 나타났다. 한국토종닭에 있어 만우성 개체들의 산란능력이 조우성 개체에 비해 우수하다는 것은 자가성감별 모계통으로 만우성 개체를 이용하여야 하기 때문에 매우 바람직한 결과로 사료된다.

Table 3. Survival rates of early-feathering (EF) and late-feathering (LF) Korean native chickens

Feathering types	Growing period	Laying period	Total period
	(2-14wks)	(15-40wks)	(2-40wks)
		%	
EF chickens	100±0.0	97.7±1.3 ^a	98.6±2.3 ^a
LF chickens	99.2±0.4	94.1±3.2 ^b	94.5±4.9 ^b

a,bValues(Means±SD) with different superscript within the same column significantly differ (P<0.05)

Table 4. Body weights of early-feathering(EF) and late-feathering(LF) Korean native chickens

Sex	Feathering types	Hatching	10wks	20wks	30wks	40wks
		g				
Male	EF	35.5±3.5	986.4±125.0	1632.8±128.1	1992.2±130.9	2145.5±115.3
	LF	34.9±4.2	970.2±120.2	1599.0±224.2	1956.0±224.0	2018.0±182.8
Female	EF	34.3±3.4 ^b	834.2±104.9	1248.2±177.4	1513.3±182.0	1604.3±120.0 ^a
	LF	35.5±3.5 ^a	803.3±109.1	1263.3±172.2	1448.0±171.5	1534.5±115.0 ^b

a,bValues(Means±SD) with different superscript within the same column significantly differ (P<0.05)

Table 5. Egg production performance of early-feathering (EF) and late-feathering (LF) Korean native chickens

Feathering types	Age at first egg laying	Egg weight at		Hen-day egg production (20-40wks)
		150d	270d	
	day	g		%
EF chickens	140±0.2 ^b	35.3±2.2	52.0±4.4	35.6±12.5 ^b
LF chickens	146±2.1 ^a	35.1±2.9	51.2±4.1	44.1±10.9 ^a

a,bValues (Means±SD) with different superscript within the same column significantly differ (P<0.05)

(4) 깃털 자가성감별의 유효성 검정

깃털 조만성의 유전적 전이 양상을 살펴보고자 한국재래닭 적갈색종을 이용하여 깃털 양상에 따라 4가지 조합의 교배조합 검정시험을 실시하였다. 교배조합의 구성은 만우성 ♂ × 만우성 ♀, 조우성 ♂ × 조우성 ♀, 만우성 ♂ × 조우성 ♀ 및 조우성 ♂ × 만우성 ♀으로 하여 각 교배조합별 생산된 병아리의 깃털 조만성 양상을 확인하고 이들의 발생 수와 분포 빈도를 Table

6에 제시하였다. 시험 결과, 만우성 ♂ × 만우성 ♀의 경우 생산된 병아리 암수 모두에서 조우성과 만우성이 나타났다. 이는 만우성 수컷(ZKZK, ZKZk)과 만우성 암컷(ZKW) 간의 교잡에서 이론적으로 조우성 수컷 병아리(ZkZk)는 생산될 수 없는데 본 교잡 결과 3수의 조우성 수컷 병아리가 생산되어 이론치와 다른 양상을 보였다. 이러한 원인은 교잡 시험에 공시된 만우성 어미 중 최소 한 수 이상이 조우성이었기 때문으로 판단되는데 이는 종계의 조만성 구분 오류로 생각된다. 그러나 조우성 ♂ × 조우성 ♀의 경우는 교배 시험 결과 생산된 병아리가 모두 조우성 개체로 나타나 이론치와 100% 일치하는 결과를 보였다. 한편, 만우성 ♂ × 조우성 ♀의 경우 생산된 암수 병아리 모두에서 조우성과 만우성이 나타났고, 조만성 비율은 조우성이 36.2%, 만우성이 63.8%로 나타났다. 이는 이론적으로 만우성 수컷(ZKZK, ZKZk)과 조우성 암컷(ZkW) 간의 교잡에서 조우성 병아리와 만우성 병아리가 암수 모두 생산될 수 있고 병아리의 조만성의 분포 비율은 집단 내 만우성 유전자의 빈도에 따라 달라진다. 마지막으로 조우성 ♂ × 만우성 ♀의 경우는 깃털 자가성감별에 이용되는 교배조합으로 이론적으로 암평아리는 모두 조우성, 수평아리는 모두 만우성으로 생산된다. 본 실험 결과 만우성의 암평아리는 생산되지 않았지만 2수의 조우성 수컷이 생산되어 이론적 분리비와 다른 양상을 보였는데 이는 병아리의 조만성 깃털의 식별 오류로 PCR 검정 결과 확인되었다 (Fig. 2). 상기 교배조합 시험에 따른 자손의 조만성 전이 양상이 이론적인 분리비와 일치하는가를 카이제곱법(chi-square test)으로 검정하여 이의 적합도와 유효성을 Table 7에 제시하였다. Table 7에 제시된 기댓값은 집단 내 조우성과 만우성의 유전자 및 유전자 빈도(Table 1)를 근거로 계산된 값이다. 분석 결과, 모든 교배조합에서 관측치와 기대치 간의 유의적 차이가 없는 것으로 나타나 이론적 분리비와 실제 교배 검정에 따른 분리비가 일치한다고 보여진다($P > 0.05$). 특히 병아리의 깃털 자가성감별을 위해서는 조우성 ♂ × 만우성 ♀의 교배조합이 조성되어야 하고 이들로부터 생산된 수평아리는 모두 만우성이고 암평아리는 모두 조우성이어야 한다. 시험 결과 본 교배조합으로부터 생산된 총 140수의 병아리 중 수컷에서 2수의 오차가 발생하여 98.6%의 감별 일치율을 보였다. 따라서 한국재래닭 적갈색종을 이용하여 깃털 자가성감별 계통을 조성하였을 때 병아리의 깃털 조만성 형태로 암수 감별이 유효한 것으로 판단되어 이의 산업적 활용 가능성을 제시하는 바이다.

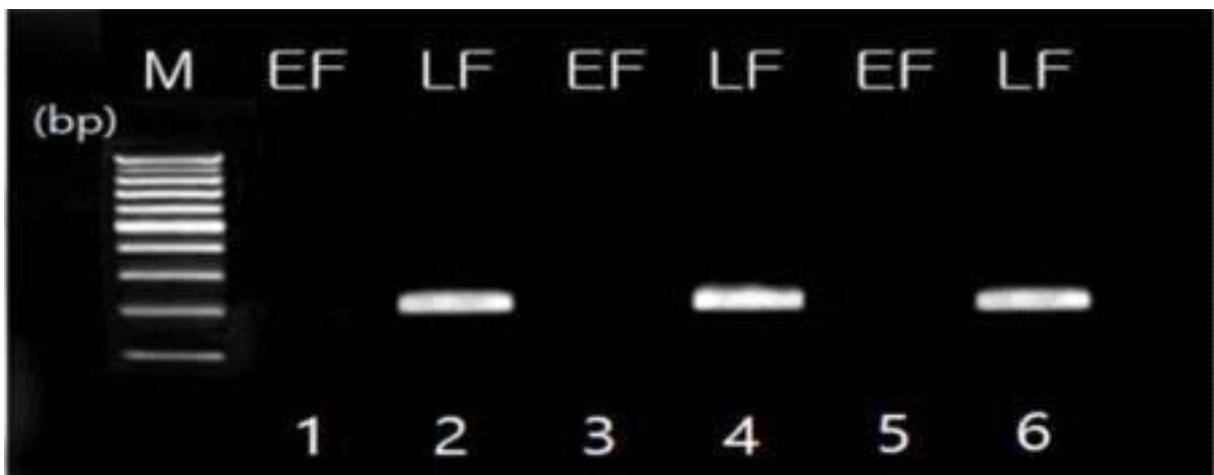


Fig. 2. The results of feathering types by polymerase chain reaction using the specific primer of late-feathering gene. M: 100 bp size marker, Lane 1, 3, 5: early-feathering chicken(EF), Lane 2, 4, 6: late-feathering chicken(LF)

Table 6. The incidence and frequency of offspring produced by parental mating combinations by feathering type

Parental mating combinations	No. of offspring	Male progeny		Female progeny	
		EF	LF	EF	LF
LF ♂ × LF ♀	126	3 (4.9%)	58 (95.1%)	21 (32.3%)	44 (67.7%)
EF ♂ × EF ♀	206	93 (100%)	0 (0%)	113 (100%)	0 (0%)
LF ♂ × EF ♀	141	19 (24.0%)	60 (76.0%)	32 (51.6%)	30 (48.4%)
EF ♂ × LF ♀	140	2 (2.7%)	74 (97.3%)	64 (100%)	0 (0%)

EF: early feathering chicken, LF: late feathering chicken Bracket is distribution percentage of EF and LF in each sex

Table 7. Chi-square values and probabilities of fitness for expected and observed values in progenies which produced by crossing of early-feathering chickens (EF) and late-feathering chickens (LF)

Parental mating combinations		Male progeny		Female progeny		χ ² -values	P-values
		EF	LF	EF	LF		
LF ♂ × LF ♀	Observed	3	58	21	44	4.9108	0.1785
	Expected	0	61	28	37		
EF ♂ × EF ♀	Observed	93	0	113	0	0.0000	1.0000
	Expected	93	0	113	0		
LF ♂ × EF ♀	Observed	19	60	32	30	7.6982	0.0527
	Expected	35	44	27	35		
EF ♂ × LF ♀	Observed	2	74	64	0	2.0267	0.3630
	Expected	0	76	64	0		

제 4절 토종 삼계 종자 개발을 위한 교배조합 및 생산체계 확립

1. GPS(원종계)단계 교배조합 능력검정

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 교배조합 시험 설계

1단계 검정 GPS 후보군으로 선발된 H, Y, F계통에 신규로 S계통을 추가하여 4×4 Diallel cross 16개 교배조합을 설계하고 병아리를 생산하였다. GPS 단계에서 능력 검정 교배조합구의 구성은 표 1과 같다.

표 1. GPS(원종계) 단계 능력검정 시험 교배조합구

모계 \ 부계	H	F	Y	S
H	HH	HF	HY	SH
F	FH	FF	FY	FS
Y	YH	YF	YY	YS
S	SH	SF	SY	SS

(2) 검정계의 사양관리

초생추(1-12주)의 사양 관리는 강제 환기 및 자동 온도 조절 시스템이 완비된 무창 계사 내 4단 1열 배터리형 케이지에 사육하였다(그림 1). 케이지 당(76×61×46cm) 12수씩 수용하여 밀사 스트레스를 최소화하였으며 교배조합에 영향 하는 환경 편차를 최소화하고자 동일 교배조합이 케이지 시설의 높이에 따라 고르게 분포되도록 관리하였다. 계사 내 온도는 처음 1주 동안은 32°C를 유지하였으며, 1주에 주에 2~3°C씩 온도를 내려주어 약 3주 후에는 일정 온도(약 24±2.5°C)로 고정하였다. 성계사로 이동 후 온도는 18±2°C를 유지하였다. 습도는 입추부터 1주령은 70%, 2주령은 65%, 이후로는 60%를 유지하였다. 사료급여는 전 교배조합이 2주간 배합 초생추 사료로 자유급이하고, 3주령부터 토종 육용 종계 권장급이량에 맞춰 제한 급이를 실시하였다(표 4). 점등 관리는 표 2와 같이 점감 점증하였다. 이 후 12주령에 성계사로 이송 후 4단 14열 배터리 케이지에(60×25×45cm) 4수씩을 수용하여 사양관리 하였으며 교배조합에 영향 하는 환경 편차를 최소화하고자 동일 교배조합이 케이지 시설의 높이에 따라 고르게 분포되도록 관리하였다(그림 2). 사양기별 백신 프로그램은 표 3과 같이 실시하였다. 기타 사양관리는 충남대학교 관행법에 준하여 수행하였다.

표 2. 육용종계 점등 프로그램

주령	광도(Lux)	점등시간	주령	광도(Lux)	점등시간
1	30	22	20	20	13:30
2	20	16	21	20	14:00
3	10	15	22	20	14:30
4~16	10	9:30	23	20	15:00
17	10	11	24	20	15:30
18	20	12	25	20	16:00
19	20	13	26주 이후	20	16:30

* 16주령까지 점감점등, 17주령부터 점증점등하여 최종 17시간 점등 고정 실시

표 3. 육용종계 백신 프로그램

일 령	백 신 명	방법	내 용	백 신 명
1	M D	피하	마력생독백신(HVT+CVI988)	마력생독백신
	N D	분무	뉴캐슬병 생독백신	애비뉴(메리알)
	Reo+ND+IBD+IB	피하	레오+뉴캐슬병+감보로병 +전염성기관지염 혼합백신	Ring(메리알)-0.3ml
2~4	예방처치		슈퍼티아(CTC+Tiamulin)+비타민, 전해질제재	
9	디비킹+계두	단침	계두생독백신	
10~12	예방처치		슈퍼티아(CTC+Tiamulin)+비타민, 전해질제재	
15	I B D	음수	감보로병 생독백신	
21	ND+IB	분무	뉴캐슬병+IB	LaSota+Mass II (삼지)
22~24	예방처치		슈퍼티아(CTC+Tiamulin)+비타민, 전해질제재	
25	I B D	음수	감보로병 생독백신	
31	ND+IB	분무	뉴캐슬병+IB	LaSota+Mass II (삼지)
32~34	예방처치		슈퍼티아(CTC+Tiamulin)+비타민, 전해질제재	
35	I B D	음수	감보로병 생독백신	
45	ILT, AE-P	점안, 쌍침	전염성후두기관염 생독백신, 닭 뇌척수염- 계두혼합백신	
59	ND+IB+AI+EDS	피하	뉴캐슬병+전염성기관지염 +AI+산란저하증	ABBNE(대성미생물)
86	ILT, 구충	점안	전염성후두기관염 생독백신	
100	A E	음수	닭 뇌척수염 생독백신	
105	항콕시딕액			
110~120	Reo+ND+IBD+IB & CIAV	근육	레오+뉴캐슬병+감보로병 +전염성기관지염 혼합백신, & 닭 전염성빈혈 생독백신	Ring(메리알)-0.5ml, CIAV(메리알)
140 (200, 260, 320)	ND+IB	분무	2달 간격 보강접종	
170	ND+IB+AI+EDS	근육	뉴캐슬병+전염성기관지염 +AI+산란저하증	ABBNE(대성미생물)

1st Floor	Pen 92 EXTRA	Pen 93 HS-1	Pen 94 HS-5	Pen 95 HH-1	Pen 96 HS-1	Pen 97 FS-5	Pen 98 FF-1	Pen 99 HY-1	Pen 100 HY-5	Pen 101 YH-1	Pen 102 SF-1	Pen 103 SF-5	Pen 104 YY-1
2nd Floor	Pen 79 EXTRA	Pen 80 HS-2	Pen 81 HH-5	Pen 82 HH-2	Pen 83 PS-2	Pen 84 FF-5	Pen 85 FF-2	Pen 86 HY-2	Pen 87 YH-5	Pen 88 YH-2	Pen 89 SF-2	Pen 90 YY-5	Pen 91 YY-2
3rd Floor	Pen 66 EXTRA	Pen 67 HS-3	Pen 68 HH-8	Pen 69 HH-3	Pen 70 PS-3	Pen 71 FF-6	Pen 72 FF-3	Pen 73 HY-3	Pen 74 YH-6	Pen 75 YH-3	Pen 76 SF-3	Pen 77 YY-6	Pen 78 YY-3
4th Floor	Pen 53 EXTRA	Pen 54 HS-4	Pen 55 HS-6	Pen 56 HH-4	Pen 57 HS-4	Pen 58 PS-8	Pen 59 FF-4	Pen 60 HY-4	Pen 61 HY-6	Pen 62 YH-4	Pen 63 SF-4	Pen 64 SF-6	Pen 65 YY-4
1st Floor	Pen 1 EXTRA	Pen 2 HF-1	Pen 3 HF-5	Pen 4 FY-1	Pen 5 YS-1	Pen 6 YS-5	Pen 7 SH-1	Pen 8 SS-1	Pen 9 SY-5	Pen 10 SY-1	Pen 11 YF-1	Pen 12 FH-5	Pen 13 FH-1
2nd Floor	Pen 14 EXTRA	Pen 15 HF-2	Pen 16 FY-5	Pen 17 FY-2	Pen 18 YS-2	Pen 19 SH-5	Pen 20 SH-2	Pen 21 SS-2	Pen 22 SS-5	Pen 23 SY-2	Pen 24 YF-2	Pen 25 YF-5	Pen 26 FH-2
3rd Floor	Pen 27 EXTRA	Pen 28 HF-3	Pen 29 FY-6	Pen 30 FY-2	Pen 31 YS-3	Pen 32 SH-6	Pen 33 SH-3	Pen 34 SS-3	Pen 35 SS-6	Pen 36 SY-3	Pen 37 YF-6	Pen 38 YF-6	Pen 39 FH-3
4th Floor	Pen 40 EXTRA	Pen 41 HF-4	Pen 42 HF-6	Pen 43 FY-4	Pen 44 YS-4	Pen 45 YS-6	Pen 46 SH-4	Pen 47 SS-4	Pen 48 SY-6	Pen 49 SY-4	Pen 50 YF-6	Pen 51 FH-6	Pen 52 FH-4

Spray System

Electronic Heater

F Group	240
S Group	240
H Group	240
Y Group	240
TOTAL	960

Hand Heater

Entrance

그림 1. 육용종계 육성사 배치도

1st Floor	Pen 16	Pen 15	Pen 14	Pen 13	Pen 12	Pen 11	Pen 10	Pen 9	Pen 8	Pen 7	Pen 6	Pen 5	Pen 4	Pen 3	Pen 2	Pen 1
2nd Floor	Pen 32	Pen 31	Pen 31	Pen 29	Pen 28	Pen 27	Pen 26	Pen 25	Pen 24	Pen 23	Pen 22	Pen 21	Pen 20	Pen 19	Pen 18	Pen 17
3rd Floor	Pen 48	Pen 47	Pen 47	Pen 45	Pen 44	Pen 43	Pen 42	Pen 41	Pen 40	Pen 39	Pen 38	Pen 37	Pen 36	Pen 35	Pen 34	Pen 33
4th Floor	Pen 64	Pen 63	Pen 63	Pen 61	Pen 60	Pen 59	Pen 58	Pen 57	Pen 56	Pen 55	Pen 54	Pen 53	Pen 52	Pen 51	Pen 50	Pen 49
1st Floor	Pen 80	Pen 79	Pen 78	Pen 77	Pen 76	Pen 75	Pen 74	Pen 73	Pen 72	Pen 71	Pen 70	Pen 69	Pen 68	Pen 67	Pen 66	Pen 65
2nd Floor	Pen 96	Pen 95	Pen 94	Pen 93	Pen 92	Pen 91	Pen 90	Pen 89	Pen 88	Pen 87	Pen 86	Pen 85	Pen 84	Pen 83	Pen 82	Pen 81
3rd Floor	Pen 112	Pen 111	Pen 110	Pen 109	Pen 108	Pen 107	Pen 106	Pen 105	Pen 104	Pen 103	Pen 102	Pen 101	Pen 100	Pen 99	Pen 98	Pen 97
4th Floor	Pen 128	Pen 127	Pen 126	Pen 125	Pen 124	Pen 123	Pen 122	Pen 121	Pen 120	Pen 119	Pen 118	Pen 117	Pen 116	Pen 115	Pen 114	Pen 113
1st Floor	Pen 144	Pen 143	Pen 142	Pen 141	Pen 140	Pen 139	Pen 138	Pen 137	Pen 136	Pen 135	Pen 134	Pen 133	Pen 132	Pen 131	Pen 130	Pen 129
2nd Floor	Pen 160	Pen 159	Pen 158	Pen 157	Pen 156	Pen 155	Pen 154	Pen 153	Pen 152	Pen 151	Pen 150	Pen 149	Pen 148	Pen 147	Pen 146	Pen 145
3rd Floor	Pen 176	Pen 175	Pen 174	Pen 173	Pen 172	Pen 171	Pen 170	Pen 169	Pen 168	Pen 167	Pen 166	Pen 165	Pen 164	Pen 163	Pen 162	Pen 161
4th Floor	Pen 192	Pen 191	Pen 190	Pen 189	Pen 188	Pen 187	Pen 186	Pen 185	Pen 184	Pen 183	Pen 182	Pen 181	Pen 180	Pen 179	Pen 178	Pen 177
1st Floor	Pen 208	Pen 207	Pen 206	Pen 205	Pen 204	Pen 203	Pen 202	Pen 201	Pen 200	Pen 199	Pen 198	Pen 197	Pen 196	Pen 195	Pen 194	Pen 193
2nd Floor	Pen 224	Pen 223	Pen 222	Pen 221	Pen 220	Pen 219	Pen 218	Pen 217	Pen 216	Pen 215	Pen 214	Pen 213	Pen 212	Pen 211	Pen 210	Pen 209
3rd Floor	Pen 240	Pen 239	Pen 238	Pen 237	Pen 236	Pen 235	Pen 234	Pen 233	Pen 232	Pen 231	Pen 230	Pen 229	Pen 228	Pen 227	Pen 226	Pen 225
4th Floor	Pen 256	Pen 255	Pen 254	Pen 253	Pen 252	Pen 251	Pen 250	Pen 249	Pen 248	Pen 247	Pen 246	Pen 245	Pen 244	Pen 243	Pen 242	Pen 241

그림 2. 육용종계 성계사 배치도

표 4. 토종 육용종계 권장 사료급여량

주령	체중-상위그룹 (암탉라인)		체중-중위그룹 (암탉라인)		체중-하위그룹 (암탉라인)		급여 사료명 (농협사료)
	권장 체중	권장 급여량	권장 체중	권장 급여량	권장 체중	권장 급여량	
1일령							
1	120	무제한	95	무제한급	75	무제한	육계 초이
2	220	급이	170	이	125	급이	
3	330	36.0	250	29	190	22	
4	450	40.0	350	34	270	28	어린 병아리
5	550	43.0	450	39	360	35	
6	650	45	550	43	465	40	
7	750	47	650	47	570	46	중병아리
8	850	49	750	50	680	50	
9	950	50	850	52	790	54	
10	1,050	52	950	54	900	56	큰병아리
11	1,150	54	1,050	56	1,000	58	
12	1,250	57	1,150	59	1,100	61	
13	1,350	59	1,250	61	1,190	63	산란예비
14	1,450	62	1,350	65	1,280	67	
15	1,550	66	1,450	68	1,370	70	
16	1,660	71	1,540	72	1,460	73	산란 전기
17	1,780	76	1,640	77	1,550	77	
18	1,900	83	1,750	82	1,640	81	
19	2,050	90	1,870	88	1,740	86	산란 피크
20	2,190	98	2,000	96	1,860	93	
21	2,340	104	2,150	102	1,980	100	
22	2,500	113	2,300	109	2,100	105	산란 전기
23	2,660	122	2,440	116	2,220	110	
24	2,820	131	2,570	123	2,320	115	
25	2,970	135	2,680	128	2,400	120	산란 전기
26	3,120	140	2,800	133	2,470	125	
27	3,240	145	2,880	135	2,520	130	
28	3,340	150	2,950	138	2,560	133	산란 전기
29	3,400	155	3,000	140	2,600	133	
30	3,430	158	3,020	140	2,620	132	
31	3,460	160	3,050	140	2,640	132	산란 전기
32	3,490	160	3,070	140	2,660	131	
33	3,510	158	3,090	140	2,680	131	
34	3,525	156	3,110	140	2,700	130	산란 전기
35	3,540	155	3,125	140	2,720	130	
36	3,555	154	3,140	139	2,740	129	
37	3,570	153	3,155	139	2,760	129	산란 전기
38	3,585	152	3,170	138	2,780	129	
39	3,600	151	3,185	138	2,800	129	
40	3,615	150	3,200	138	2,820	129	

표 5. 검정형질 측정 기준

검정 형질	검정기준
· 번식능력	
수정율	- 전체 종란에 대한 입란 비율
부화율	- 입란대비 및 수정대비 부화발생 비율
· 육성을 및 성계생존율(%)	
육성율	- 검정 개시 수수에 대한 검정 주령별 생존수수의 비율
성계 생존율	- 18주령 개시일 수수에 대한 검정종료일 수수의 비율
· 외모형태 조사	
벗	- 16주령 시 벗의 형태
우모	- 계군별 발생 및 5일령 때의 우모의 조만우성 - 계군별 발생 및 16주령 때의 우모 색
정강이	- 16주령 시 정강이 색
· 산육 및 산란 특성	
체중(g) 및 정강이 길이	- 전체 검정 조합별 개체를 대상으로 발생시부터 20주령 까지 2주 간격으로 측정 - 20주령 이후부터 4주 간격으로 40주령까지 측정
구간별 증체량	- 체중측정 및 사료섭취 측정 구간과 동일하게 측정 - 해당기간에 대하여 반복별로 증가한 체중 정도를 측정 후 생존수수로 나눈 수치
사료섭취량	- 체중 측정 구간과 동일하게 진행 - 0~8주, 0~10주, 0~12주령간의 구간별 총섭취량을 조사
사료요구율	- 구별, 반복별로 총 사료섭취량을 계산한 후 해당 구의 반복별 총 증체량으로 나눈 중량비로 표시 - 사료섭취량 및 체중 측정 구간과 동일하게 진행 - 18주령 개시일 부터 검정종료일까지 계란 1kg 생산에 소요된 사료(Kg)의 중량비로 표시
초산일령 (성성숙일령)	- 각 검정구별로 검정계의 산란율이 연속 2일간 50%도달 한 첫 일령
Hen-day 산란율(%)	- 초산일령부터 검정종료일까지 연 생존수수에 대한 총 산란개수의 비율
Hen-housed 산란지수(개)	- 18주령 개시일 부터 검정종료일까지 총 산란개수를 18주령 개시일 생존 수수로 나눈 수치
난중(g)	- 18주령 산란개시일 부터 검정 종료일까지 총 난중을 총 산란수로 나눈 수치 - 산란개시부터 4주 간격으로 각 조합당 반복별 측정일의 3일간 평균값

나. 연구수행 결과

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후 40주령까지의 체중과 정강이 길이를 20주령 이전까지는 2주 간격, 20주령 이후부터는 4주 간격으로 측정한 값을 그림 3-1, 3-2에 제시하였다. 분석 결과 조합별 체중차이가 교배조합별로 유의하게 나타났으며, 전체 16개 교배조합 중 고 체중군 4개 조합, 저 체중군 4개 조합 및 중 체중군 8개 조합으로 구분되었다. 교배조합 FH, HH, HF, FF 4개의 조합구가 고 체중군으로 분류되고, 교배조합 YY, SY, YS, SS 4개의 조합구가 저 체중군으로 나타났다.

표 6. 16개 교배조합별 0주령~12주령 체중

Crossbreed	Day 1	Week 2	Week 4	Week 6	Week 8	Week 10	Week 12
FH	40.03	213.92	472.32	683.55	934.27	1159.44	1540.01
HF	36.77	186.14	436.89	655.06	907.99	1145.10	1629.09
HH	37.03	187.78	450.01	657.88	900.15	1166.80	1617.38
FF	38.89	194.72	457.65	667.61	906.64	1146.12	1574.26
FY	38.55	159.25	357.49	541.21	799.67	1069.03	1524.67
YF	38.55	170.98	377.74	576.16	845.45	1097.85	1477.09
YH	36.90	159.82	369.34	568.58	810.23	1081.04	1434.94
HY	37.89	151.52	347.31	531.53	778.86	1045.53	1436.29
SH	36.33	150.36	357.26	566.93	818.92	1072.80	1467.25
FS	36.58	151.45	357.22	531.61	770.69	1028.09	1423.78
HS	37.59	141.18	335.78	519.32	756.22	1023.11	1445.90
SF	35.79	148.82	348.37	546.98	795.94	1054.24	1400.06
YY	39.00	110.38	270.96	469.74	689.66	958.01	1214.51
SY	37.11	112.41	273.01	477.58	670.57	910.66	1143.69
YS	37.18	114.81	282.02	483.26	675.75	889.71	1148.87
SS	38.10	112.21	286.34	484.07	699.72	973.79	1211.18

표 7. 16개 교배조합별 14주령~40주령 체중

Crossbreed	Week 14	Week 16	Week 18	Week 20	Week 24	Week 28	Week 32	Week 36	Week 40
FH	1616.27	1797.02	1821.46	2053.32	2880.56	3383.46	3689.34	3830.59	3926.21
HF	1763.53	1875.54	1985.07	2105.68	2830.25	3362.59	3583.07	3761.16	3862.88
HH	1748.56	1930.75	2014.44	2090.15	2839.20	3315.24	3576.24	3713.53	3803.25
FF	1675.93	1880.83	1968.57	2126.85	2906.31	3387.31	3473.46	3682.54	3783.65
FY	1647.77	1783.05	1861.40	1989.07	2572.76	2858.23	2933.83	3050.78	3178.01
YF	1556.77	1737.42	1827.69	1999.86	2588.94	2882.89	2916.86	3039.21	3169.89
YH	1549.79	1796.78	1888.42	2037.06	2598.08	2882.36	2955.41	3027.54	3161.27
HY	1520.38	1720.08	1760.80	1901.60	2473.38	2811.84	2904.11	3044.56	3127.59
SH	1553.16	1778.33	1825.77	1943.94	2479.83	2767.13	2815.40	2911.13	3027.26
FS	1516.74	1701.74	1793.75	1905.13	2419.88	2732.17	2799.95	2933.49	3014.72
HS	1562.07	1754.04	1821.84	1890.47	2357.65	2658.06	2772.78	2833.36	2935.22
SF	1499.08	1698.51	1788.94	1931.87	2398.16	2651.43	2675.00	2761.35	2927.94
YY	1322.97	1497.69	1554.01	1679.60	1982.17	2202.38	2243.19	2377.15	2429.94
SY	1267.06	1447.48	1510.25	1673.23	1999.76	2179.99	2176.39	2308.67	2388.35
YS	1271.26	1447.09	1531.94	1644.80	1958.47	2124.19	2109.28	2194.21	2301.90
SS	1337.22	1507.77	1579.83	1681.70	1911.78	2100.86	1995.00	2120.53	2186.42

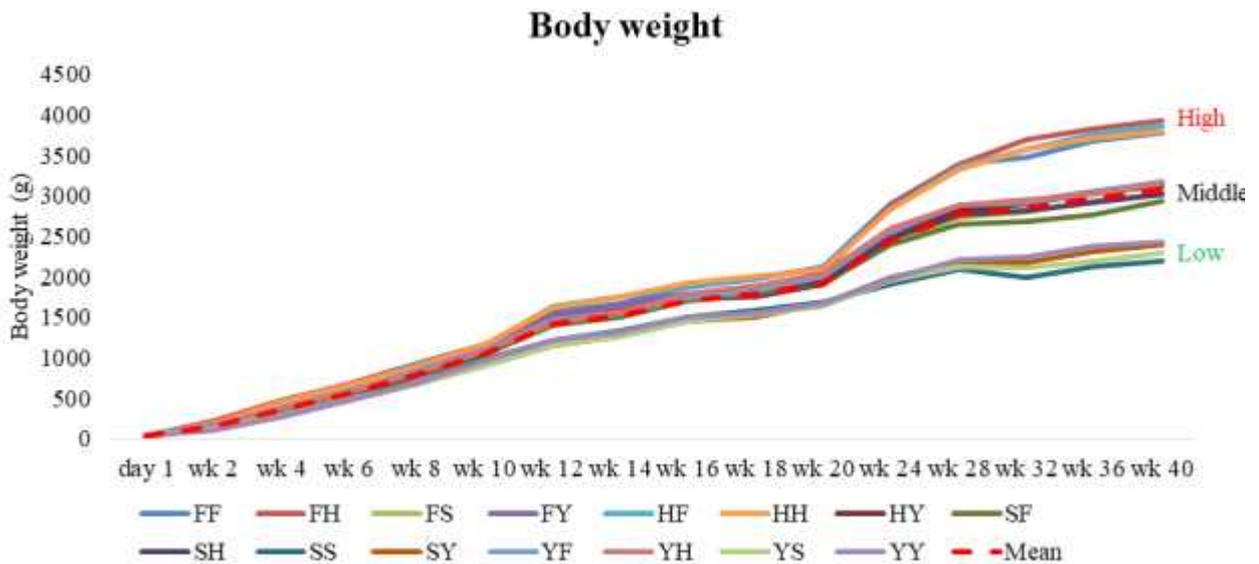


그림 3. 16개 교배조합별 0주령~40주령 체중

Hen-day egg production

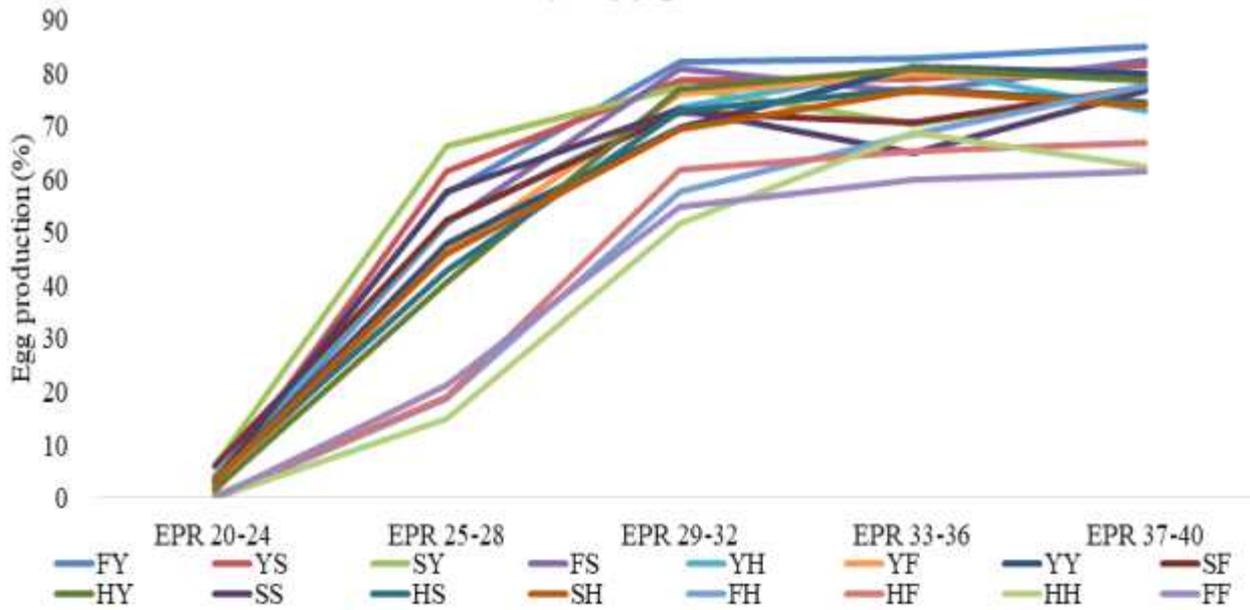


그림 4. 16개 교배조합별 20주령~40주령 산란율

표 8. 16개 교배조합별 20주령~40주령 산란율

Crossbreed	EPR 20-24w	EPR 25-28w	EPR 29-32w	EPR 33-36w	EPR 37-40w	EPR 20-40w
FY	3.51	57.44	82.12	82.81	84.91	59.37
YS	2.26	61.51	78.45	78.99	81.45	57.76
SY	6.17	66.27	77.15	70.25	76.89	56.81
FS	3.23	51.55	80.91	76.34	82.43	56.24
YH	4.09	51.97	73.61	81.13	72.90	54.23
YF	1.16	46.09	75.97	79.93	79.32	53.86
YY	3.04	47.84	69.55	81.20	79.86	53.76
SF	6.11	52.14	72.51	70.72	77.14	53.36
HY	1.52	40.66	77.02	80.86	78.55	53.14
SS	3.29	57.74	93.31	64.83	76.79	52.72
HS	3.33	42.75	72.84	76.88	74.46	51.64
SH	3.27	45.91	69.37	76.69	73.89	51.42
FH	0.06	18.73	57.55	68.56	77.48	42.36
HF	0.21	18.96	61.70	65.33	66.96	40.61
HH	0.00	14.87	51.62	68.63	62.52	37.65
FF	0.05	21.37	54.78	59.80	61.56	37.63

표 9. 가중치를 고려한 교배조합별 표준점수

Crossbreed	EPR 20-40	6wk BW	12wk BW	20wk Uniformity	Survivalability 0-18	Survivalability 19-40	ASM*	Total score	Feather color*
가중치	70%	15%	15%	-20%	5%	5%	-10%		
HS	34.67	7.11	8.47	-9.71	2.46	2.55	-4.73	40.81	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색
FY	31.67	7.85	8.04	-9.22	2.74	2.61	-4.96	38.72	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색, 흑색
SS	31.88	7.69	7.65	-10.16	2.25	2.59	-4.50	37.39	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색
SY	31.40	7.23	7.34	-9.89	2.73	2.59	-4.25	37.15	흑갈형반, 흑갈혼합
SF	32.97	6.91	7.55	-10.80	2.57	2.45	-4.70	36.94	흑갈형반, 흑갈혼합
HF	30.34	7.65	7.95	-10.36	2.78	2.66	-4.54	36.49	흑갈형반, 흑갈혼합
HH	31.28	6.90	7.67	-9.68	2.82	2.64	-5.15	36.48	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색
YF	33.79	5.88	5.06	-9.16	2.66	2.64	-4.79	36.09	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색
YH	33.28	5.77	5.01	-9.93	2.39	2.51	-4.31	34.71	흑갈형반, 흑갈혼합
SH	30.46	6.65	7.75	-10.35	2.41	2.61	-5.14	34.38	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색
FF	25.42	10.11	8.61	-10.15	2.74	2.63	-5.95	33.40	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색, 흑색
YY	31.62	5.60	5.65	-9.80	2.11	2.20	-4.81	32.58	흑갈혼합, 적갈색
YS	31.05	5.90	5.62	-9.69	2.17	2.23	-4.82	32.47	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색
FS	24.46	9.42	9.41	-10.50	2.28	2.68	-5.69	32.07	흑갈형반, 흑갈혼합, 적갈색
FH	22.84	9.78	8.92	-10.53	2.63	2.45	-5.88	30.21	흑갈형반, 흑갈혼합
HY	22.85	9.57	9.31	-10.09	2.28	1.99	-5.78	30.13	흑갈형반, 흑갈혼합
Mean	30.00	7.50	7.50	-10.00	2.50	2.50	-5.0	55.0	
SD	3.9	1.5	1.4	0.5	0.2	0.2	0.6	3.0	

*굵게 : 특정 모색이 10% 이상 우세함

교배조합별 전 개체를 대상으로 측정한 결과를 가중치를 고려하여 표준점수를 산출하여 우수 교배조합을 선정한 결과 HS, FY, SS, SY 순서로 40점에 가까운 높은 합계 점수를 나타냈으며 HY, FH 교배조합에서 30점에 가까운 점수를 나타내었다. 본 교배조합 능력검정 시험결과 부계계통은 F, H, S, 모계계통은 F, S, Y가 적합한 것으로 사료 된다.

2. GPS(원종계)단계 교배조합 능력검정

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 교배조합 시험 설계

1단계 검정 GPS 후보군으로 선발된 H, Y, F계통을 활용하여 각각 FY와 HY 교배조합의 병아리를 생산하였고 암수 구분하였다. GPS 단계에서 능력 검정 교배조합구의 구성은 표 1과 같다.

표 10. GPS 단계 능력검정 시험 교배조합구

male	female
FH male	FY female
HF male	HY female

(2) 검정계의 사양관리

초생추(1-12주)의 사양 관리는 강제 환기 및 자동 온도 조절 시스템이 완비된 무창 계사 내 4단 1열 배터리형 케이지에 사육하였다(그림 5). 케이지 당(76×61×46 cm) 12수씩 수용하여 밀사 스트레스를 최소화 하였으며 교배조합에 영향 하는 환경 편차를 최소화하고자 동일 교배조합이 케이지 시설의 높이에 따라 고르게 분포되도록 관리하였다. 계사 내 온도는 처음 1주 동안은 32°C를 유지하였으며, 1주에 주에 2~3°C씩 온도를 내려주어 약 3주 후에는 일정온도(약 24±2.5°C)로 고정하였다. 성계사로 이동 후 온도는 18±2°C를 유지하였다. 습도는 입추부터 1주령은 70%, 2주령은 65%, 이후로는 60%를 유지하였다. 사료 급여는 전 교배조합이 2주간 배합 초생추 사료로 자유급이하고, 3주령부터 토종 육용종계 권장급이량에 맞춰 제한급이를 실시하였다(표 13). 점등 관리는 표 11과 같이 점감 점증하였다. 이 후 12주령에 성계사로 이송 후 4단 14열 배터리 케이지에(60×25×45cm) 4수씩을 수용하여 사양관리 하였으며 교배조합에 영향 하는 환경 편차를 최소화하고자 동일 교배조합이 케이지 시설의 높이에 따라 고르게 분포되도록 관리하였다(그림 6). 사양기별 백신 프로그램은 표 12와 같이 실시하였다. 기타 사양관리는 충남대학교 관행법에 준하여 수행하였다.

표 11. 육용종계 점등 프로그램

주령	광도(Lux)	점등시간	주령	광도(Lux)	점등시간
1	30	22	20	20	13:30
2	20	16	21	20	14:00
3	10	15	22	20	14:30
4~16	10	9:30	23	20	15:00
17	10	11	24	20	15:30
18	20	12	25	20	16:00
19	20	13	26주 이후	20	16:30

* 16주령까지 점감점등, 17주령부터 점증점등하여 최종 17시간 점등 고정 실시

표 12. 육용종계 백신 프로그램

일 령	백 신 명	방법	내 용	백 신 명
1	M D	피하	마렉생독백신(HVT+CVI988)	마렉생독백신
	N D	분무	뉴캐슬병 생독백신	애비뉴(메리알)
	Reo+ND+IBD+IB	피하	레오+뉴캐슬병+감보로병 +전염성기관지염 혼합백신	Ring(메리알)-0.3ml
2~4	예방처치		슈퍼티아(CTC+Tiamulin)+비타민, 전해질제제	
9	디비킹+계두	단침	계두생독백신	
10~12	예방처치		슈퍼티아(CTC+Tiamulin)+비타민, 전해질제제	
15	I B D	음수	감보로병 생독백신	
21	ND+IB	분무	뉴캐슬병+IB	LaSota+Mass II (삼지)
22~24	예방처치		슈퍼티아(CTC+Tiamulin)+비타민, 전해질제제	
25	I B D	음수	감보로병 생독백신	
31	ND+IB	분무	뉴캐슬병+IB	LaSota+Mass II (삼지)
32~34	예방처치		슈퍼티아(CTC+Tiamulin)+비타민, 전해질제제	
35	I B D	음수	감보로병 생독백신	
45	ILT, AE-P	접안, 쌍침	전염성후두기관염 생독백신, 닭 뇌척수염- 계두혼합백신	
59	ND+IB+AI+EDS	피하	뉴캐슬병+전염성기관지염 +AI+산란저하증	ABBNE(대성미생물)
86	ILT, 구충	접안	전염성후두기관염 생독백신	
100	A E	음수	닭 뇌척수염 생독백신	
105	항콕시딕액			
110~120	Reo+ND+IBD+IB & CIAV	근육	레오+뉴캐슬병+감보로병 +전염성기관지염 혼합백신, & 닭 전염성빈혈 생독백신	Ring(메리알)-0.5ml, CIAV(메리알)
140 (200, 260, 320)	ND+IB	분무	2달 간격 보강접종	
170	ND+IB+AI+EDS	근육	뉴캐슬병+전염성기관지염 +AI+산란저하증	ABBNE(대성미생물)

2018 - GSP layer experiment allocation map for grower stage

10th Floor	Pen 92	Pen 93	Pen 94	Pen 95	Pen 96	Pen 97	Pen 98	Pen 99	Pen 100	Pen 101	Pen 102	Pen 103	Pen 104	Spray System	Entrance
9th Floor	Pen 79	Pen 80	Pen 81	Pen 82	Pen 83	Pen 84	Pen 85	Pen 86	Pen 87	Pen 88	Pen 89	Pen 90	Pen 91		
8th Floor	Pen 66	Pen 67	Pen 68	Pen 69	Pen 70	Pen 71	Pen 72	Pen 73	Pen 74	Pen 75	Pen 76	Pen 77	Pen 78		
4th Floor	Pen 53	Pen 54	Pen 55	Pen 56	Pen 57	Pen 58	Pen 59	Pen 60	Pen 61	Pen 62	Pen 63	Pen 64	Pen 65		
1st Floor	Pen 1	Pen 2	Pen 3	Pen 4	Pen 5	Pen 6	Pen 7	Pen 8	Pen 9	Pen 10	Pen 11	Pen 12	Pen 13	Electronic Heater	
2nd Floor	Pen 14	Pen 15	Pen 16	Pen 17	Pen 18	Pen 19	Pen 20	Pen 21	Pen 22	Pen 23	Pen 24	Pen 25	Pen 26		
3rd Floor	Pen 27	Pen 28	Pen 29	Pen 30	Pen 31	Pen 32	Pen 33	Pen 34	Pen 35	Pen 36	Pen 37	Pen 38	Pen 39		
4th Floor	Pen 40	Pen 41	Pen 42	Pen 43	Pen 44	Pen 45	Pen 46	Pen 47	Pen 48	Pen 49	Pen 50	Pen 51	Pen 52		

그림 5. 육성계사 배치도

Pen 16	Pen 18	Pen 14	Pen 13	Pen 12	Pen 11	Pen 10	Pen 9	Pen 8	Pen 7	Pen 6	Pen 5	Pen 4	Pen 3	Pen 2	Pen 1	1st Floor
Pen 32	Pen 31	Pen 30	Pen 29	Pen 28	Pen 27	Pen 26	Pen 25	Pen 24	Pen 23	Pen 22	Pen 21	Pen 20	Pen 19	Pen 18	Pen 17	2nd Floor
Pen 48	Pen 47	Pen 46	Pen 45	Pen 44	Pen 43	Pen 42	Pen 41	Pen 40	Pen 39	Pen 38	Pen 37	Pen 36	Pen 35	Pen 34	Pen 33	3rd Floor
Pen 64	Pen 63	Pen 62	Pen 61	Pen 60	Pen 59	Pen 58	Pen 57	Pen 56	Pen 55	Pen 54	Pen 53	Pen 52	Pen 51	Pen 50	Pen 49	4th Floor
Pen 80	Pen 79	Pen 78	Pen 77	Pen 76	Pen 75	Pen 74	Pen 73	Pen 72	Pen 71	Pen 70	Pen 69	Pen 68	Pen 67	Pen 66	Pen 65	1st Floor
Pen 96	Pen 95	Pen 94	Pen 93	Pen 92	Pen 91	Pen 90	Pen 89	Pen 88	Pen 87	Pen 86	Pen 85	Pen 84	Pen 83	Pen 82	Pen 81	2nd Floor
Pen 112	Pen 111	Pen 110	Pen 109	Pen 108	Pen 107	Pen 106	Pen 105	Pen 104	Pen 103	Pen 102	Pen 101	Pen 100	Pen 99	Pen 98	Pen 97	3rd Floor
Pen 128	Pen 127	Pen 126	Pen 125	Pen 124	Pen 123	Pen 122	Pen 121	Pen 120	Pen 119	Pen 118	Pen 117	Pen 116	Pen 115	Pen 114	Pen 113	4th Floor
Pen 144	Pen 143	Pen 142	Pen 141	Pen 140	Pen 139	Pen 138	Pen 137	Pen 136	Pen 135	Pen 134	Pen 133	Pen 132	Pen 131	Pen 130	Pen 129	1st Floor
Pen 160	Pen 159	Pen 158	Pen 157	Pen 156	Pen 155	Pen 154	Pen 153	Pen 152	Pen 151	Pen 150	Pen 149	Pen 148	Pen 147	Pen 146	Pen 145	2nd Floor
Pen 176	Pen 175	Pen 174	Pen 173	Pen 172	Pen 171	Pen 170	Pen 169	Pen 168	Pen 167	Pen 166	Pen 165	Pen 164	Pen 163	Pen 162	Pen 161	3rd Floor
Pen 192	Pen 191	Pen 190	Pen 189	Pen 188	Pen 187	Pen 186	Pen 185	Pen 184	Pen 183	Pen 182	Pen 181	Pen 180	Pen 179	Pen 178	Pen 177	4th Floor
Pen 208	Pen 207	Pen 206	Pen 205	Pen 204	Pen 203	Pen 202	Pen 201	Pen 200	Pen 199	Pen 198	Pen 197	Pen 196	Pen 195	Pen 194	Pen 193	1st Floor
Pen 224	Pen 223	Pen 222	Pen 221	Pen 220	Pen 219	Pen 218	Pen 217	Pen 216	Pen 215	Pen 214	Pen 213	Pen 212	Pen 211	Pen 210	Pen 209	2nd Floor
Pen 240	Pen 239	Pen 238	Pen 237	Pen 236	Pen 235	Pen 234	Pen 233	Pen 232	Pen 231	Pen 230	Pen 229	Pen 228	Pen 227	Pen 226	Pen 225	3rd Floor
Pen 256	Pen 255	Pen 254	Pen 253	Pen 252	Pen 251	Pen 250	Pen 249	Pen 248	Pen 247	Pen 246	Pen 245	Pen 244	Pen 243	Pen 242	Pen 241	4th Floor

그림 6. 산란계사 배치도

표 13. 토종 육용종계 권장 사료급여량

주령	체중-상위그룹 (암탉라인)		체중-중위그룹 (암탉라인)		체중-하위그룹 (암탉라인)		급여 사료명 (농협사료)
	권장 체중	권장 급여량	권장 체중	권장 급여량	권장 체중	권장 급여량	
	1	120	무제한	95	무제한	75	
2	220	급이	170	급이	125	급이	
3	330	36.0	250	29	190	22	
4	450	40.0	350	34	270	28	어린 병아리
5	550	43.0	450	39	360	35	
6	650	45	550	43	465	40	
7	750	47	650	47	570	46	중병아리
8	850	49	750	50	680	50	
9	950	50	850	52	790	54	
10	1,050	52	950	54	900	56	큰병아리
11	1,150	54	1,050	56	1,000	58	
12	1,250	57	1,150	59	1,100	61	
13	1,350	59	1,250	61	1,190	63	산란예비
14	1,450	62	1,350	65	1,280	67	
15	1,550	66	1,450	68	1,370	70	
16	1,660	71	1,540	72	1,460	73	산란전기
17	1,780	76	1,640	77	1,550	77	
18	1,900	83	1,750	82	1,640	81	
19	2,050	90	1,870	88	1,740	86	산란크
20	2,190	98	2,000	96	1,860	93	
21	2,340	104	2,150	102	1,980	100	
22	2,500	113	2,300	109	2,100	105	산란크
23	2,660	122	2,440	116	2,220	110	
24	2,820	131	2,570	123	2,320	115	
25	2,970	135	2,680	128	2,400	120	산란크
26	3,120	140	2,800	133	2,470	125	
27	3,240	145	2,880	135	2,520	130	
28	3,340	150	2,950	138	2,560	133	산란크
29	3,400	155	3,000	140	2,600	133	
30	3,430	158	3,020	140	2,620	132	
31	3,460	160	3,050	140	2,640	132	산란크
32	3,490	160	3,070	140	2,660	131	
33	3,510	158	3,090	140	2,680	131	
34	3,525	156	3,110	140	2,700	130	산란크
35	3,540	155	3,125	140	2,720	130	
36	3,555	154	3,140	139	2,740	129	
37	3,570	153	3,155	139	2,760	129	산란크
38	3,585	152	3,170	138	2,780	129	
39	3,600	151	3,185	138	2,800	129	
40	3,615	150	3,200	138	2,820	129	

표 14. 검정형질 측정 기준

검정 형질	검정기준
· 번식능력	
수정율	- 전체 종란에 대한 입란 비율
부화율	- 입란대비 및 수정대비 부화발생 비율
· 육성율 및 성계생존율(%)	
육성율	- 검정 개시 수수에 대한 18주령까지 주령별 생존수수의 비율
성계 생존율	- 18주령 개시일 수수에 대한 검정종료일 수수의 비율
· 산육 및 산란 특성	
체중(g)	- 전체 검정 조합별 개체를 대상으로 발생시부터 20주령 까지 2주 간격으로 측정 - 20주령 이후부터 4주 간격으로 40주령까지 측정
구간별 증체량	- 체중측정 및 사료섭취 측정 구간과 동일하게 측정 - 해당기간에 대하여 반복별로 증가한 체중 정도를 측정 후 생존 수수로 나눈 수치
사료섭취량	- 체중 측정 구간과 동일하게 진행
사료요구율	- 구별, 반복별로 총 사료섭취량을 계산한 후 해당 구의 반복별 총 증체량으로 나눈 증량비로 표시 - 사료섭취량 및 체중 측정 구간과 동일하게 진행 - 18주령 개시일 부터 검정종료일까지 계란 1kg 생산에 소요된 사료(Kg)의 증량비로 표시
초산일령 (성성숙일령)	- 각 검정구별로 검정계의 산란율이 연속 2일간 50%도달 한 첫 일령
Hen-day 산란율(%)	- 초산일령부터 검정종료일까지 연 생존수수에 대한 총 산란개수의 비율
난중(g)	- 18주령 산란개시일 부터 검정 종료일까지 총 난중을 총 산란수로 나눈 수치 - 산란개시부터 4주 간격으로 각 조합당 반복별 측정일의 3일간 평균값

나. 연구수행 결과

(1) 0-18주 교배조합 검정실험

(가) 체중

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후 18주령까지 2주 간격으로 측정한 값을 그림 7-1, 7-2에 각각 제시하였다. 0~12주, 12~18주 모두 수컷에서는 HF가 FH보다 높은 체중이 나타났으며, 암컷에서는 FY가 HY보다 높은 체중을 나타냈다.

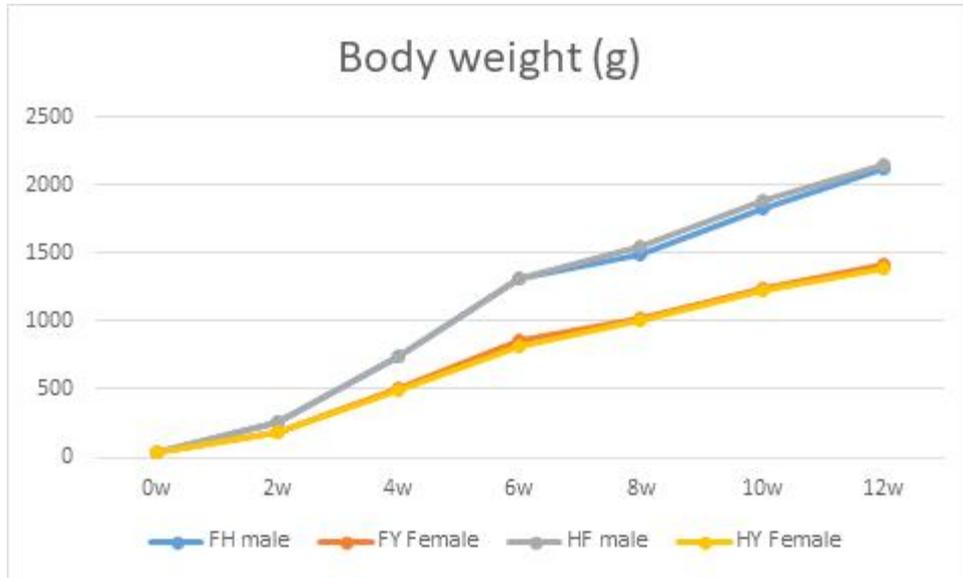


그림 7-1. 교배조합별 0주령~12주령 체중

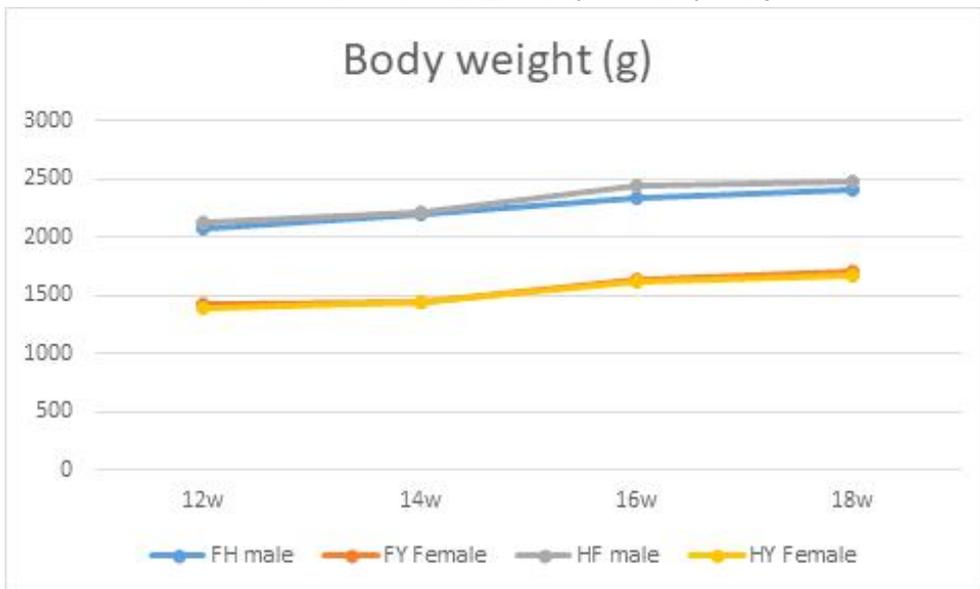


그림 7-2. 교배조합별 12주령~18주령 체중

(나) 일당사료섭취량

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후 18주령까지 2주 간격으로 측정된 값을 그림 8-1, 8-2에 제시하였다. 0~12주 수컷에서는 FH가 HF보다 높은 일당사료섭취량이 나타났으며, 암컷에서는 FY가 HY보다 높은 일당사료섭취량을 나타냈다. 12주령부터 제한 급이를 실시하였다.

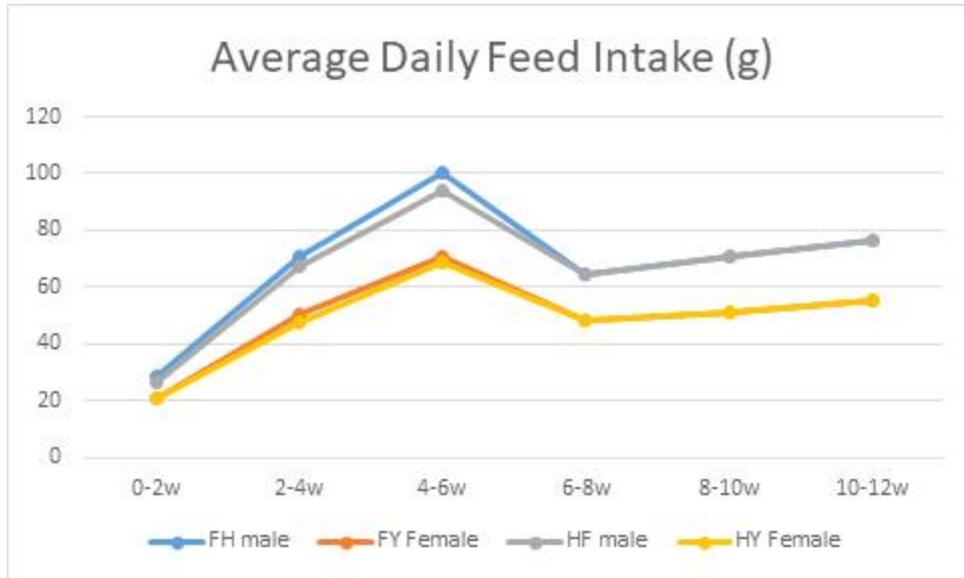


그림 8-1. 교배조합별 0주령-12주령 일당사료섭취량

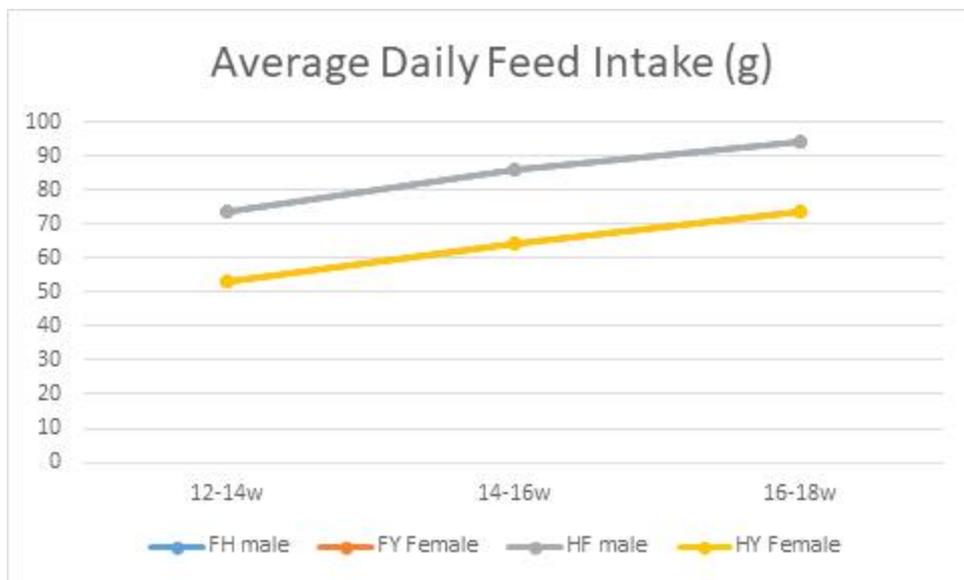


그림 8-2. 교배조합별 12주령-18주령 일당사료섭취량

(다) 일당증체량

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후 18주령까지 2주 간격으로 측정된 값을 그림 9-1 과 9-2에 제시하였다. 0-12주 수컷에서는 FH가 HF보다 높은 일당증체량이 나타났으며, 암컷에서는 FY가 HY보다 높은 일당증체량을 나타냈다. 12~18주 수컷에서는 FH가 HF보다 높은 일당증체량이 나타났으며, 암컷에서는 HY가 FY보다 높은 일당증체량을 나타냈다.

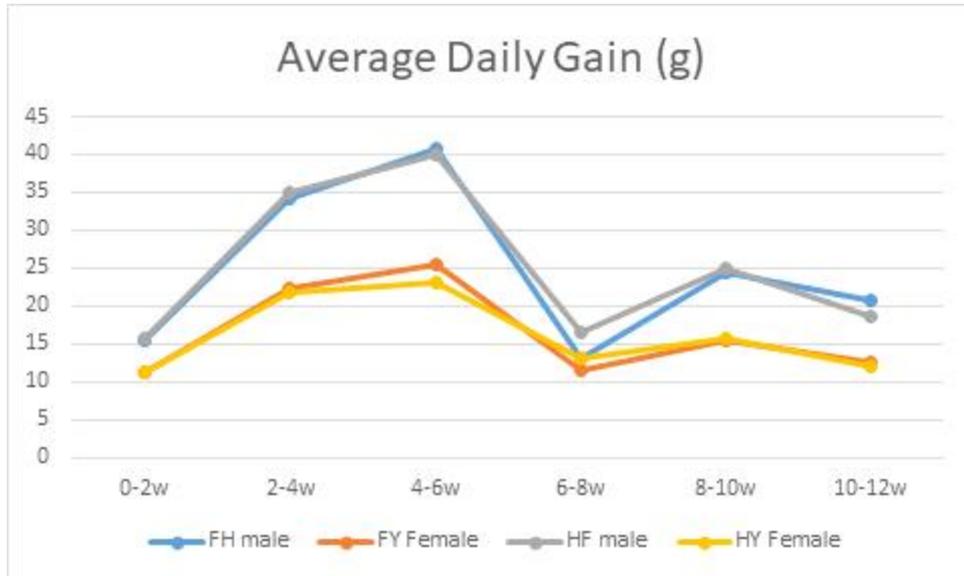


그림 9-1. 교배조합별 0주령~12주령 일당증체량

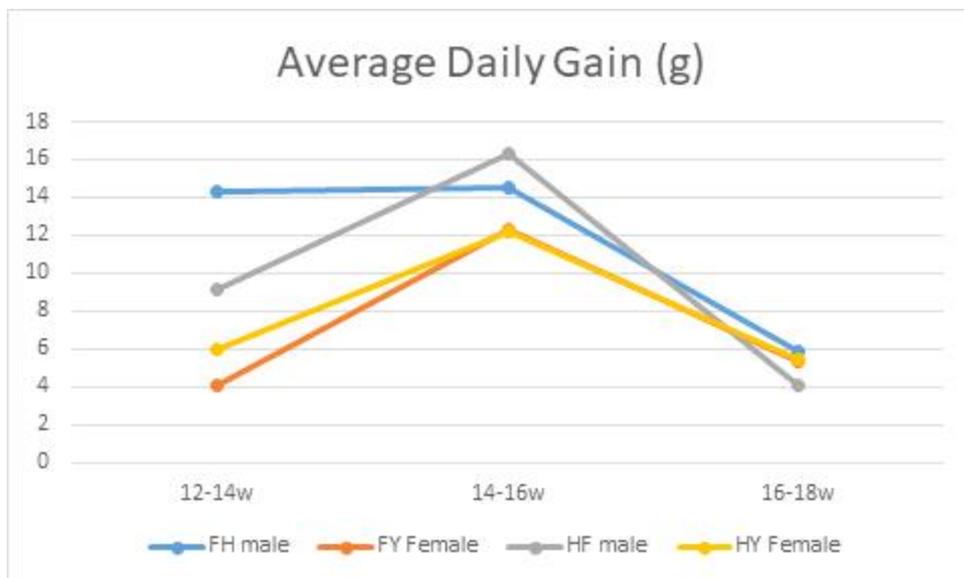


그림 9-2. 교배조합별 0주령~12주령 일당증체량

(라) 사료요구율

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후 18주령까지 2주 간격으로 측정된 값을 그림 10-1, 10-2에 제시하였다. 0~12주, 12~18주 모두 수컷에서는 FH가 HF보다 낮은 사료요구율이 나타났으며, 암컷에서는 FY가 HY보다 낮은 사료요구율을 나타냈다.

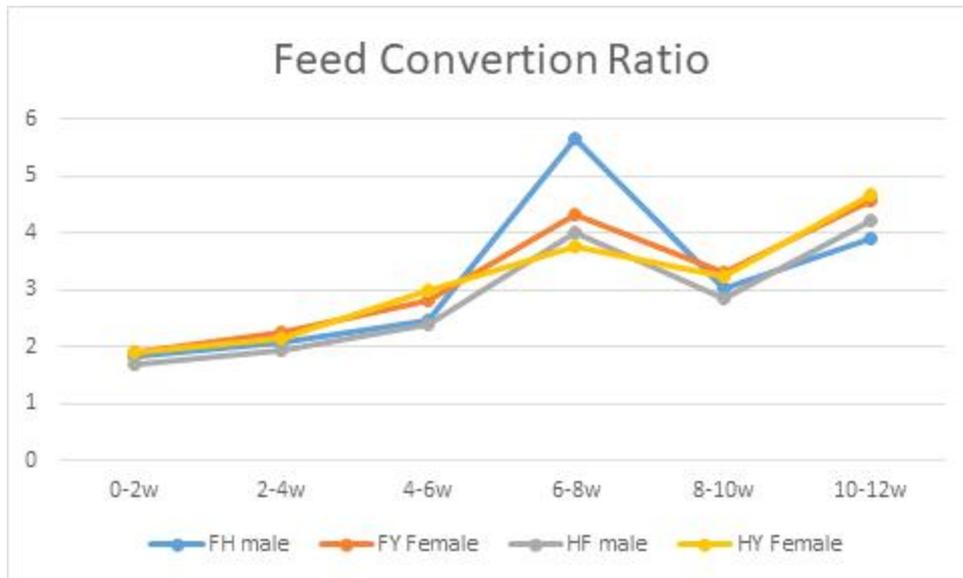


그림 10-1. 교배조합별 0주령~12주령 사료요구율

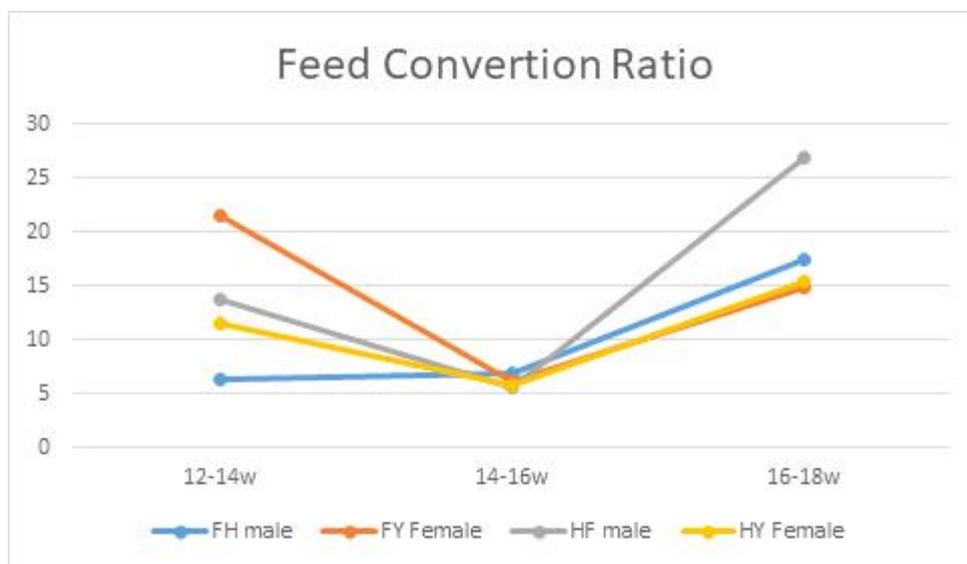


그림 10-2. 교배조합별 0주령~12주령 사료요구율

(마) 정강이 길이

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후 18주령까지 2주 간격으로 측정 한 값을 그림 11-1, 11-2에 제시하였다. 0~12주, 12~18주 모두 수컷에서는 HF가 FH보다 높은 정강이 길이를 나타냈으나, 암컷에서는 0~12주 FY가 HY보다 높은 정강이 길이를 나타냈고, 12~18주 HY가 FY보다 높은 정강이 길이를 나타냈다.



그림 11-1. 교배조합별 0주령~12주령 정강이 길이

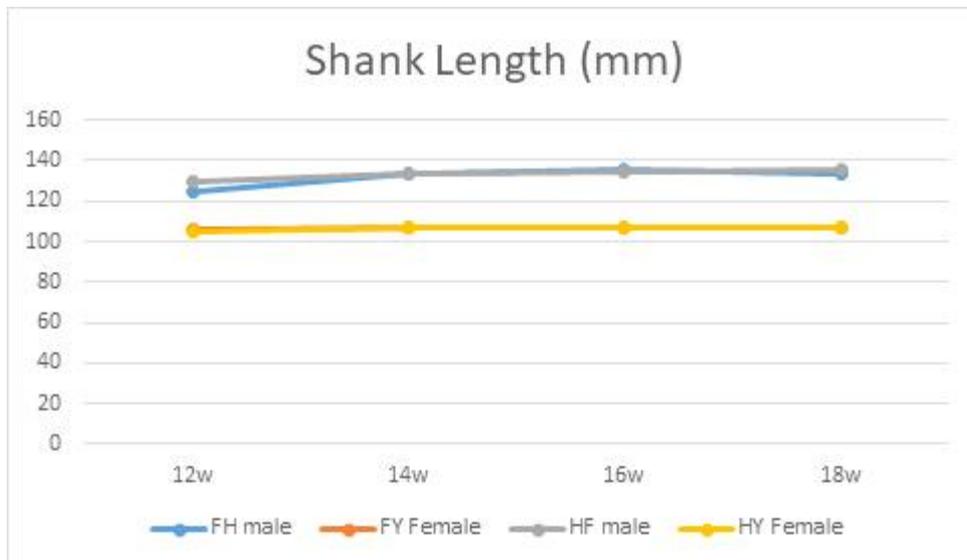


그림 11-2. 교배조합별 0주령~12주령 정강이 길이

(바) 생존율

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후 18주령까지 2주 간격으로 측정된 값을 그림 12-1, 12-2에 제시하였다. 0~12주, 12~18주 모두 수컷에서는 HF가 FH보다 높은 생존율이 나타났으며, 암컷에서는 HY가 FY보다 높은 생존율을 나타냈다.

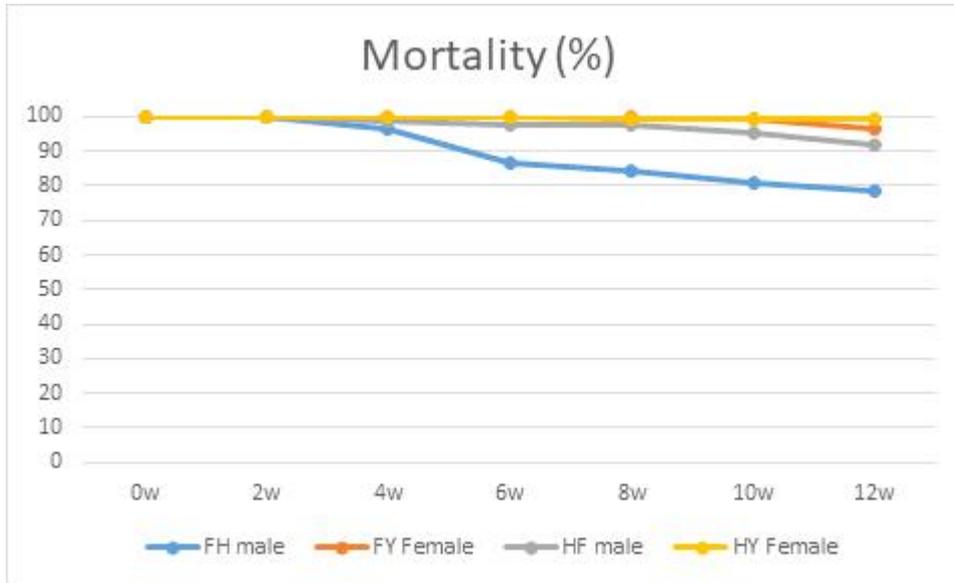


그림 12-1. 교배조합별 0주령~12주령 생존율

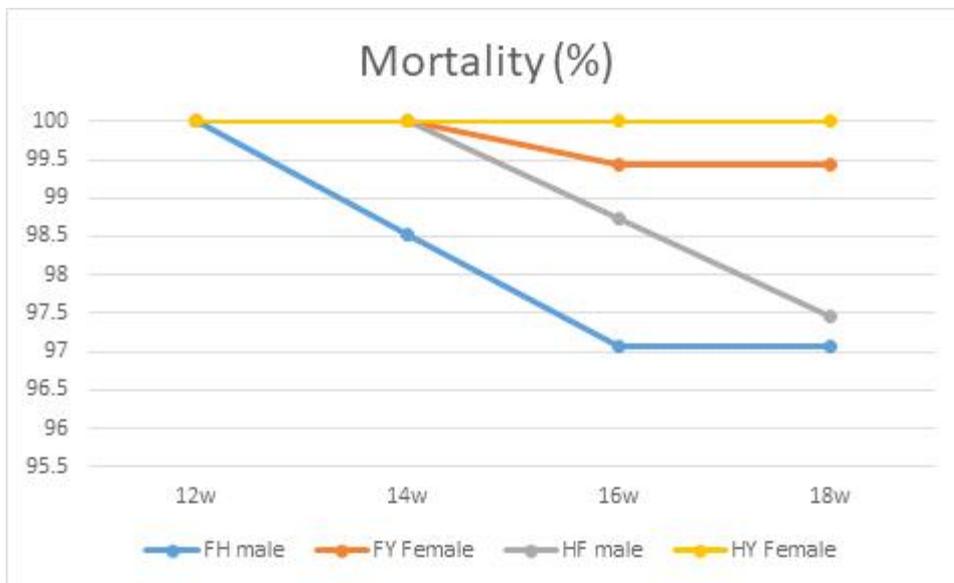


그림 12-2. 교배조합별 0주령~12주령 생존율

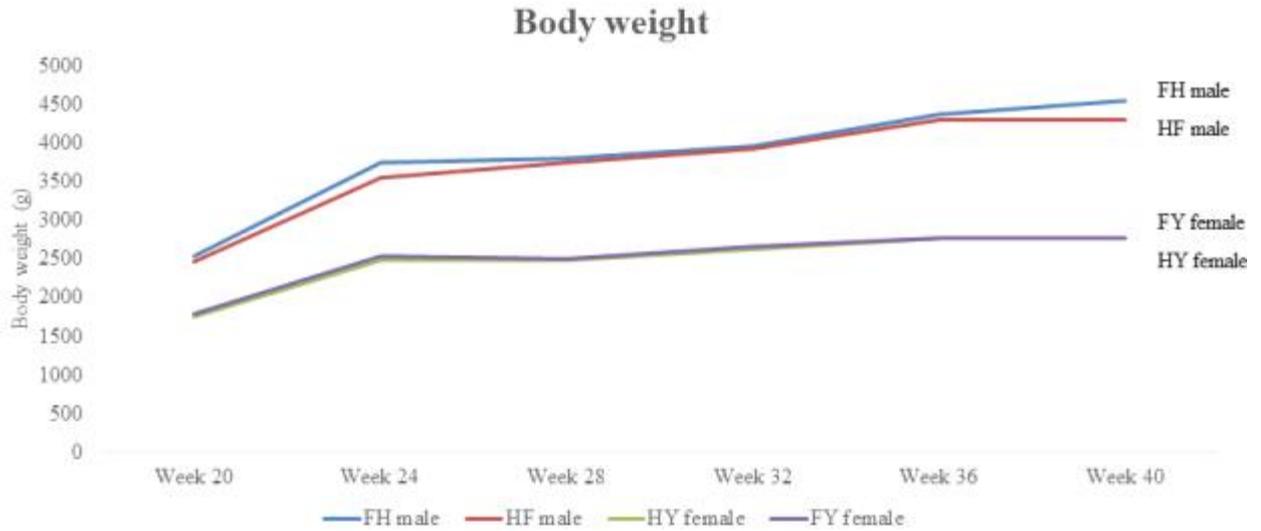


그림 13-1. 교배조합별 20주령~40주령 시 체중

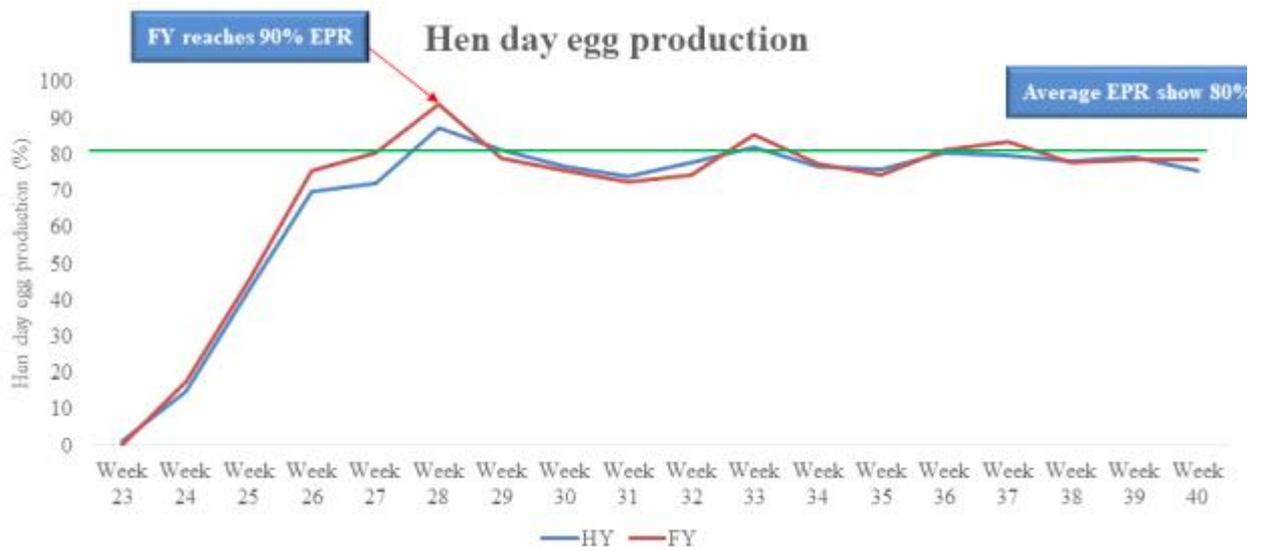


그림 13-2. 교배조합별 23주령~40주령 산란율

교배조합간 성장능력은 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 산란능력은 FY가 HY에 비하여 높은 피크 산란율을 보였지만 전체적으로 유사한 산란율을 보여주었음

3. 실용계(CC) 생산을 위한 PS교배조합 검정

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 교배조합 시험 설계

실용계(CC) 생산을 위한 PS 교배조합은 4개 교배조합 및 백세미를 합하여 총 810 마리에 대한 능력검정(1-42일령)을 실시하였다. 이번 능력검정에 사용할 교배조합 구성은 표 1과 같다.

표 15. GSP 산육능력 검정에 교배조합 구성

암컷 수컷	FY	HY
HF	HHFY (180)	HHFY (180)
FH	FHHFY (180)	FHHFY (180)
LL	백세미 (90)	

(2) 실용계 사양관리

실험에서 사용된 공시동물은 12주간 battery cage (76 × 61 × 46cm)에서 실험을 수행하였다. Battery cage당 공시동물을 10수씩 배치하여 사육하였으며, 교배조합에 영향 하는 환경 편차를 최소화하고자 동일 교배조합이 케이지 시설의 높이에 따라 고르게 분포되도록 관리하였다. 실험 기간 동안 사료와 물을 자유로이 채식하도록 하였다. 점등은 부화 후 12주령까지 종야 점등을 실시하였으며, 점등 광도는 25Lux를 유지하였다. 계사의 온도는 부화 후 1주일 동안은 32±2℃를 유지하였으며, 이후 1주일 동안 3℃씩 온도를 하강하여 5주령부터는 20±2℃를 유지하였다. 습도는 1주령은 70±5%, 2주령은 65±5%, 이후로는 60±5%를 유지하였다. 사육 단계별 사료급여 형태는 육계 초기(CP 20.0%, ME 3,050kcal/kg), 전기(CP 18.0%, ME 3100kcal/kg), 후기(CP 16.0%, ME 3,100kcal/kg)로 나뉘며 무제한 급여하였다.

표 16. 실용계 백신프로그램

일령	백신(상호명)	접종방법	비고
1	MD,ND	피하주사/분무	부화장 접종
12	IBD(GUMBORO D78)	음수(4시간)	
17	ND,IB(MA5+CLONE30)	음수(4시간)	
22	IBD(GUMBORO D78)	음수(4시간)	
27	ND,IB(MA5+CLONE30)	음수(4시간)	

※비고: 백신 후 스트레스 예방제 음수 투여(여름철 시간제약 없음)

4st Floor Group No. Birds	pen49 HFFY-5 12	pen50 FHHY-9 12	pen51 HFHY-5 12	pen52 HFFY-9 12	pen53	pen54 HFHY-9 12	pen55	pen56	pen57	pen58 LL-Extra 12	pen59 H3-extra 12	pen60 HFFY-extra 12
3st Floor Group No. Birds	pen61 HFFY-6 12	pen62 FHHY-10 12	pen63 HFHY-6 12	pen64 HFFY-10 12	pen65 LL-7 12	pen66 HFHY-10 12	pen67 FHHY-13 12	pen68 FHHY-13 12	pen69 H3-7 12	pen70 HFHY-13 12	pen71 HFFY-13 12	pen72 HFFY-extra 12
2st Floor Group No. Birds	pen73 HFFY-7 12	pen74 FHHY-11 12	pen75 HFHY-7 12	pen76 HFFY-11 12	pen77 LL-8 12	pen78 HFHY-11 12	pen79 FHHY-14 12	pen80 FHHY-14 12	pen81 H3-8 12	pen82 HFHY-14 12	pen83 HFFY-14 12	pen84 HFFY-extra 12
1st Floor Group No. Birds	pen85 HFFY-8 12	pen86 FHHY-12 12	pen87 HFHY-8 12	pen88 HFFY-12 12	pen89 LL-9 12	pen90 HFHY-12 12	pen91 FHHY-15 12	pen92 FHHY-15 12	pen93 H3-9 12	pen94 HFHY-15 12	pen95 HFFY-15 12	pen96 HFFY-extra 12
4st Floor Group No. Birds	pen1	pen2 HFHY-1 12	pen3 FHHY-1 12	pen4 FHHY-1 12	pen5 HFFY-1 12	pen6	pen7 FHHY-5 12	pen8	pen9 FHHY-5 12	pen10	pen11 FHHY-9 12	pen12 HFFY-extra 12
3st Floor Group No. Birds	pen13 H3-1 12	pen14 HFHY-2 12	pen15 FHHY-2 12	pen16 FHHY-2 12	pen17 HFFY-2 12	pen18 LL-1 12	pen19 FHHY-6 12	pen20 H3-4 12	pen21 FHHY-6 12	pen22 LL-4 12	pen23 FHHY-10 12	pen24 HFFY-extra 12
2st Floor Group No. Birds	pen25 H3-2 12	pen26 HFHY-3 12	pen27 FHHY-3 12	pen28 FHHY-3 12	pen29 HFFY-3 12	pen30 LL-2 12	pen31 FHHY-7 12	pen32 H3-5 12	pen33 FHHY-7 12	pen34 LL-5 12	pen35 FHHY-11 12	pen36 HFFY-extra 12
1st Floor Group No. Birds	pen37 H3-3 12	pen38 HFHY-4 12	pen39 FHHY-4 12	pen40 FHHY-4 12	pen41 HFFY-4 12	pen42 LL-3 12	pen43 FHHY-8 12	pen44 H3-6 12	pen45 FHHY-8 12	pen46 LL-6 12	pen47 FHHY-12 12	pen48 HFFY-extra 12

그림 14. 실용계 배치도

나. 연구수행 결과

(1) 성장능력

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후부터 주령까지의 체중을 1주 간격으로 조사하고 이의 성적을 제시하였다. 분석 결과 조합별 체중차이가 교배조합별로 유의적인 차이가 나타났다.

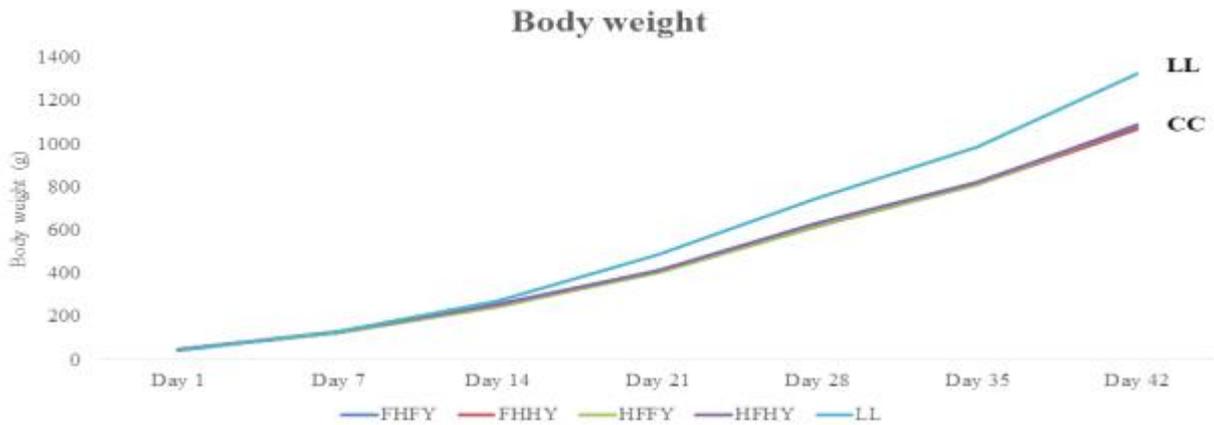


그림 15. 실용계 교배조합별 42일령 체중 비교

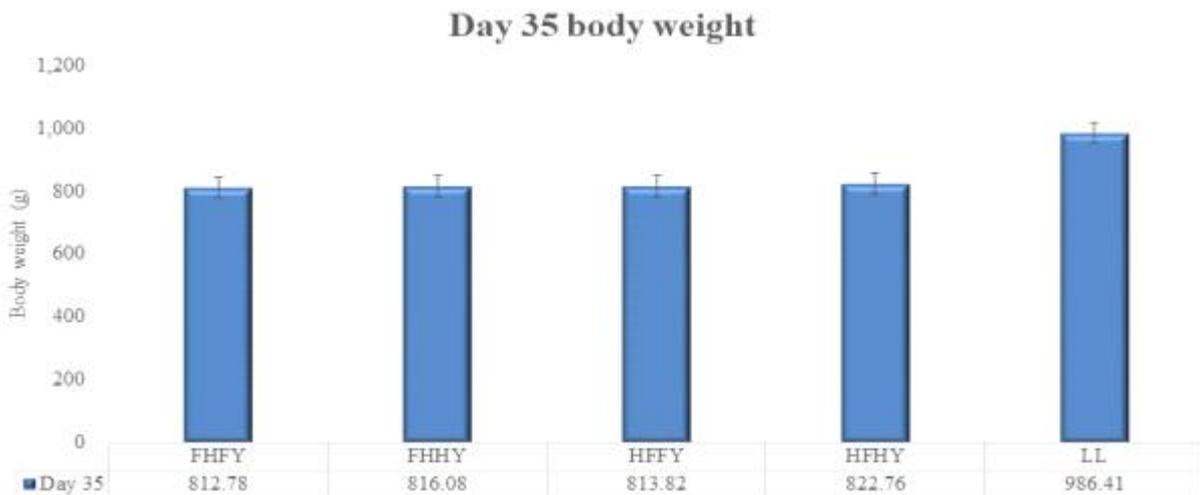


그림 16. 실용계 교배조합별 35일령 체중 비교

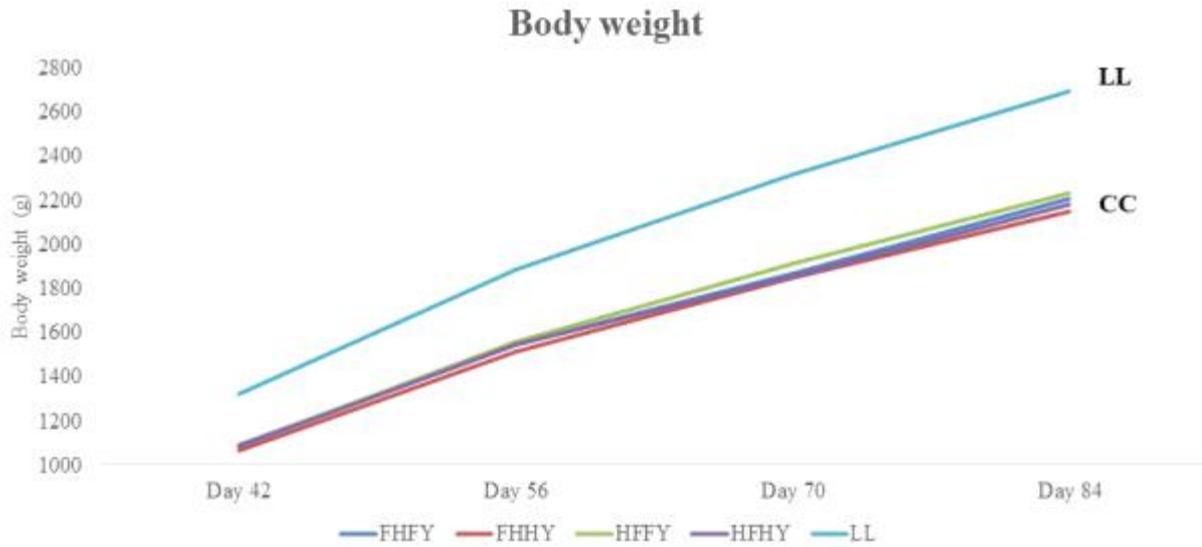


그림 17. 실용계 교배조합별 42~84일령 체중 비교

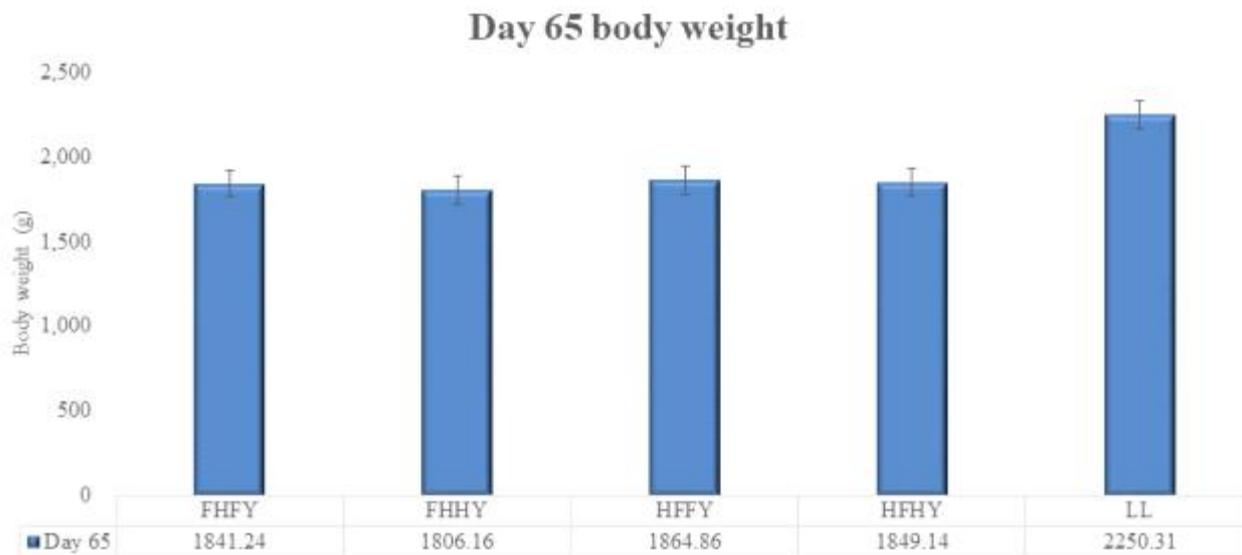


그림 18. 실용계 교배조합별 65일령 체중 비교

35일령 체중과 65일령 체중에서는 FHHY, FHFY, HFHY, HFFY순으로 나타났으며 전 실험 기간 동안 백세미에 비해서는 낮은 체중을 나타냈다. 하지만 교배조합간 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

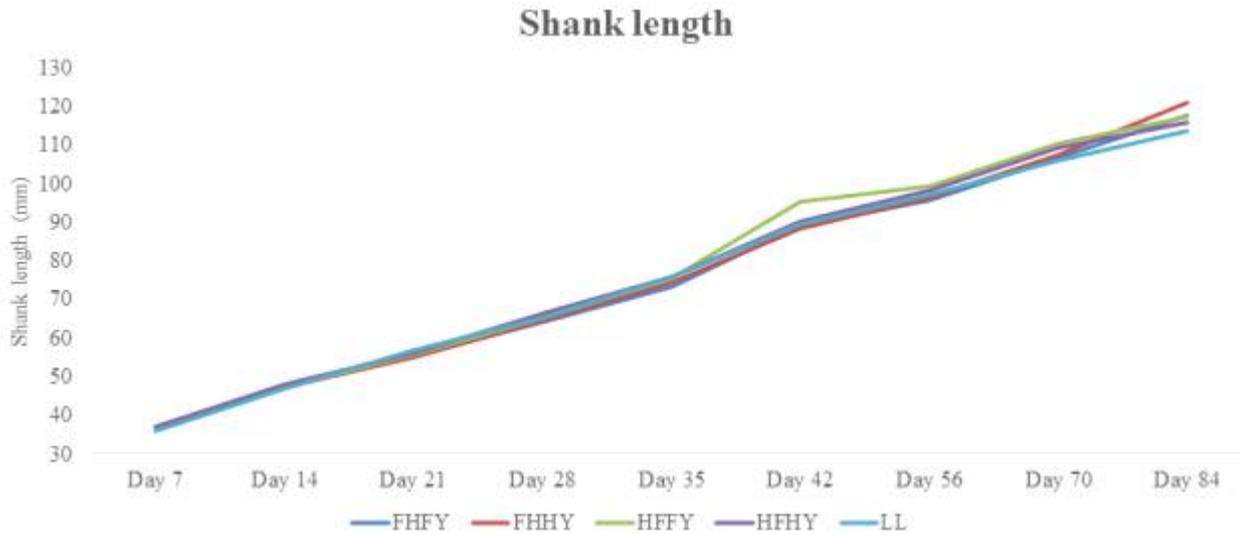


그림 19. 실용계 교배조합별 7~84일령 정강이 길이 비교

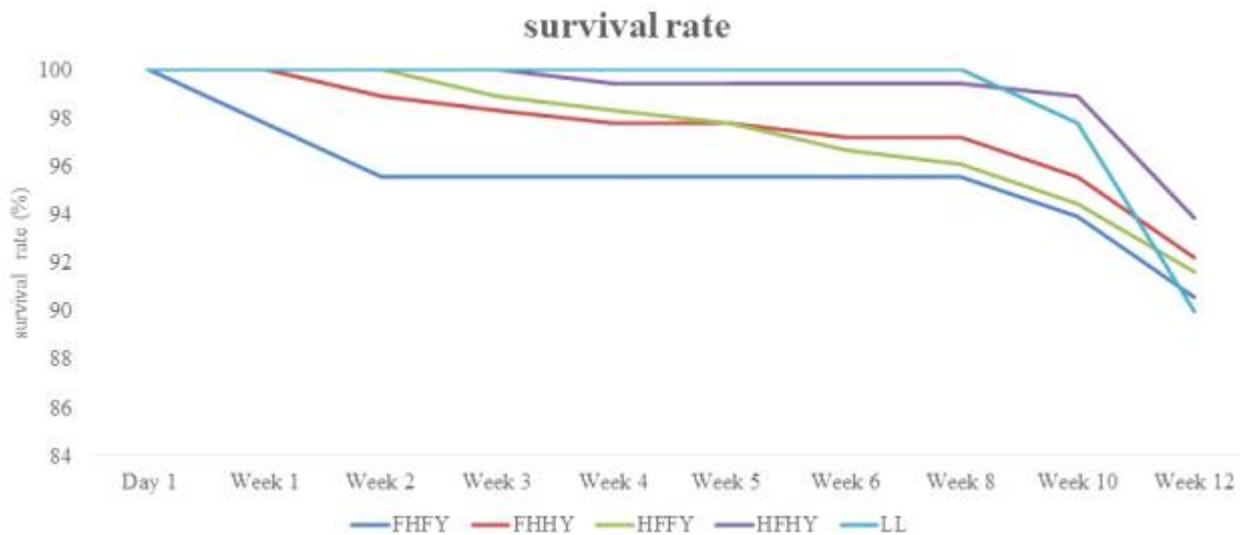


그림 20. 실용계 교배조합별 0주령~12주령 생존율 비교

실용계의 정강이 길이는 7일령~84일령까지 교배조합별 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 생존율에서는 4개 교배조합에서 HFHY조합이 가장 우수한 것으로 나타났다. 실용계 교배조합별 능력검정을 실시한 결과를 종합해보면 최적의 실용계 교배조합은 성장 성상 측면에서 HFHY 조합이 가장 적합할 것으로 사료 된다.

4. 2종의 실용계(CC) 교배조합 생산 및 능력검정시험(1차)

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 교배조합 시험 설계

실용계(CC) 생산을 위한 PS 교배조합은 2019년 실험에서 선발된 2개 교배조합과 로스, 백세미를 추가하여 총 720 마리를 산육능력 검정(0~6주)을 실시 하였다. 이번 산육능력 검정에 교배조합 구성은 표 17과 같으며 각 교배조합별 성별에 의한 조합이 끼치는 영향에 대하여 조사하기 위하여 시험을 수행하였다.

표 17. GSP 산육능력 검정에 교배조합 구성

암컷 수컷	FY			HY		
FH	FHFY (180)			FHHY (180)		
	Male (60)	Female (60)	Both (60)	Male (60)	Female (60)	Both (60)
Ross (control 1)	Ross (180수)					
	Male (60)		Female (60)		Both (60)	
백세미 (control 2)	백세미 (180수)					
	Male (60)		Female (60)		Both (60)	

(2) 실용계 사양관리

실험에서 사용된 공시동물은 5주간 battery cage (76 × 61 × 46cm)에서 실험을 수행하였다. Battery cage당 공시동물을 10수씩 배치하여 사육하였으며, 교배조합에 영향 하는 환경 편차를 최소화하고자 동일 교배조합이 케이지 시설에 따라 고르게 분포되도록 관리하였다. 실험기간 동안 사료와 물을 자유로이 채식하도록 하였다. 점등은 부화 후 6주령까지 종야 점등을 실시하였으며, 점등 광도는 25Lux를 유지하였다. 계사의 온도는 부화 후 1주일 동안은 32±2℃를 유지하였으며, 이후 1주일동안 3℃씩 온도를 하강하여 5주령부터는 20±2℃를 유지하였다. 습도는 1주령은 70±5%, 2주령은 65±5%, 이후로는 60±5%를 유지하였다. 사육 단계별 사료급여 형태는 육계 초기(CP 20.0%, ME 3,050kcal/kg), 전기(CP 18.0%, ME 3100kcal/kg), 후기(CP 16.0%, ME 3,100kcal/kg)로 나뉘며 무제한 급여하였다.

표 18. 실용계 사료 프로그램

급여기준	사료	비고
부화 후 1~7일	초이	6포/1,000수
부화 후 8일령~800g이하	전기	35일령~40일령
800g이상~출하	후기	

표 19. 실용계 백식프로그램

일령	백신(상호명)	접종방법	비고
1	MD,ND	피하주사/분무	부화장 접종
12	IBD(GUMBORO D78)	음수(4시간)	
17	ND,IB(MA5+CLONE30)	음수(4시간)	
22	IBD(GUMBORO D78)	음수(4시간)	
27	ND,IB(MA5+CLONE30)	음수(4시간)	

※비고: 백신 후 스트레스 예방제 음수 투여(여름철 시간제약 없음)

pen13	pen12	pen11	pen10	pen9	pen8	pen7	pen6	pen5	pen4	pen3	pen2
pen26	pen25	pen24	pen23	pen22	pen21	pen20	pen19	pen18	pen17	pen16	pen15
FHFY-M1	Ross-FM1	FHHY-M1	Lohman-F1	FHFY-F2	Lohman-FM1	Ross-M2	Lohman-M2	FHHY-M3	Lohman-F3	Ross-FM3	FHFY-M3
pen39	pen38	pen37	pen36	pen35	pen34	pen33	pen32	pen31	pen30	pen29	pen28
Ross-M1	FHFY-FM1	Ross-F1	Lohman-M2	FHHY-FM1	FHFY-M2	FHHY-F2	Lohman-F2	Ross-F2	FHHY-FM3	FHFY-FM3	Ross-M3
pen52	pen51	pen50	pen49	pen48	pen47	pen46	pen45	pen44	pen43	pen42	pen41
FHFY-F1	FHHY-F1	Lohman-M1	FHHY-M2	FHFY-F3	Ross-FM2	FHFY-FM2	FHHY-FM2	Lohman-FM2	FHHY-F3	Lohman-FM3	Ross-F3
pen104	pen103	pen102	pen101	pen100	pen99	pen98	pen97	pen96	pen95	pen94	pen93
pen91	pen90	pen89	pen88	pen87	pen86	pen85	pen84	pen83	pen82	pen81	pen80
Ross-FM4	FHFY-M4	Lohman-M4	FHFY-FM5	Lohman-FM5	FHHY-FM5	FHFY-M5	Ross-M5	FHHY-FM5	Lohman-F5	Ross-F5	FHFY-M6
pen78	pen77	pen76	pen75	pen74	pen73	pen72	pen71	pen70	pen69	pen68	pen67
FHFY-F4	Ross-M4	FHFY-F4	Lohman-F4	Ross-FM5	FHHY-F3	Ross-F3	FHFY-FM6	Lohman-M5	FHFY-F6	Ross-FM6	Lohman-M5
pen65	pen64	pen63	pen62	pen61	pen60	pen59	pen58	pen57	pen56	pen55	pen54
FHFY-FM4	FHHY-FM4	Ross-F4	FHHY-M4	Lohman-FM5	FHFY-F5	Lohman-FM6	Ross-M6	FHHY-FM6	FHFY-M6	FHHY-F6	Lohman-F5

그림 21. 실용계 교배조합 검정 배치도

나. 연구수행 결과

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후부터 주령까지의 체중, 사료섭취량, 정강이 길이를 1 주 간격으로 조사하였고 일당사료섭취량, 일당증체량, 사료요구율의 성적을 제시하였다.

(1) 0~850g 체중

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후부터 주령까지의 체중을 1주 간격으로 조사하고 이의 성적을 제시하였다. 분석결과 각 교배조합 내 성별 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 토종닭 교배조합간 에서도 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 토종닭 교배조합은 전체적으로 로스와 백세미에 비하여 유의적으로 낮은 성장을 보여주었다.

표 20. 교배조합별 0~850g 체중

Item	FHFY-F	FHFY-FM	FHFY-M	FHHY-F	FHHY-FM	FHHY-M	L-F	L-FM	L-M	Ross-F	Ross-FM	Ross-M	SEM	p-value
week 0	36.95	36.48	37.33	37.45	37.75	37.65	40.15	40.82	41.08	39.69	40.23	38.50	0.240	<0.01
Week 1	94.62	97.17	98.29	91.75	94.98	98.54	116.59	107.95	109.00	140.06	141.76	129.83	2.249	<0.01
Week 2	198.19	203.41	207.33	198.95	203.51	212.41	254.56	260.24	260.59	396.23	394.30	377.40	9.310	<0.01
Week 3	342.88	343.80	369.45	331.52	355.17	373.69	489.18	503.07	504.18	801.05	795.22	789.23	22.072	<0.01
Week 4	513.62	530.89	557.83	517.21	532.94	564.00	799.77	827.92	840.28	1363.80	1370.36	1332.57	40.515	<0.01
Week 5	718.59	722.57	780.46	711.83	725.76	765.26	1229.40	1226.83	1262.18	1930.29	1980.63	1887.45	59.304	<0.01
850g	886.04	889.76	970.67	876.28	893.38	937.31	1481.60	1481.82	1505.34	2344.29	2429.90	2368.99	72.627	<0.01

(2) 0-850g 일당증체량

분석 결과 각 교배조합 내 성별 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 전체적으로 체중과 유사한 경향을 나타내었다.

표 21. 교배조합별 0~850g 일당증체량

Item	FHFY-F	FHFY-FM	FHFY-M	FHHY-F	FHHY-FM	FHHY-M	L-F	L-FM	L-M	Ross-F	Ross-FM	Ross-M	SEM	p-value
Week 1	8.24	8.67	8.71	7.76	8.18	8.70	10.92	9.59	9.70	14.34	14.50	13.05	0.312	<0.01
Week 2	14.80	15.18	15.58	15.31	15.51	16.27	19.71	21.76	21.66	36.60	36.08	35.37	1.041	<0.01
Week 3	20.67	20.06	23.16	18.94	21.66	23.04	33.52	34.69	34.80	57.83	57.27	58.83	1.859	<0.01
Week 4	24.39	26.73	26.91	26.53	25.40	27.19	44.37	46.41	48.01	80.39	82.16	77.62	2.683	<0.01
Week 5	29.28	27.38	31.80	27.80	27.55	28.75	61.38	56.99	60.27	80.93	87.18	79.27	2.852	<0.01
850g	33.49	33.44	38.04	32.89	33.52	34.41	50.44	51.00	48.63	82.80	89.86	96.31	2.964	<0.01

(3) 0~850g 일당사료섭취량

분석 결과 각 교배조합 내 성별 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 토종닭 교배조합은 로스와 백세미에 비하여 낮은 사료섭취량을 보여주었다.

표 22. 교배조합별 0~850g 일당사료섭취량

Item	FHFY-F	FHFY-FM	FHFY-M	FHHY-F	FHHY-FM	FHHY-M	L-F	L-FM	L-M	Ross-F	Ross-FM	Ross-M	SEM	p-value
Week 1	10.11	10.16	10.49	9.31	9.55	9.91	18.17	16.92	17.47	15.21	15.21	13.72	0.448	<0.01
Week 2	35.02	29.81	31.36	33.28	30.48	37.46	61.64	61.02	63.73	57.70	60.02	57.53	1.846	<0.01
Week 3	58.63	66.05	62.84	41.50	53.19	62.30	85.91	78.92	73.04	99.69	101.19	95.40	2.514	<0.01
Week 4	74.85	78.92	74.60	81.06	72.98	78.83	107.41	113.30	129.41	151.48	150.05	155.29	4.112	<0.01
Week 5	103.01	102.93	112.02	101.68	101.16	112.83	141.17	135.38	139.52	160.19	167.06	163.64	3.212	<0.01
850g	110.30	122.74	121.81	108.64	110.60	133.78	146.58	144.08	142.92	163.99	174.61	178.91	3.255	<0.01

(4) 0~850g 사료요구율

사료요구율은 각 교배조합 내 성별 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 교배조합과 실용계 사이에서는 유의적 차이가 나타났다.

표 23. 교배조합별 0~850g 사료요구율

Item	FHFY-F	FHFY-FM	FHFY-M	FHHY-F	FHHY-FM	FHHY-M	L-F	L-FM	L-M	Ross-F	Ross-FM	Ross-M	SEM	p-value
Week 1	1.87	1.75	1.78	1.85	1.79	1.71	2.26	2.46	2.51	1.45	1.43	1.45	0.053	<0.01
Week 2	2.36	2.00	1.98	2.14	1.97	2.28	3.13	2.80	2.93	1.56	1.65	1.62	0.081	<0.01
Week 3	2.51	2.96	2.46	2.09	2.19	2.40	2.31	2.03	1.87	1.56	1.60	1.46	0.075	<0.01
Week 4	2.38	2.24	2.09	2.30	2.22	2.18	1.88	1.87	2.09	1.46	1.42	1.56	0.048	<0.01
Week 5	2.92	3.29	2.96	3.46	3.05	3.31	1.88	1.94	1.91	1.61	1.59	1.69	0.110	<0.01
850g	2.70	3.06	2.63	2.73	2.73	3.28	2.40	2.30	2.41	1.72	1.60	1.56	0.082	<0.01

5. 2종의 실용계(CC) 교배조합 생산 및 능력검정시험(2차)

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 교배조합 시험 설계

실용계(CC) 생산을 위한 PS 교배조합은 2019년 실험에서 선발된 2개 교배조합과 로스, 백세미를 추가하여 총 480 마리를 산육능력 검정(0~5주)을 실시하였다. 이번 산육능력 검정에 교배조합 구성은 표 1과 같으며 각 교배조합별 성별에 의한 조합이 끼치는 영향에 대하여 조사하기 위하여 시험을 수행하였다.

표 24. GSP 산육능력 검정에 교배조합 구성

암컷 수컷	FY			HY		
FH	FHFY (180)			FHHY (180)		
	Male (60)	Female (60)	Both (60)	Male (60)	Female (60)	Both (60)
Ross (control 1)	Ross (60)					
백세미 (control 2)	백세미 (60)					

(2) 실용계 사양관리

실험에서 사용된 공시동물은 5주간 battery cage (76cm × 61cm × 46cm)에서 실험을 수행하였다. Battery cage당 공시동물을 10수씩 배치하여 사육하였으며, 교배조합에 영향 하는 환경편차를 최소화하고자 동일 교배조합이 케이지 시설에 따라 고르게 분포되도록 관리하였다. 실험기간 동안 사료와 물을 자유로이 채식하도록 하였다. 점등은 부화 후 5주령까지 종야 점등을 실시하였으며, 점등 광도는 25Lux를 유지하였다. 계사의 온도는 부화 후 1주일 동안은 32±2℃를 유지하였으며, 이후 1주일 동안 3℃씩 온도를 하강하여 5주령부터는 20±2℃를 유지하였다. 습도는 1주령은 70±5%, 2주령은 65±5%, 이후로는 60±5%를 유지하였다. 사육 단계별 사료 급여 형태는 육계 초기(CP 20.0%, ME 3,050kcal/kg), 전기(CP 18.0%, ME 3100kcal/kg), 후기(CP 16.0%, ME 3,100kcal/kg)로 나뉘며 무제한 급여하였다.

표 25. 실용계 사료 프로그램

급여기준	사료	비고
부화 후 1~7일	초이	6포/1,000수
부화 후 8일령~800g이하	전기	35일령~40일령
800g이상~출하	후기	

표 26. 실용계 백식프로그램

일령	백신(상호명)	접종방법	비고
1	MD,ND	피하주사/분무	부화장 접종
12	IBD(GUMBORO D78)	음수(4시간)	
17	ND,IB(MA5+CLONE30)	음수(4시간)	
22	IBD(GUMBORO D78)	음수(4시간)	
27	ND,IB(MA5+CLONE30)	음수(4시간)	

※비고: 백신 후 스트레스 예방제 음수 투여(여름철 시간제약 없음)

pen13	pen12	pen11	pen10	pen9	pen8	pen7	pen6	pen5	pen4	pen3	pen2
pen26	pen25	pen24	pen23	pen22	pen21	pen20	pen19	pen18	pen17	pen16	pen15
FHFY-M1	Ross-FM1	FHHY-M1	Lohman-F1	FHFY-F2	Lohman-FM1	Ross-M2	Lohman-M1	FHHY-M3	Lohman-F3	Ross-FM2	FHFY-M3
pen39	pen38	pen37	pen36	pen35	pen34	pen33	pen32	pen31	pen30	pen29	pen28
Ross-M1	FHFY-FM1	Ross-F1	Lohman-M2	FHHY-FM1	FHFY-M2	FHHY-F2	Lohman-F2	Ross-F2	FHHY-FM3	FHFY-FM3	Ross-M3
pen52	pen51	pen50	pen49	pen48	pen47	pen46	pen45	pen44	pen43	pen42	pen41
FHFY-F1	FHHY-F1	Lohman-M1	FHHY-M2	FHFY-F3	Ross-FM2	FHFY-FM2	FHHY-FM2	Lohman-FM2	FHHY-F3	Lohman-FM3	Ross-F3
pen104	pen103	pen102	pen101	pen100	pen99	pen98	pen97	pen96	pen95	pen94	pen93
pen91	pen90	pen89	pen88	pen87	pen86	pen85	pen84	pen83	pen82	pen81	pen80
Ross-FM4	FHFY-M4	Lohman-M4	FHFY-FM5	Lohman-FM4	FHHY-FM5	FHFY-M5	Ross-M5	FHHY-M5	Lohman-F5	Ross-F6	FHHY-M6
pen78	pen77	pen76	pen75	pen74	pen73	pen72	pen71	pen70	pen69	pen68	pen67
FHHY-F4	Ross-M4	FHFY-F4	Lohman-F4	Ross-FM5	FHHY-F5	Ross-F5	FHFY-FM6	Lohman-M5	FHFY-F6	Ross-FM6	Lohman-M6
pen65	pen64	pen63	pen62	pen61	pen60	pen59	pen58	pen57	pen56	pen55	pen54
FHFY-FM4	FHHY-FM4	Ross-F4	FHHY-M4	Lohman-FM5	FHFY-F5	Lohman-FM6	Ross-M6	FHHY-FM6	FHFY-M6	FHHY-F6	Lohman-F6

그림 22. 실용계 교배조합 검정 배치도

나. 연구수행 결과

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후부터 주령까지의 체중, 사료섭취량, 정강이 길이를 1주 간격으로 조사하였고 일당사료섭취량, 일당중체량, 사료요구율의 성적을 제시하였다.

(1) 0~5주령 체중

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후부터 주령까지 체중을 1주 간격으로 조사하고 이의 성적을 제시하였다. FHFY 교배조합은 3주령부터 성별 간 체중의 유의적인 차이가 나타났으며 FHHY 교배조합 또한 3주령부터 성별 간 유의적인 차이가 나타났다. 다만 두 교배조합 모두 백세미와 로스와 비교하여 유의적으로 낮은 성장 성상을 보여주었다.

표 27. 교배조합별 0~5주령 체중

Item	FHFY-F	FHFY-FM	FHFY-M	FHHY-F	FHHY-FM	FHHY-M	White-semi	Ross	SEM	p-value
Week 0	40.20a	40.50a	40.42a	39.18a	40.20a	39.70a	42.73b	44.52c	0.159	<0.001
Week 1	128.92a	133.67ab	132.67ab	128.62a	131.88ab	133.03ab	127.10a	136.42b	0.608	0.002
Week 2	253.28ab	265.58abc	268.07bc	249.27a	265.41abc	263.31abc	281.33c	353.38d	2.084	<0.001
Week 3	442.09a	467.95bc	486.98c	450.77ab	456.84ab	482.69c	514.72d	769.37e	5.458	<0.001
Week 4	658.70a	713.00abc	760.47cd	683.92a	697.24ab	746.45bc	806.48d	1242.07e	9.282	<0.001
Week 5	810.36a	904.77bc	979.34d	862.67b	914.61c	963.62d	1064.03e	1748.91f	14.129	<0.001

(2) 0~5주령 정강이 길이

정강이 길이 또한 체중과 유사한 경향을 보여주었으며, 특히 정강이 길이에서는 2주령부터 성별간의 유의적인 차이가 나타나기 시작하였다. 또한, 두 교배조합 중 FHFY 암컷 교배조합을 제외하고는 백세미와 유의적으로 같거나 더 높은 정강이 길이를 보여주었다.

표 28. 교배조합별 0-5주령 정강이 길이

Item	FHFY-F	FHFY-FM	FHFY-M	FHHY-F	FHHY-FM	FHHY-M	White-semi	Ross	SEM	p-value
Week 1	38.02abc	38.75bc	38.97bc	38.28bc	38.56bc	39.17c	38.00ab	37.02a	0.100	<0.001
Week 2	49.47ab	50.52abc	51.28c	49.13a	50.80bc	50.95bc	49.65ab	50.17abc	0.126	<0.001
Week 3	59.09a	61.77cd	62.29d	60.12ab	61.52cd	62.59d	60.90bc	63.98e	0.172	<0.001
Week 4	68.32a	71.20b	73.83c	68.15a	69.95b	73.29c	70.38b	74.19c	0.228	<0.001
Week 5	75.36a	77.75b	80.73c	76.98b	77.72b	80.59c	78.37b	80.64c	0.217	<0.001

(3) 0~5주령 일당 사료섭취량

일당 사료섭취량은 FHFY 교배조합에서는 2주령부터, FHHY 교배조합에서는 3주령부터 성별 간 유의적인 차이가 나타나기 시작했다. 다만 로스와 비교하여 유의적으로 낮은 섭취량을 보여주었다.

표 29. 교배조합별 0~5주령 일당사료섭취량

Item	FHFY-F	FHFY-FM	FHFY-M	FHHY-F	FHHY-FM	FHHY-M	White-semi	Ross	SEM	p-value
Week 1	21.45b	21.63b	21.42b	21.65b	21.77b	21.80b	21.44b	17.82a	0.201	<0.001
Week 2	35.17a	37.37ab	40.42b	35.95a	39.05ab	36.78ab	46.91c	46.91c	0.755	<0.001
Week 3	50.12a	51.88ab	58.63b	51.93ab	51.83ab	56.35ab	51.71ab	79.69c	1.526	<0.001
Week 4	63.69a	73.21b	75.91b	70.88ab	69.77ab	77.45b	78.14b	103.75c	1.885	<0.001
Week 5	66.78a	68.74a	77.12b	68.66a	76.19b	78.26bc	85.06c	135.80d	3.178	<0.001
Week 1-5	47.44a	50.57ab	54.70cd	49.81ab	51.72bc	54.13cd	56.65d	76.80e	1.305	<0.001

(5) 0-5주령 일당 증체량

일당 증체량 역시 체중과 유사한 경향을 보여주었다. 두 교배조합 모두 3주령부터 성별 간 유의적인 차이가 나타나기 시작하였으며, 로스와 비교하여 유의적으로 낮은 일당 증체량을 보여주었다.

(6) 1차, 2차 시험 종합결론

본 연구에서 성별에 따른 조합이 성장 성상에 끼치는 영향을 알아보기 위하여 2종의 실용계(CC) 생산을 위한 PS교배조합 검정 시험을 수행한 결과 1차 시험에서는 성별 간 유의적 차이가 나타나지 않았으나 2차 시험에서는 교배조합의 성장 성상에서 성별 간 유의적인 차이가 나타났으며, 3주령 이후부터는 각 교배조합에서 성별 간의 유의적 차이가 뚜렷하게 나고 있음을 확인하였다.

6. 최종 선발 실용계(CC) 교배조합의 산육능력 검정

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 교배조합 시험 설계

실용계(CC) 생산을 위한 PS 교배조합은 최종선발된 FHFY 교배조합과 로스, 백세미를 사용, 총 240마리를 대상으로 산육능력검정(0~5주)을 실시하였다. 이번 산육능력 검정에 교배조합 구성은 표 30과 같으며 최종 선발된 교배조합의 성장능력을 실용계와 비교 조사하기 위하여 시험을 수행하였다.

표 30. GSP 산육능력 검정에 교배조합 구성

\ 암컷 수컷	FY		
FH	FHFY (144)		
	Male (48)	Female (48)	Both (48)
Ross (control 1)	Ross (48)		
백세미 (control 2)	백세미 (48)		

(2) 실용계 사양관리

실험에서 사용된 공시동물은 5주간 battery cage (76cm × 61cm × 46cm)에서 실험을 수행하였다. Battery cage당 공시동물을 10수씩 배치하여 사육하였으며, 교배조합에 영향 하는 환경 편차를 최소화하고자 동일 교배조합이 케이지 시설에 따라 고르게 분포되도록 관리하였다. 실험기간 동안 사료와 물을 자유로이 채식하도록 하였다. 점등은 부화 후 6주령까지 종야 점등을 실시하였으며, 점등 광도는 25Lux를 유지하였다. 계사의 온도는 부화 후 1주일 동안은 32±2℃를 유지하였으며, 이후 1주일 동안 3℃씩 온도를 하강하여 5주령부터는 20±2℃를 유지하였다. 습도는 1주령은 70±5%, 2주령은 65±5%, 이후로는 60±5%를 유지하였다. 사육 단계별 사료급여 형태는 육계 초기(CP 20.0%, ME 3,050kcal/kg), 전기(CP 18.0%, ME 3100kcal/kg), 후기(CP 16.0%, ME 3,100kcal/kg)로 나뉘며 무제한 급여하였다.

표 31. 실용계 사료 프로그램

급이기준	사료	비고
부화 후 1~7일	초이	6포/1,000수
부화 후 8일령~800g이하	전기	35일령~40일령
800g이상~출하	후기	

표 32. 실용계 백식프로그램

일령	백신(상호명)	접종방법	비고
1	MD,ND	피하주사/분무	부화장 접종
12	IBD(GUMBORO D78)	음수(4시간)	
17	ND,IB(MA5+CLONE30)	음수(4시간)	
22	IBD(GUMBORO D78)	음수(4시간)	
27	ND,IB(MA5+CLONE30)	음수(4시간)	

나. 연구수행 결과

교배조합별 전 개체를 대상으로 부화 후부터 주령까지 체중, 사료섭취량, 정강이 길이를 1주간격으로 조사하였고 일당사료섭취량, 일당증체량, 사료요구율의 성적을 제시하였다. 체중에서는 교배조합 내 성별간 유의적인 차이가 있었으며, 특히 35일령 교배조합 수컷 체중에서 백세미와 통계적으로 유사한 체중을 보여주었다. 정강이 길이는 교배조합이 백세미나 로스와 비교해도 떨어지지 않는 모습을 보여주었다. 최종 선발된 교배조합 FHFY는 최초 목표인 35일령 평균 체중을 850g을 초과 달성하여 최대 1,049g을 보여주었다.

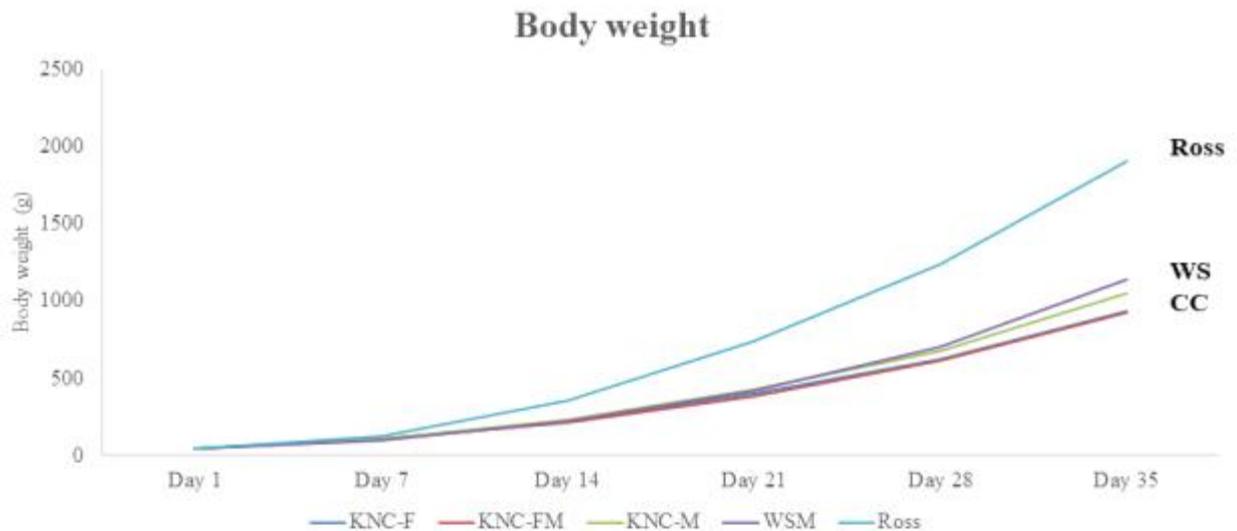


그림 23. 최종 실용계 교배조합의 1~35일령 체중

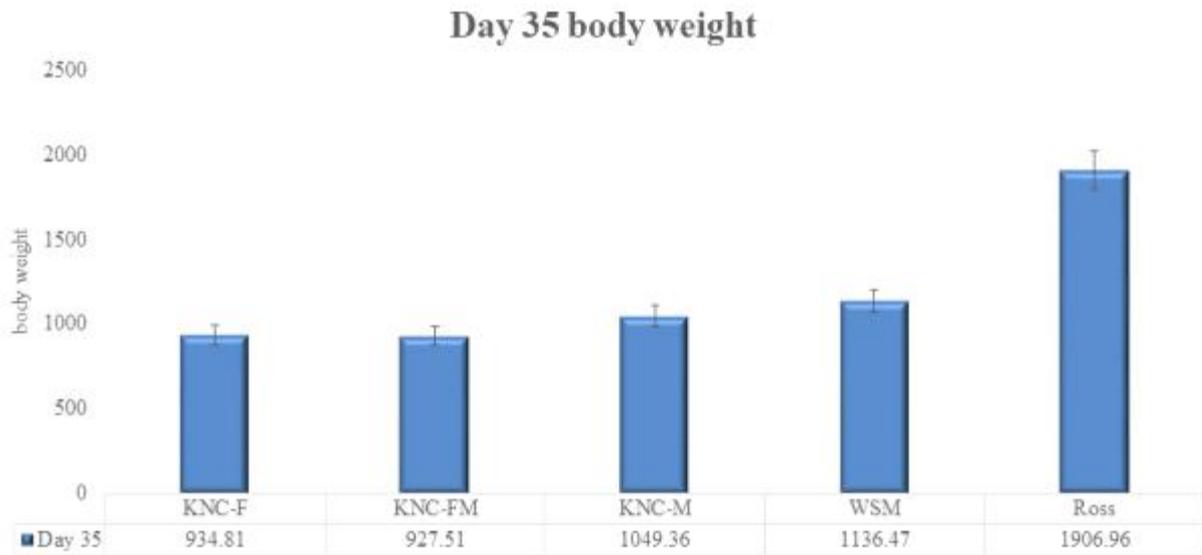


그림 24. 최종 실용계 교배조합의 1~35일령 일당증체량

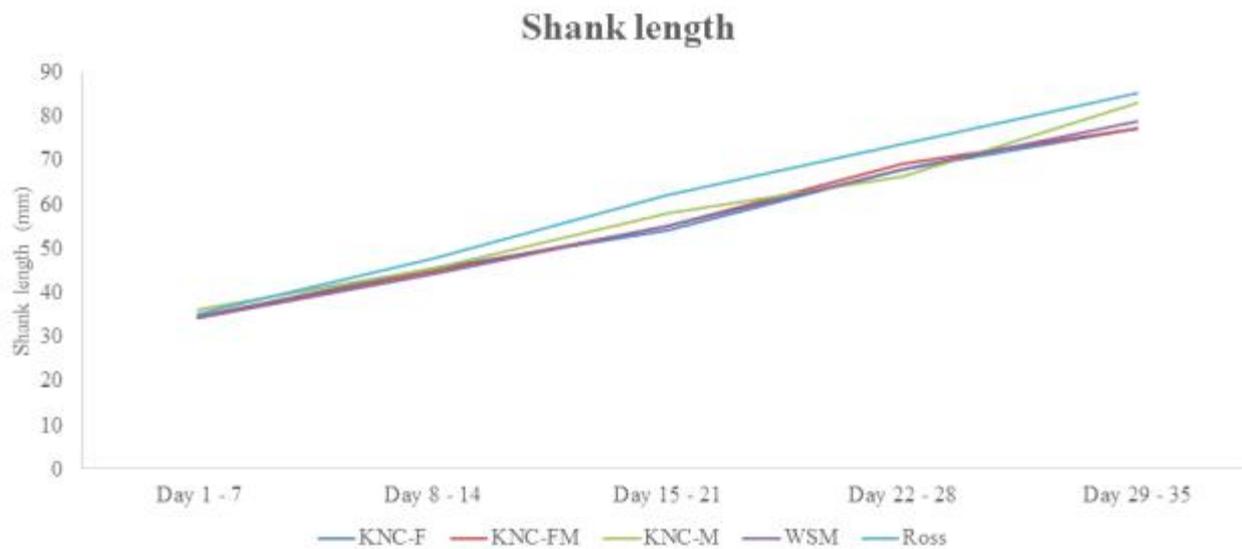


그림 25. 최종 실용계 교배조합의 1~35일령 일당증체량

제 5절 토종닭 개체 및 집단식별 분자표지 개발과 검증체계 구축

1. 수입품종과 신품종 국산 종계를 구분하기 위한 추가 SNP마커의 탐색

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

1단계 연구내용에서 Cobb 및 Ross 품종의 일부 샘플이 계품종 토종종계 품종과 구분되지 않는 부분을 보완하기 위해 시중에 유통 중인 육용(Ross, Cobb, Abor Acres) 및 산란계(Lohmann Brown, Hyline Brown) 샘플과 한협외의 추가 유전자형 분석이 필요한 품종(HA, HZ, HY)의 샘플을 채취하여 DNA를 추출하였다(Table 1).

Table 1. Number of samples collected and the experimental samples.

Breed	No. of sample	experiment sample
Ross	103	12
Cobb	48	12
Abor Acres	21	10
Lohmann Brown	48	10
Hyline Brown	55	10
Hanhyup A	18	13
Hanhyup Z	20	15
Hanhyup Y	19	14
Total	332	96

(2) 대량 SNP 유전자형 분석 및 SNP선발

600K 대량 SNP 분석은 Axiom genome-wide chicken array를 이용하여 600K SNP 유전자형을 확인하였으며, 새로 추출한 샘플을 조합하여 총 96개 샘플을 추가 분석하였다(Figure 1). 실험의 수행 과정은 target prep, hybridization 후에 genotype의 신호를 GeneTitan instrument를 이용해 스캐닝하여 genotype의 정보를 얻은 후, Genotyping Console™을 이용하여 이미지를 분석하여 genotype을 얻어내었으며, plink 등의 툴을 이용하여 QC를 수행했다.

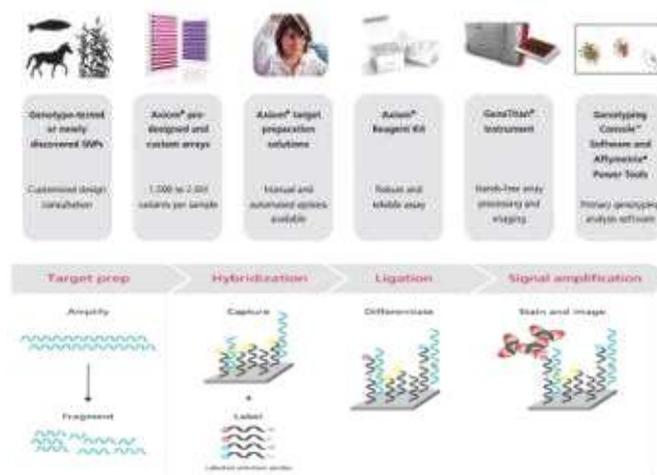


Figure 1. The example steps for 600K high-density SNP genotype array.

(3) 품종구분을 위한 SNP 마커의 선발

품종구분을 위한 SNP 마커의 선발 방법에는 우선, QC를 마친 유전자형 정보를 이용해 개체별 allele의 분포를 확인하였고, missing SNP를 제거한 후에 한협 품종의 주요 계통인 HH, HF를 구분할 수 있는 SNP 마커를 탐색하였다. SNP 마커를 선발하기 위해서는 Plink를 이용해 case-control association 후 chi-square로 정렬한 후, blocks 옵션을 사용해 LD block을 확인하였다. 이 후 LD block당 하나의 마커가 존재하도록 조정된 후 산출된 p-value 값을 순서로 96개의 SNP를 선발하였다(Figure 2).

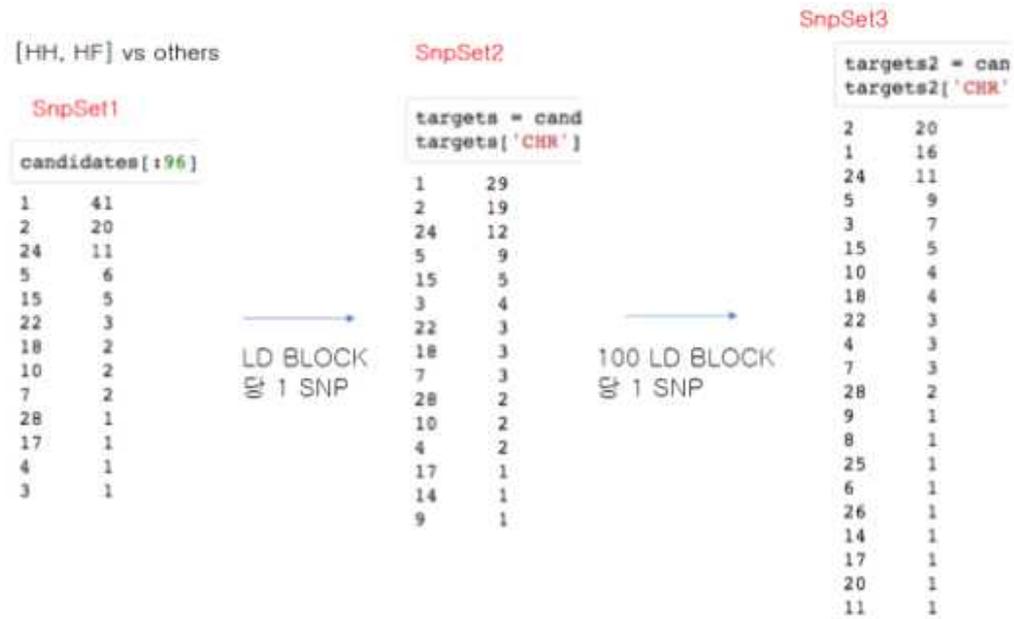


Figure 2. Diagram of SNP selection set for breed discrimination. In this study, the LD status was used for the efficient SNP selection.

나. 연구수행 결과

1단계 연구과제에서 Ross와 Cobb의 실용 육용계 샘플이 구분되지 않는 결과를 보완하기 위해서 시중에 유통중인 실용 육용계(Ross, Cobb, Abor Acres)와 난용계(Lohmann Brown, Hyline Brown)의 추가 샘플을 확보하고, 한협에서 주요한 품종으로 유전자형 분석이 필요한 계통(HA, HY, HZ)의 추가샘플을 확보해 96개 샘플을 구성해 600K SNP 유전자형을 분석하였다. 유전자형 분석 결과 모든 샘플의 유전자형이 고르게 확보된 것을 확인할 수 있었다(Figure 3).

확보된 대량 SNP를 Plink 프로그램을 이용해 QC를 수행하고 multi-dimensional scaling(MDS) 분석을 수행한 결과 난용계인 Hyline-Brown, Lohmann Brown과 육용계인 Ross, Cobb, Abor Acres는 서로 비슷한 위치에 존재하여 혼합되는 결과를 나타내며 품종간 독립적인 클러스터링이 잘 되지 않는 것을 확인할 수 있었다(Figure 4). 이렇게 확인된 1년차 결과를 1단계 연구결과와 병합해서 확인해 보았을 때 새롭게 분석된 일부 품종 및 계통들이 본 연구에서 주요 GSP 순계 집단으로 설정한 HH, HF 계통에 함께 클러스터링 되는 결과를 확인할 수 있었다. 여기에 함께 클러스터링 되는 품종은 Cobb, Ross, Abor Acres 품종으로서 이 품종들은 유전적 거리가 상대적으로 가까워서 1단계 연구결과에서 해당 품종들이 구분이 되지 않은 이유를 확인할 수 있었다.

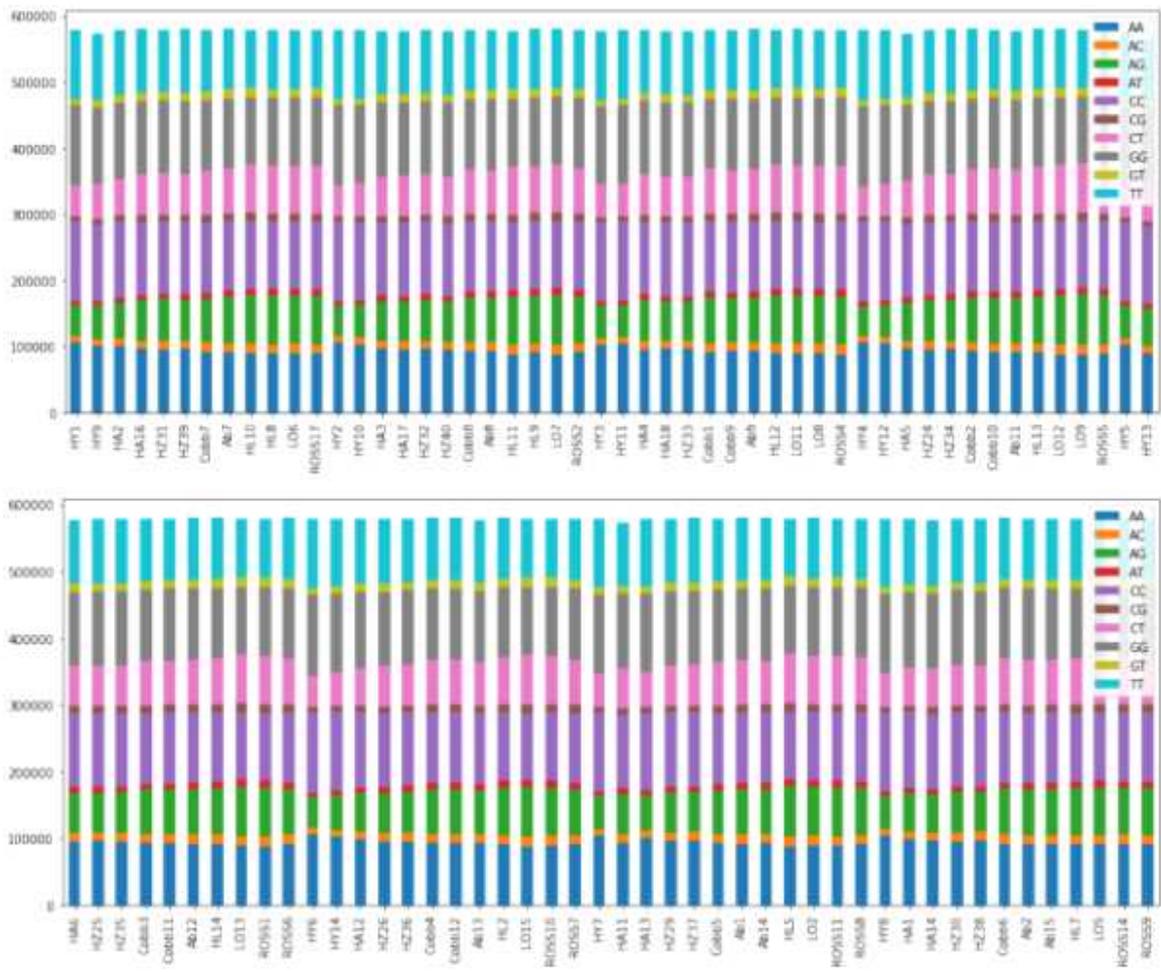


Figure 3. 600K SNP genotyping results.

위의 1단계 및 1년차 연구결과를 병합하여 1사분면과 2사분면의 관점에서 확인한 연구결과 한협의 HH, HF 계통이 육계 품종과 클러스터를 공유하며 혼합된 모습을 확인할 수 있었지만 (Figure 5), 2사분면과 3사분면의 관점으로 다시 확인했을 때는 한협의 샘플들이 일부 육용계 품종과 유전자형을 공유하고 있는 것으로 추정되지만 상대적으로 유전적 거리가 먼 것으로 확인되었다. 이 결과로 추가분석한 샘플의 유전자형을 이용해 SNP 마커를 선발하면 육용계 집단과 중복되는 부분을 제거하면서 품종 특이 SNP를 선발할 수 있는 가능성을 확인할 수 있었다(Figure 6).

품종구분의 가능성을 확인한 결과로 품종을 대표할 수 있는 SNP를 선발하기 위해서 Plink software를 이용해 case(HH, HF)와 control 집단(HH, HF를 제외한 다른 품종들)에 대한 association 분석을 수행하였고, 이 결과를 chi-square로 정렬하여 LD block 당 하나로 총 96개의 SNP 마커를 선발하였다(Figure 7).

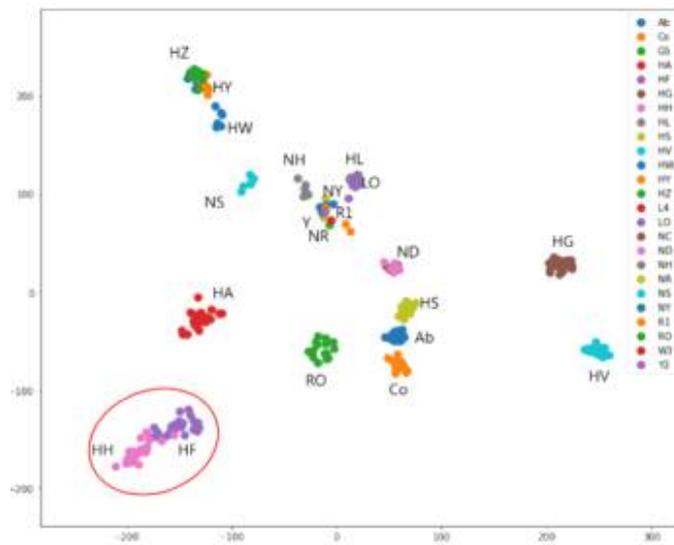


Figure 6. MDS plot using all of collected samples at second and third quadrants dimension.

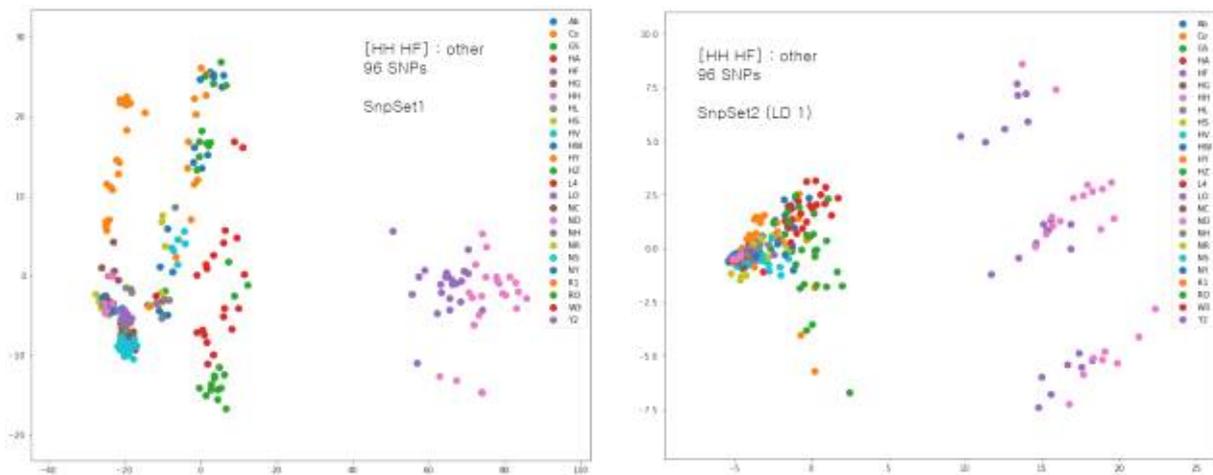


Figure 7. The result for selected SNP set1 and set2 results.

Case-control association의 p-value를 기준으로 SNP set 2가지를 선발하여 품종의 클러스터링을 살펴본 결과 SnpSet2가 클러스터링이 잘 되는 것을 확인하여 LD 블록의 사이즈에 따른 품종 구분력을 확인하였다(Figure 8).

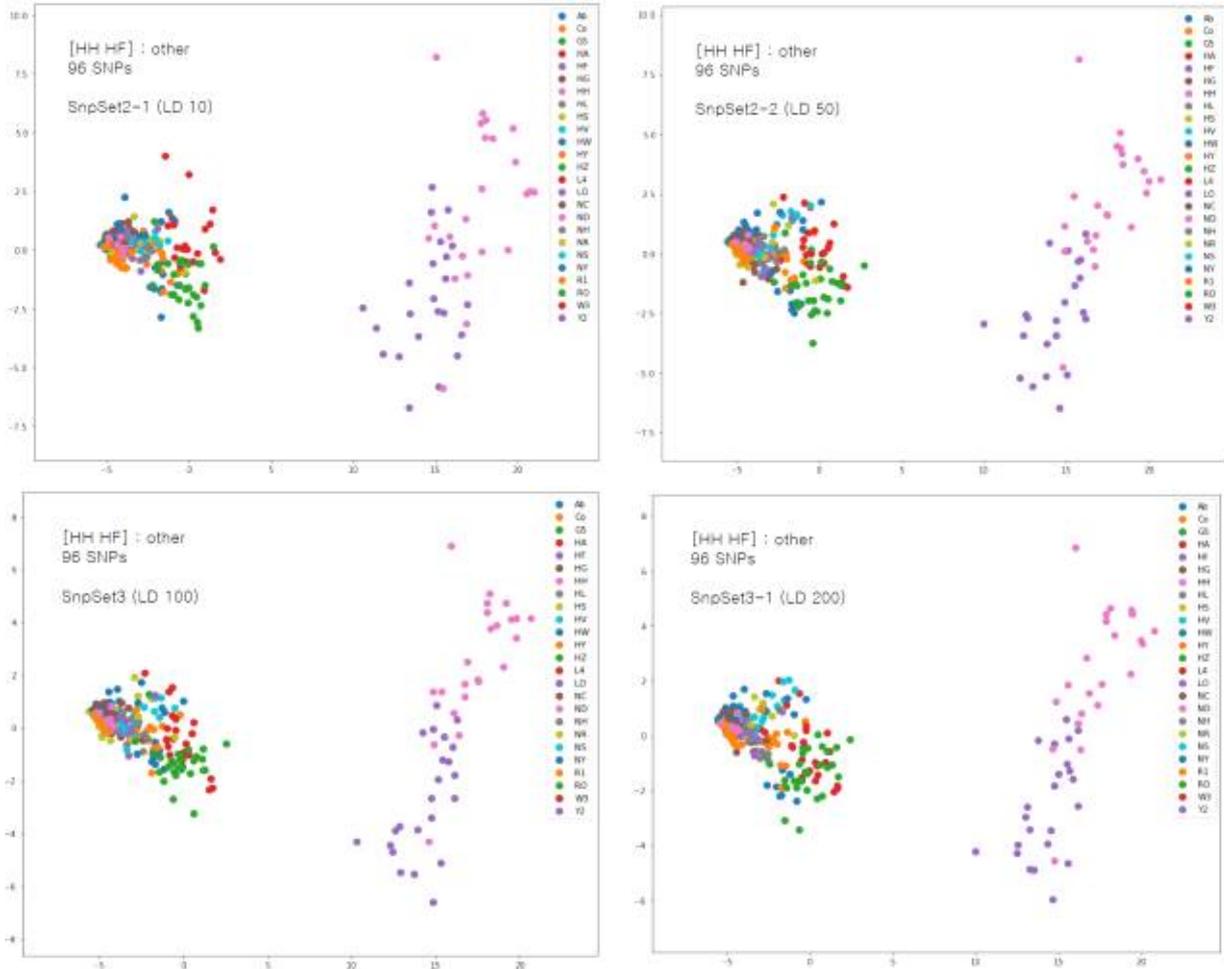


Figure 8. Selected SNP set2 results for different LD block sizes.

그 결과 LD block 50의 사이즈가 최적의 클러스터링을 보여 SnpSet2의 LD 50으로 마커 세트를 확정하였다. LD block 50의 사이즈로 96개의 SNP마커를 선발한 set2-2의 결과 96개 SNP의 대다수가 1번 염색체에 몰려있는 set2의 결과와 달리 전반적으로 SNP들이 각각의 염색체에 고루 분포하였다. 1번 염색체에서 19개, 2번 염색체에서 18개, 3번 염색체에서 7개, 5번 염색체에서 8개, 3번 염색체에서 7개, 15번 염색체에서 6개, 24번 염색체에서 10개, 4, 10 및 18번 염색체에서 각각 4개, 7 및 22번 염색체에서 3개, 28번 염색체에서 2개, 그리고 6, 8, 9, 11, 14, 17, 20 및 25번 염색체에서 각각 1개씩 총 96개의 SNP마커가 선발되었다.

선발된 96개의 SNP마커 세트는 1단계에서 확보한 SNP마커 조합과 30개가 중복되는 것으로 확인되었으며, 이 들 마커는 신품종 토종종계를 구분할 수 있는 결정적인 마커로 활용이 가능할 것으로 판단된다. 더불어, 추가로 선발된 66개의 SNP 마커는 검증을 통해 시중에 유통 중인 실용계 집단과 신품종 토종종계를 구분할 수 있는 추가 SNP마커로 활용이 가능할 것으로 예상되었다(Figure 9). 확정된 96개의 SNP 마커를 활용해 SNP 개수에 따른 품종 구분력을 확인한 결과 20개 SNP 마커 세트 이상에서 품종 구분의 효과가 나타날 수 있는 결과를 확인

할 수 있었다(Figure 10).

	CHR	SNP	BP	A1	F_A	F_U	A2	CHISQ	P	OR	Unnamed: 10	block
528671	24	AX-80996298	3197370	C	0.9239	0.09751	G	297.9	9.243000e-67	112.40	NaN	94252.0
528623	24	AX-76307217	3156469	T	0.8152	0.06818	C	283.2	1.520000e-63	60.29	NaN	94242.0
281548	5	AX-76798646	22318499	G	0.8696	0.09091	A	277.5	2.898000e-62	66.67	NaN	50289.0
138620	2	AX-76160487	80330589	G	0.5761	0.01033	A	273.2	2.224000e-61	130.20	NaN	NaN
16590	1	AX-75427127	31677714	A	0.5652	0.01033	G	266.9	5.256000e-60	124.50	NaN	3059.0
138615	2	AX-76160472	80319772	A	0.5652	0.01033	G	266.9	5.256000e-60	124.50	NaN	24615.0
16537	1	AX-75426925	31582032	C	0.6304	0.02311	T	266.5	6.696000e-60	72.11	NaN	3050.0
475833	18	AX-75887276	1073313	C	0.7717	0.07231	T	251.8	1.028000e-56	43.37	NaN	NaN
459099	15	AX-75838335	5837883	C	0.6957	0.04792	T	251.2	1.447000e-56	45.42	NaN	82182.0
463578	15	AX-75818885	10948349	T	0.7609	0.07054	C	248.2	6.545000e-56	41.93	NaN	83018.0
118281	2	AX-76077137	33945290	T	0.8804	0.12400	C	239.3	5.611000e-54	52.04	NaN	21194.0
17062	1	AX-75428941	32633530	C	0.5652	0.02066	T	238.7	7.693000e-54	61.62	NaN	3115.0
17032	1	AX-75428829	32560632	T	0.5652	0.02066	C	238.7	7.693000e-54	61.62	NaN	3111.0
17068	1	AX-75428967	32644388	A	0.5652	0.02066	G	238.7	7.693000e-54	61.62	NaN	3116.0
528730	24	AX-76307553	3240959	A	0.7889	0.08678	G	236.6	2.157000e-53	39.33	NaN	NaN
17042	1	AX-75428868	32591090	A	0.5652	0.02273	C	233.6	1.002000e-52	55.90	NaN	3113.0
204506	3	AX-76535428	68491734	C	0.5326	0.01653	T	230.9	3.770000e-52	67.80	NaN	NaN
16240	1	AX-75425816	31014454	A	0.6957	0.05992	G	230.8	4.052000e-52	35.86	NaN	2993.0
291682	5	AX-80875346	41386516	C	0.7609	0.08264	G	230.2	5.509000e-52	35.32	NaN	52135.0
548473	28	AX-76388478	737078	C	0.7065	0.06405	A	229.7	6.765000e-52	35.18	NaN	97543.0
463534	15	AX-75818747	10907261	A	0.8478	0.11780	G	229.6	7.238000e-52	41.74	NaN	NaN
16547	1	AX-75426954	31600377	C	0.6304	0.04132	T	229.2	9.115000e-52	39.58	NaN	3053.0
17075	1	AX-75428994	32657806	G	0.5652	0.02479	A	228.6	1.204000e-51	51.13	NaN	3117.0
228810	4	AX-76674763	4692921	G	0.7717	0.09091	T	224.3	1.069000e-50	33.61	NaN	NaN

Figure 9. Selected SNP marker list using association and chi-square p-values.

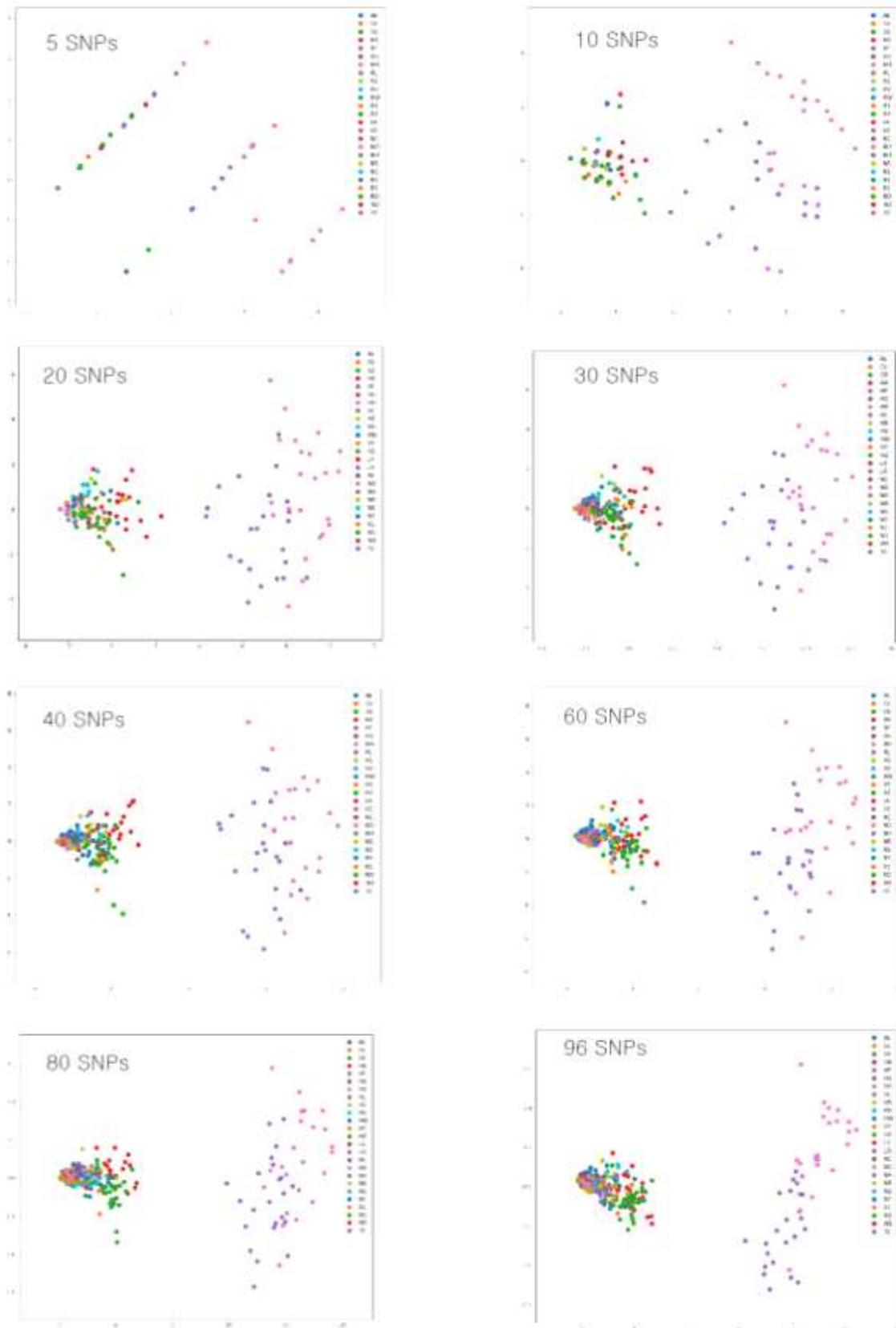


Figure 10. Breed discrimination powers for different number of SNP markers.

마커의 효율을 더욱 정확하게 추정하기 위해 가상의 유전자형 집단을 만드는 시뮬레이션을 수행하였다. 그림 10에서 보는 바와 같이 유전자형을 분석한 집단은 회색 박스로 표기되었으며 가상의 집단은 파란색 박스로 표기하였다. 또한 case의 경우 박스 내로 표기를 하여 HH 또는 HF 유래의 집단을 나타내었으며 모든 다른 교잡 집단은 control 로 표기를 하여 분석을 수행하였다(Figure 11).

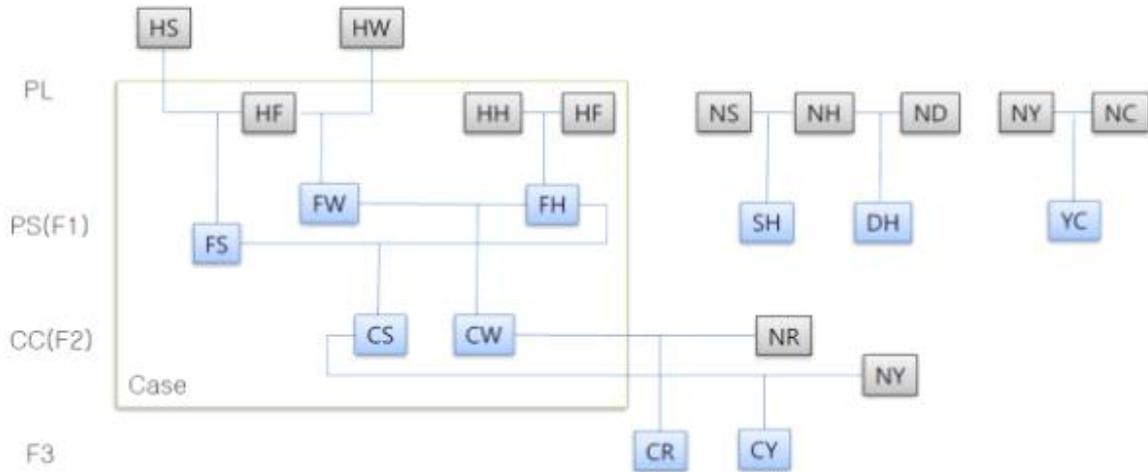


Figure 11. Virtual pedigree for validation of selected SNP marker combination.

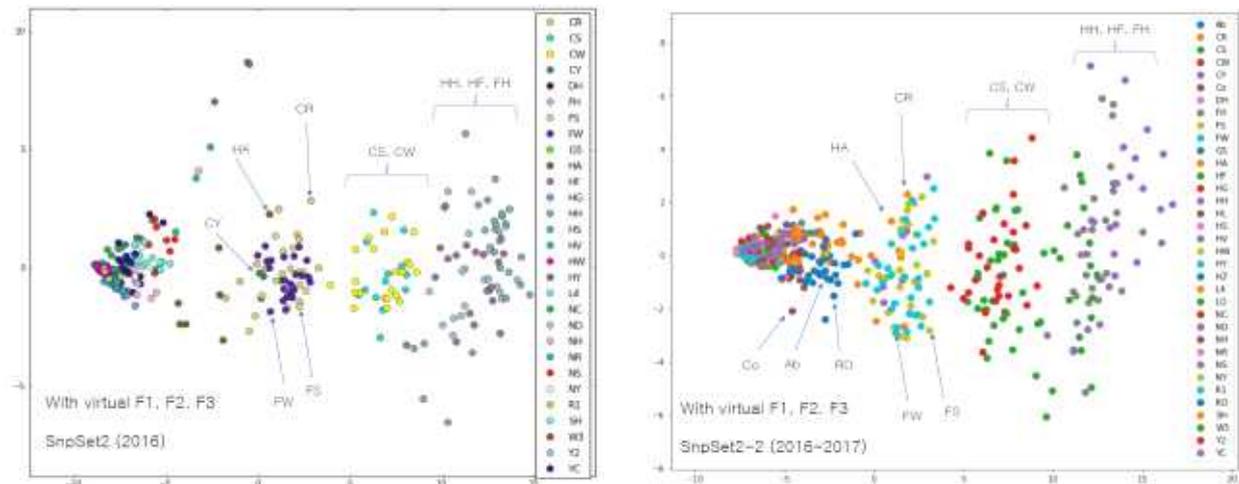


Figure 12. MDS plot using virtual pedigree genotypes.

가상의 집단의 유전자형을 활용한 MDS plot을 확인한 결과 1단계 연구결과와 유사한 연구결과를 확인할 수 있었다. HH와 HF 집단은 오른쪽에 위치하였으며 이와 교잡의 정도가 많을수록 control과 더 가까워지는 것을 확인할 수 있었다(Figure 12). 이 결과는 교잡이 많이 되면 많이 될수록 선택된 품종 구분 마커의 정확도가 떨어짐을 의미하기도 한다.

2. 최적의 MS마커 조합에 대한 표준화된 조건 확립

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

(주)한협원종 보유 순계(PL) 7 계통(A, F, H, S, W, Y, Z)과 국내 토종 실용계 한협3호, 우리 맛닭1호, 2호, 그리고 실용육계로 널리 알려진 로스(Ross), 코브(Cobb), 아바에이커(Arbor Acres) 품종에서 총 566수를 공시재료로 하여 최적의 Microsatellite marker(MS) 마커 조합 및 표준화된 Multiplex PCR 조건 검증 실험을 실시하였다 (Table 2).

Table 2. Description of the 13 chicken breeds used in the present study.

Breed	No. of Sample	Breed	No. of Sample
Hanhyup A line	17	Hanhyup No. 3	98
Hanhyup F line	48	Woorimatdag No. 1	50
Hanhyup H line	48	Woorimatdag No. 2	46
Hanhyup S line	72	Ross	17
Hanhyup W line	72	Cobb	17
Hanhyup Y line	46	Arbor Acres	15
Hanhyup Z line	20		

(2) MS marker 조합 선발

1단계 과제수행을 통해 각 9종의 MS 마커조합 내에서 16 MS 마커가 선발되었으며 각각의 대립유전자의 크기와 Dye, 다형성 정보 지수(PIC) 등을 고려하여 한 번에 Multiplex PCR을 수행할 수 있는 최적의 12 MS 마커 조합을 선발하였다.

(3) Multiplex PCR 및 유전자형 분석

증폭된 PCR 산물은 농도에 따라서 Hi-DiTM formamide로 희석한 후, GeneScanTM-500LIZTM size standard와 혼합하여 Heating과 Icing 과정을 거쳐 단일가닥으로 유지하였다. 그 후, Genetic Analyzer 3130xl (Applied Biosystems, USA) 장비를 사용하여 Fragment analysis를 수행하였고, GeneMapper ver 4.1 (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 MS marker별 대립유전자의 크기를 결정하였다.

(4) 통계 분석

MS Toolkit software(Park, 2000)와 Cervus ver 3.0(Marshall et al., 1998) 프로그램을 이용하여 대립유전자의 수(No. of allele), 기대이형접합율(expected heterozygosity, HExp), 관측이형접합율(observed heterozygosity, HObs), 다형성정보지수(Polymorphism information content, PIC)를 분석하였다. API-CALC ver 1.0(Ayres and Overall, 2004) 프로그램을 사용하여 동일 개체 출현빈도를 분석하였으며, 집단 간의 유전적 상관관계를 확인하기 위해 각 마커별 대립유전자 빈도를 기반으로 PCoA (Principal Components Analysis) 분석을 실시하였다. PCoA 분석은 GenAlEx 6.4 (Peakall and Smouse, 2006) 프로그램을 이용하였다.

나. 연구수행 결과

(1) 최적의 MS마커 조합 확립

1단계 과제수행을 통해 두 그룹의 MS 마커 조합을 선발하였으며 각 그룹은 9종의 MS 마커가 포함되어 있다. 중복되는 2종의 MS 마커를 포함하여 총 16 MS 마커가 선발되었다. 대립유전자의 크기, 형광 Dye, PIC 등을 고려하여 한 번에 Multiplex PCR이 가능한 12 종의 MS 마커 조합(ADL0293, ADL0304, ADL0317, GCT0016, LEI0094, MCW0029, MCW0087, MCW0104, MCW0123, MCW0127, MCW0145, MCW0330)을 확립하였다 (Table 3).

Table 3. Primer information for 12 selected microsatellite markers in the study.

No	Marker	Chr.		Primer	Size	Dye
1	ADL0293	17	F	GTAATCTAGAAACCCCATCT	107-127	PET
			R	ACATACCGCAGTCTTTGTTC		
2	ADL0304	18	F	GGGGAGGAACTCTGGAAATG	138-162	FAM
			R	CCTCATGCTTCGTGCTTTTT		
3	ADL0317	4	F	AGTTGGTTTCAGCCATCCAT	178-204	NED
			R	CCCAGAGCACACTGTCACTG		
4	GCT0016	9	F	TCCAAGGTTCTCCAGTTC	108-168	NED
			R	GGCATAAGGATAGCAACAG		
5	LEI0094	4	F	GATCTCACCAGTATGAGCTGC	232-282	FAM
			R	TCTCACACTGTAACACAGTGC		
6	MCW0029	5	F	GTGGACACCCATTTGTACCCTATG	131-187	VIC
			R	CATGCAATTCAGGACCGTGCA		
7	MCW0087	2	F	ATTTCTGCAGCCAACCTTGGAG	265-289	NED
			R	CTCAGGCAGTTCTCAAGAACA		
8	MCW0104	13	F	TAGCACAACCTCAAGCTGTGAG	192-232	PET
			R	AGACTTGCACAGCTGTGTACC		
9	MCW0123	14	F	CCACTAGAAAAGAACATCCTC	80-90	FAM
			R	GGCTGATGTAAGAAGGGATGA		
10	MCW0127	3	F	GAGTTCAGCAGGAATGGGATG	226-274	VIC
			R	TGCAATAAGAGAAGGTAAGGTC		
11	MCW0145	1	F	ACTTTATTCTCCAAATTTGGCT	178-214	FAM
			R	AAACACAATGGCAACGGAAAC		
12	MCW0330	17	F	TGGACCTCATCAGTCTGACAG	252-286	PET
			R	AATGTTCTCATAGAGTTCCTGC		

(2) Multiplex PCR 조건 확립

표준화 조건의 확립을 위해 선행연구에서 수행한 샘플을 대상으로 12 MS 마커에 대한 Multiplex PCR을 수행하였다. 일부 마커에서 Stutter 현상(Taq polymerase에 의한 A peak), off-scale peak를 발견하여 이를 조정하고자 Primer 농도, Extension time, Taq polymerase 조성, Genomic DNA 농도 등 다양한 PCR 조건에 대한 반복 실험을 통해 시약 조성 및 온도 조건을 설정하였다. off-scale peak 현상을 줄이기 위해 primer 농도를 0.2~0.5 μ l로 변경하여 peak의 height를 조절하였다. 그 결과 PCR 증폭이 제대로 되지 않는 것을 확인하였다 (Figure 13).

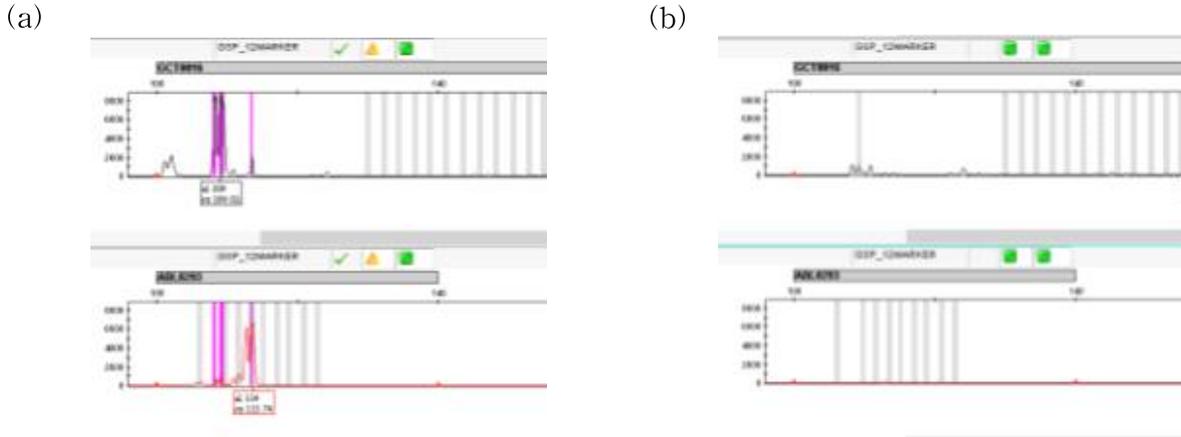


Figure 13. Off-scale peak on GCT0016 and ADL0293(a). GCT0016 and ADL0293 markers not amplified by primer volume control(b).

Taq polymerase를 이용하는 PCR의 경우 3'말단에 Adenine(A)을 갖는 증폭산물을 생산하게 된다. 유전자형을 분석하는 Genotyping의 경우 염기서열 길이의 균일성을 위해 모든 증폭산물의 A 염기가 충분히 증폭될 수 있도록 조건을 설정하기 위하여 Extension time을 변경하였다. Extension time을 30분과 60분으로 설정하여 PCR을 진행하였으며 30분이었을 때 A peak가 충분히 증폭하였다. 60분으로 진행하였을 때는 증폭되지 않아 최적의 Extension time은 30분인 것으로 확인하였다 (Figure 14).

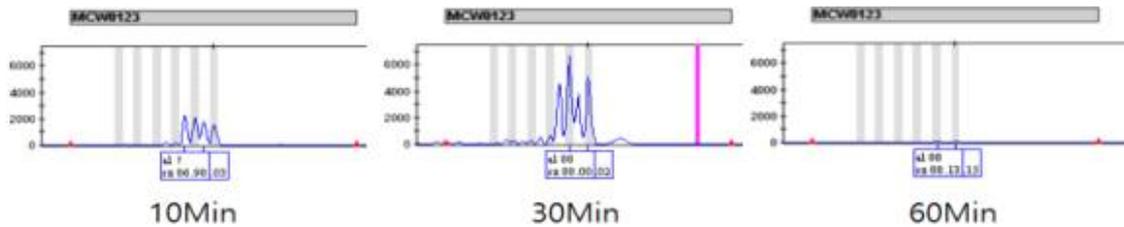


Figure 14. Genotyping results based on the different extension times.

Stutter 발생을 줄이기 위해 Taq polymerase의 조성을 변경하였으며 기존 0.6 μ l에서 1 μ l로 늘려 진행하였으나 개선된 결과를 확인하지 못하였다. off-scale peak 제거와 peak height 조절을 위해 DNA 농도를 100ng/ μ l, 50ng/ μ l, 5ng/ μ l로 조절하여 실험에 이용한 결과 총 20 μ l 반응액을 기준으로 100 ng/ μ l를 이용한 경우는 여전히 stutter가 발생하였으며, 50 ng/ μ l와 5 ng/ μ l의 DNA를 이용하였을 경우 stutter는 사라졌지만 peak height가 많이 낮았다. 그러나 PCR 반응액을 15 μ l로 하여 5 ng/ μ l의 DNA를 이용한 결과 stutter가 사라졌으며, 대부분의 마커의 peak height가 적정 높이를 유지하는 것을 확인하였다.

따라서 적정 DNA 농도는 5 ng/ μ l로 하였으며, PCR 반응액의 최종 볼륨은 15 μ l로 설정하여 다음 실험을 진행하였다(Figure 15).

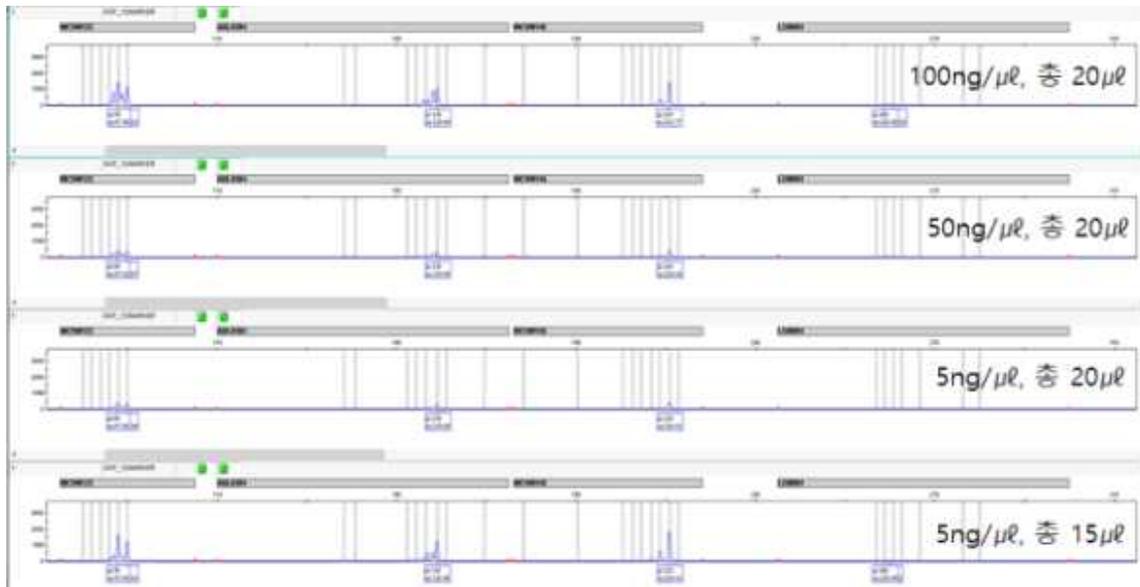


Figure 15. Genotyping results based on the different DNA concentration and volumes.

반복 실험을 통해 최적의 Multiplex PCR 시약 조성 및 온도 조건을 설정하였다 (Table 4).

Table 4. Reaction components and temperature conditions for multiplex PCR using 12 MS markers.

Reaction components	Volume(μ l)	Cycle step	Temperature	Time	Cycle
DNA(5 ~ 10ng)	1	Pre-denaturation	95 $^{\circ}$ C	10min	1
Primer mix	9.6	Denaturation	95 $^{\circ}$ C	30sec	
dNTP	1.5	Annealing	55 $^{\circ}$ C	30sec	30
10x Buffer	1.8	Extension	72 $^{\circ}$ C	1min	
Hot start Taq polymerase	0.6	Final extension	72 $^{\circ}$ C	30min	1
D.W	0.5	Hold	4 $^{\circ}$ C		
Total	13.9				

(3) 확립된 MS마커 조합 및 표준화된 Multiplex PCR 조건 검증

확립된 12종의 MS 마커조합과 표준화된 Multiplex PCR 조건에 대해 556수를 대상으로 검증 실험을 실시하였다. 유전자형 데이터를 이용한 통계분석을 통해 대립유전자 수, 관측이형접합율(HObs), 기대이형접합율(HExp), 다형성 정보 지수(PIC), 동일개체 출현빈도율을 추정하였으며 12 MS 마커가 종계 집단의 개체식별 및 친자확인 마커로써 충분히 활용될 수 있음을 확인하였다. 확립된 12종의 MS 마커의 품종별 출현 양상을 확인하기 위해 대립유전자 빈도를 확인하였다(Table 5). 전체 집단에서 12종의 MS 마커의 대립유전자는 총 112개로 확인되었으며 평균 9.33으로 확인되었다.

Table 5. Number of alleles for each marker identified in each chicken population.

Marker	Population*													
	Total	AB	CB	RS	WM1	WM2	HCC	HF	HH	HS	HW	HA	HZ	HY
ADL0293	8	5	5	6	6	6	6	6	6	4	5	4	6	5
ADL0304	7	4	6	5	5	5	6	5	5	4	4	3	6	3
ADL0317	9	4	6	5	8	7	8	5	7	5	4	2	5	5
GCT0016	10	3	6	4	7	4	3	3	4	3	3	4	2	3
LEI0094	10	4	5	5	7	7	6	5	4	4	3	4	5	3
MCW0029	13	5	5	7	9	11	8	5	5	5	6	6	6	4
MCW0087	10	6	8	7	7	7	6	4	4	2	3	4	4	2
MCW0104	14	5	5	5	9	9	9	7	6	5	4	5	7	4
MCW0123	5	3	3	3	5	4	4	3	3	4	4	3	3	4
MCW0127	11	5	7	4	5	6	9	5	4	4	6	5	5	6
MCW0145	9	7	5	5	5	7	6	5	5	5	5	5	6	5
MCW0330	6	4	4	3	4	6	4	4	4	3	3	4	4	2
Total	112	55	65	59	77	79	75	57	57	48	50	49	59	46
Mean	9.33	4.58	5.42	4.92	6.42	6.58	6.25	4.75	4.75	4.00	4.17	4.08	4.92	3.83

12종의 MS marker에 대한 대립유전자 수(No. of Allele), 관측이형접합율(observed heterozygosity, HObs), 기대이형접합율(expected heterozygosity, HExp), 다형성정보지수(Polymorphism information content, PIC)를 분석하였다. 본 연구 결과 신포종 종계 집단과 다형성 분석에 있어 12종의 MS marker가 충분한 다형성을 갖는 marker라고 사료된다(Table 6).

Table 6. The statistical analysis of heterozygosity(HObs and HExp), polymorphism information content(PIC) using selected 12 microsatellite markers among the native chicken lines.

Marker	HObs	HExp	PIC
ADL0293	0.684	0.774	0.741
ADL0304	0.673	0.753	0.715
ADL0317	0.329	0.853	0.835
GCT0016	0.385	0.639	0.568
LEI0092	0.690	0.719	0.674
MCW0029	0.786	0.827	0.807
MCW0087	0.611	0.809	0.781
MCW0104	0.717	0.859	0.843
MCW0123	0.634	0.729	0.681
MCW0127	0.693	0.824	0.802
MCW0145	0.737	0.798	0.770
MCW0330	0.588	0.710	0.661
Mean	0.627	0.775	0.740

12종의 MS marker에 대한 전체 종계 집단의 동일개체 출현빈도를 분석하여 Table 7에 제시하였다. 무작위 교배집단(Random)으로 가정하였을 경우 동일개체 출현빈도는 12개의 marker를 사용하였을 때, 2.88×10^{-21} 빈도로 출현하는 것을 확인할 수 있었으며, 반형매 교배집단(Half-sib)과 전형매 교배집단(sib)으로 가정했을 경우에는 1.72×10^{-15} , 1.38×10^{-07} 으로 각각 확인되었다. 이러한 결과는 종계 집단의 개체식별 및 친지확인 marker로 12종의

MS marker가 충분히 활용 가능할 것으로 사료된다.

Table 7. The expected probability of identity values among genotypes of random individuals (PI), random half-sib (PI_{half-sibs}) and random sibs(PI_{sibs}) for discrimination of chicken lines.

Marker	PI	PI _{half-sibs}	PI _{sibs}
Marker01	1.10×10^{-02}	4.13×10^{-02}	2.52×10^{-01}
Marker02	1.40×10^{-04}	1.90×10^{-03}	6.83×10^{-02}
Marker03	1.68×10^{-06}	8.48×10^{-05}	1.74×10^{-02}
Marker04	2.18×10^{-08}	3.85×10^{-06}	4.44×10^{-03}
Marker05	3.95×10^{-10}	2.21×10^{-07}	1.18×10^{-03}
Marker06	8.63×10^{-12}	1.39×10^{-08}	3.20×10^{-04}
Marker07	1.85×10^{-13}	8.76×10^{-10}	8.68×10^{-05}
Marker08	4.63×10^{-15}	5.95×10^{-11}	2.37×10^{-05}
Marker09	1.20×10^{-16}	4.11×10^{-12}	6.52×10^{-06}
Marker10	3.26×10^{-18}	2.94×10^{-13}	1.81×10^{-06}
Marker11	9.57×10^{-21}	2.26×10^{-14}	5.12×10^{-07}
Marker12	2.88×10^{-21}	1.72×10^{-15}	1.38×10^{-07}

12종 MS marker의 대립유전자의 빈도를 기반으로 집단별 주성분분석(Principal Coordinates Analysis, PCoA)을 수행하여 Figure 15에 제시하였다. 분석 결과 제 1성분의 분산치는 33.94%, 제 2성분의 분산치는 22.42%, 제 3성분의 분산치는 14.78%로 확인되었으며, 제 2성분의 분산치에 의해 한협 순계 라인 및 한협 3호와 우리맛닭과 외래품종과 명확히 구분되는 것을 확인하였다.

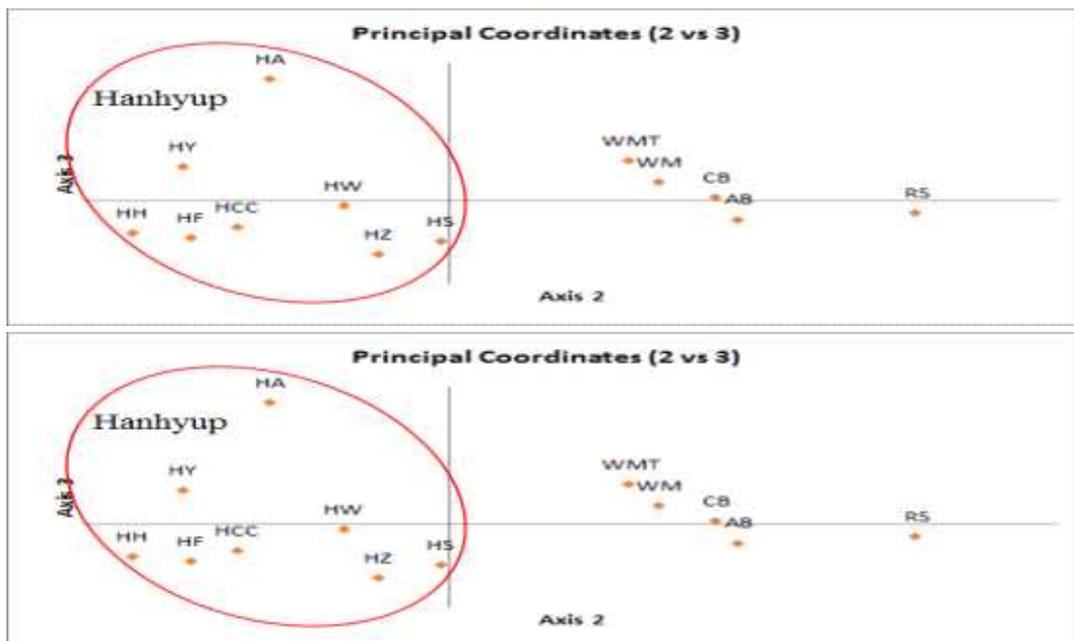


Figure 16. Principal Coordinates Analysis (PCoA) using 12 microsatellite loci genotype in B populations using the GenAlex

3. 96 SNP 마커조합의 식별력 검증 및 PL 유전자형 DB 구축을 위한 48 SNP 마커조합 확립

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

앞선 연구를 통해 선별한 96 SNP 마커의 식별력 검증 및 일부 PL(Pure Line)의 유전자형 정보를 구축하기 위해 시중에 유통 중인 육용(Ross, Cobb, Abor Acres) 및 산란계(Lohmann Brown) 샘플 및 한국 토종닭 계통의 실용 육용계(WM)와 한협의 추가 유전자형 분석이 필요한 품종(HF, HH, HS, HW, HY)의 샘플 및 선발된 SNP마커의 구분 능력을 비교할 GSP CC(Commercial Chicken)와 한협의 원종계(GPS) 교잡종 샘플의 DNA를 확보하였다(Table 9).

Table 9. Number of samples collected and the experimental samples.

Breed	No. of sample	experiment sample
Ross	103	20
Cobb	20	8
CBC	95	12
Abor Acres	21	20
Lohmann Brown	48	10
Hanhyup F	256	5
Hanhyup H	117	5
Hanhyup S	535	10
Hanhyup W	541	5
Hanhyup Y	295	5
WM_1	42	10
WM_2	51	10
WM_3	82	10
GSP_CC_1	55	10
GSP_CC_2	23	10
GSP_CC_3	13	10
GSP_CC_4	11	10
GSP_cross	20	20
Total	2,328	190

(2) Fluidigm SNP 유전자형 분석



Figure 16. The example steps for Fluidigm SNP genotype array.

SNP 분석은 Fluidigm SNP chip을 이용하여 선발된 96개의 SNP 유전자형을 확인하였으며, 총 190개의 샘플을 추가 분석하였다(Figure 16). 실험의 수행과정을 190개의 각각의 샘플과 SNP array를 특수 제작한 Fluidigm SNP chip에 주입 후, hybridization 후에 genotype의 신호

를 Digital array를 이용해 스캐닝하여 genotype의 정보를 얻은 후, Biomark software을 이용하여 이미지를 분석하여 genotype을 얻어내었으며, plink 등의 분석방법을 이용하여 QC를 수행했다.

(2) 선발된 96 SNP 마커의 식별능 검증

품종구분을 위한 96개의 SNP 마커의 식별능 검증 방법에는 우선, QC를 통해 분석에 문제가 있던 missing SNP를 제거한 후, 확보된 마커의 유전자형 정보를 바탕으로 MDS(Multi-dimensional scaling)분석을 통해 식별능을 검증하였다. 선발된 96 SNP 마커의 식별능을 검증하기 위해서는 MDS분석을 통해 얻은 분산 정보를 기계학습을 이용하여 전체 분산 정보의 75%를 학습하고 나머지 25%를 이용하여 각 기계학습 모델별 정확도(ROC curve)를 도출하여 최적의 모델을 선정하였다. 이어서 선정된 기계학습 모델을 적용하여 96 SNP 마커의 식별능을 수치화하였다(Figure 17).

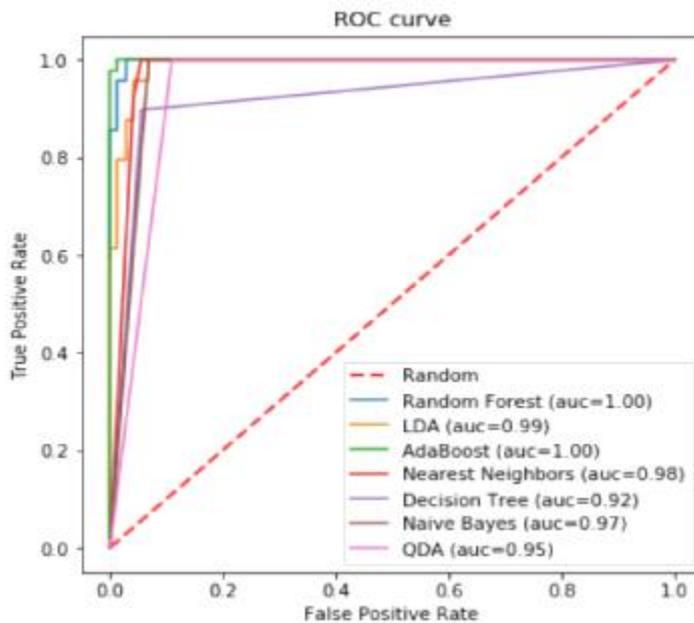


Figure 16. Numerical accuracy values of machine learning models for breed discrimination.

나 연구수행 결과

(1) 96 SNP 마커의 식별력을 검증

앞서 확증된 96 SNP 마커의 식별력을 검증하기 위해 Fluidigm genotyping chip을 제작하여 시중에 유통 중인 실용 육용계(Ross, Cobb, Abor Acres)와 난용계(Lohmann Brown), 국산 토종닭 실용 육용계(WM) 및 한협외 원종계 (GPS) 교잡종을 포함한 총 190마리의 추가 유전자형 분석을 실시하였다(Figure 18).

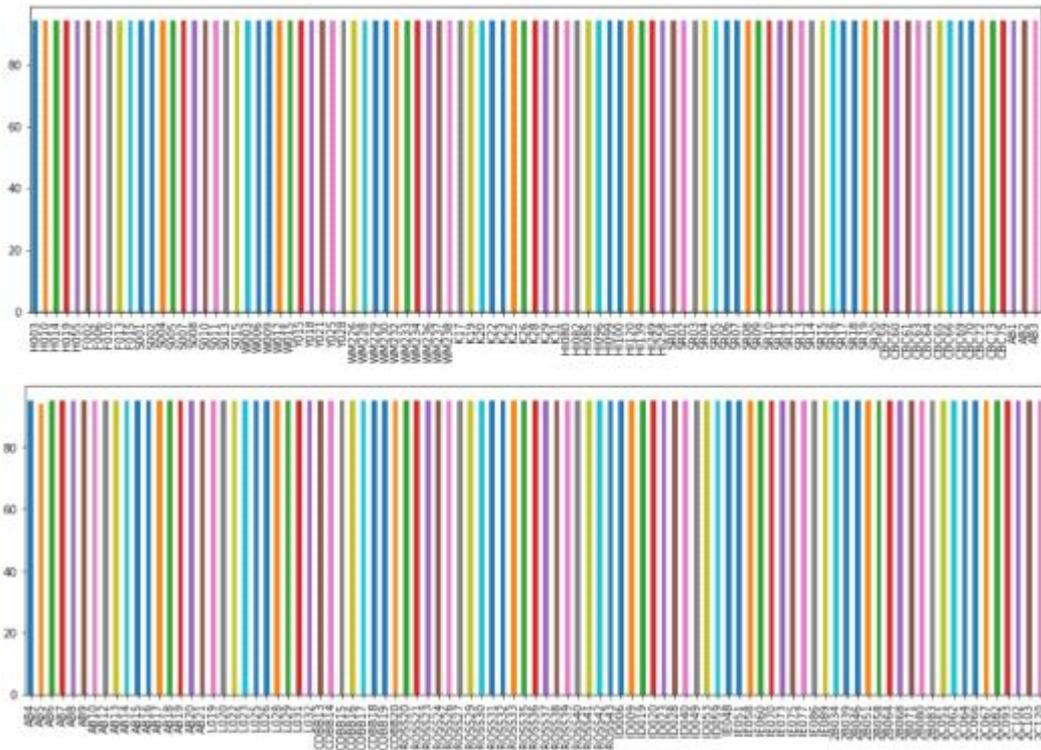


Figure 16. Fluidigm 96 SNP marker genotyping results for each individual.

유전자형 분석 결과 전반적인 마커의 유전자형 분석이 정확하게 이뤄졌으나 일부 SNP마커의 분석 과정 중 일부 오류를 확인하였다. SNP마커(Ax-75521116)는 SNP 유전자형 분석이 이뤄지지 않았고, SNP마커(Ax-80943669)는 1개 플레이트 샘플의 유전자형 분석이 이뤄지지 않았다. 따라서 선발된 마커의 식별능 검증 분석에 적합하지 못하다고 판단되는 1개 (Ax-75521116)의 SNP마커를 제외한 총 95개의 SNP마커를 이용하여 분석을 수행하였다 (Figure 19).

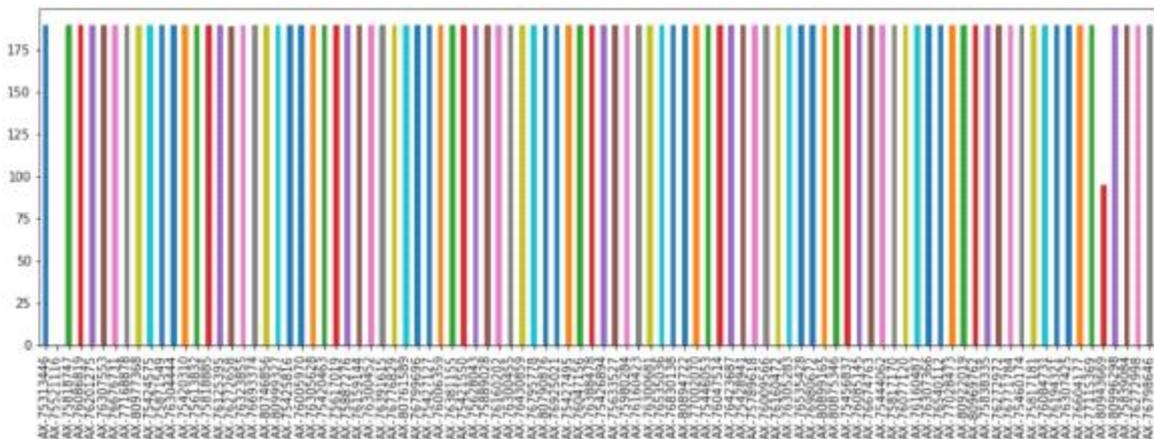


Figure 16. Fluidigm 96 SNP marker genotyping results for each SNP marker.

우선, 1차년도에 선별한 96개의 SNP마커의 결과와 QC과정을 통해 일부 마커가 변경된 95개의 SNP 마커 유전자형 결과 비교를 위해 1차 년도를 통해 획득한 600K SNP 유전자형 정보를 이용해 가상의 유전자형 집단을 만드는 시뮬레이션을 수행하였다(Figure 20).

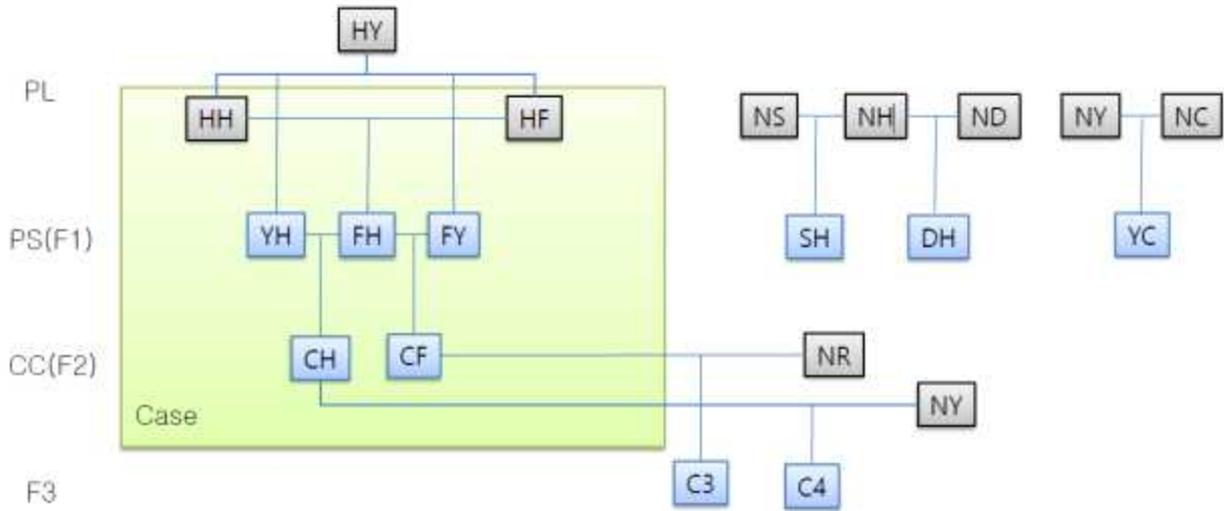


Figure 16. Virtual pedigree for validation of selected SNP marker combination.

가상의 유전자형 집단은 품종 구분의 타겟이 되는 주요 품종 HF 및 HH 계통과 주요 계통들의 후손 집단을 case로 두고 그 외에 타 집단을 control로 두고 분석을 진행하였다. 95 SNP 마커 유전자형 정보를 이용한 가상의 집단의 MDS(Multi-dimensional scaling) plot을 확인한 결과 1단계에서 선별한 96개의 SNP마커 연구결과와 매우 유사한 결과를 확인할 수 있었다(Figure 21). 1차년도에서 설명하였듯이 GSP 신품종의 순계가 되는 HH, HF 집단과 타집단이 교잡이 많이 되면 될수록 품종 구분 마커의 정확도가 떨어짐을 의미하기도 한다.

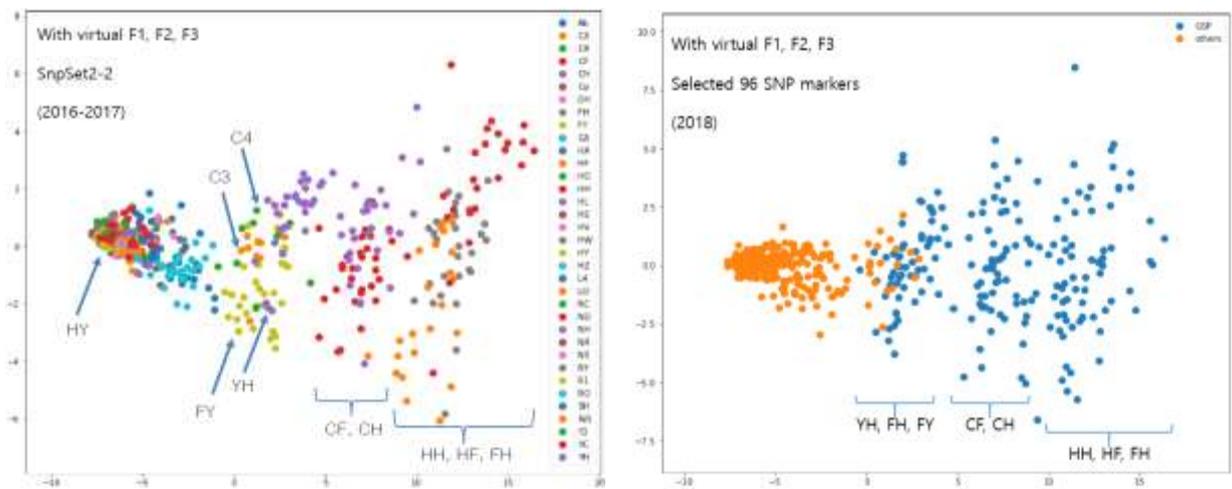


Figure 21. MDS plot using virtual pedigree genotypes.

이어서, 선별된 95개의 마커의 식별능을 검증하기 위해 앞서 생성한 가상의 집단과 식별능 검증을 위해 새로이 유전자형 정보를 획득한 실제 집단 190마리의 유전자형 정보를 이용하여 MDS분석을 실시하였다. MDS plot을 확인한 결과 집단의 클러스터링 분포가 일부 변화가 있

었지만, 기존 연구결과와 유사한 연구결과를 확인할 수 있었다(Figure 22). 즉 case와 control이 잘 분리되는 것이 확인되어 본 연구 결과가 신뢰성이 높게 분석되었다는 것을 확인해 주고 있었다.

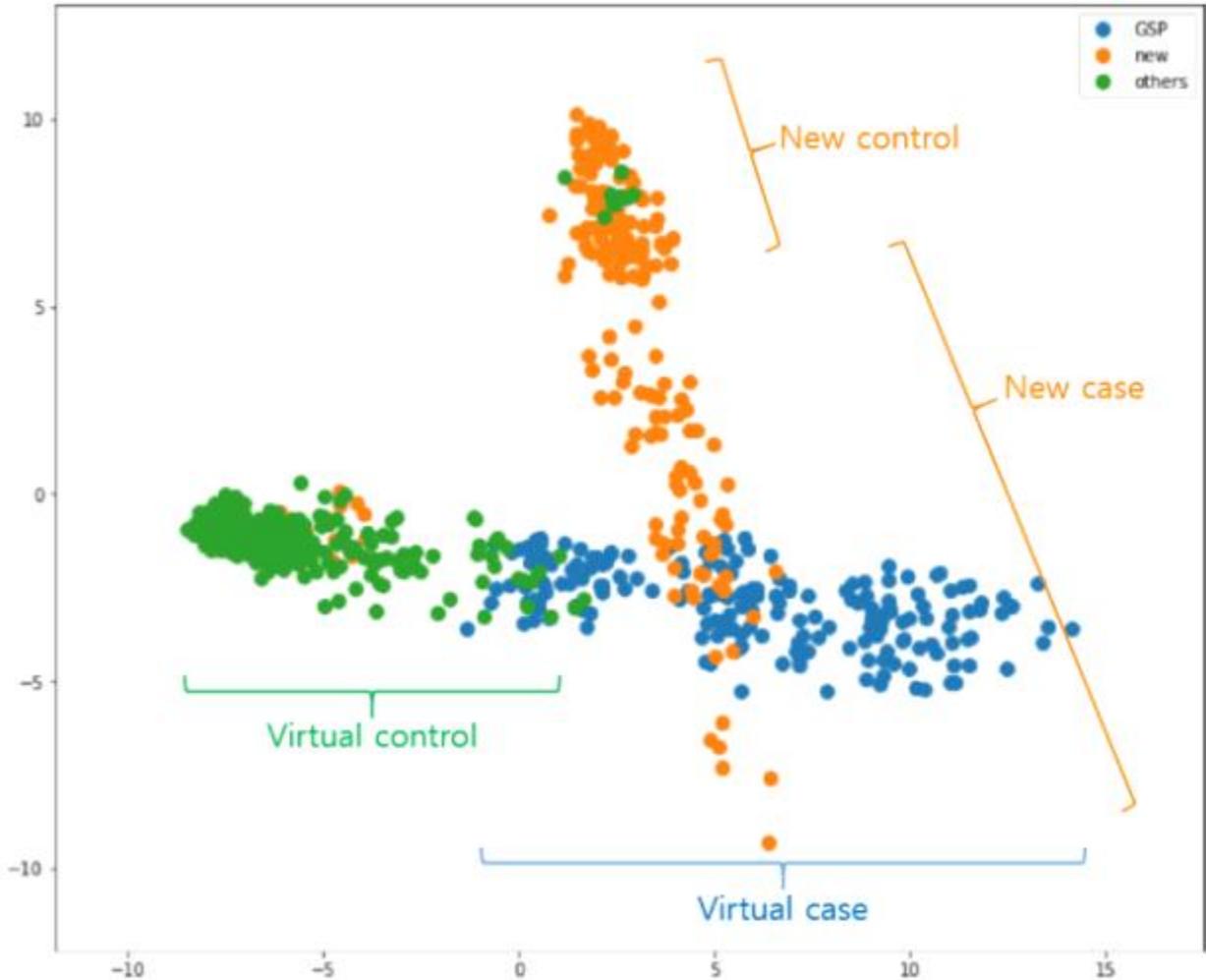


Figure 16. MDS plot using virtual pedigree and additional sample genotypes.

95 SNP 마커의 식별능 검증을 보다 정확하게 수행하기 위해 MDS분석을 통해 얻은 분산 정보를 바탕으로 기계학습을 실시하여 식별능을 수치화하였다. 기계학습은 전체 분산 정보의 75%를 학습 데이터로 이용하고 나머지 25%의 분산 정보를 이용하여 ROC(Receiver operating characteristic) curve를 도출하였다. 이때 정확도(Area Under Curve)는 기계학습의 모델에 따라 변하기 때문에 본 분산 정보에 가장 최적의 기계학습 모델을 정확도 수치에 기반하여 선택하였다(Figure 23, Table 10).

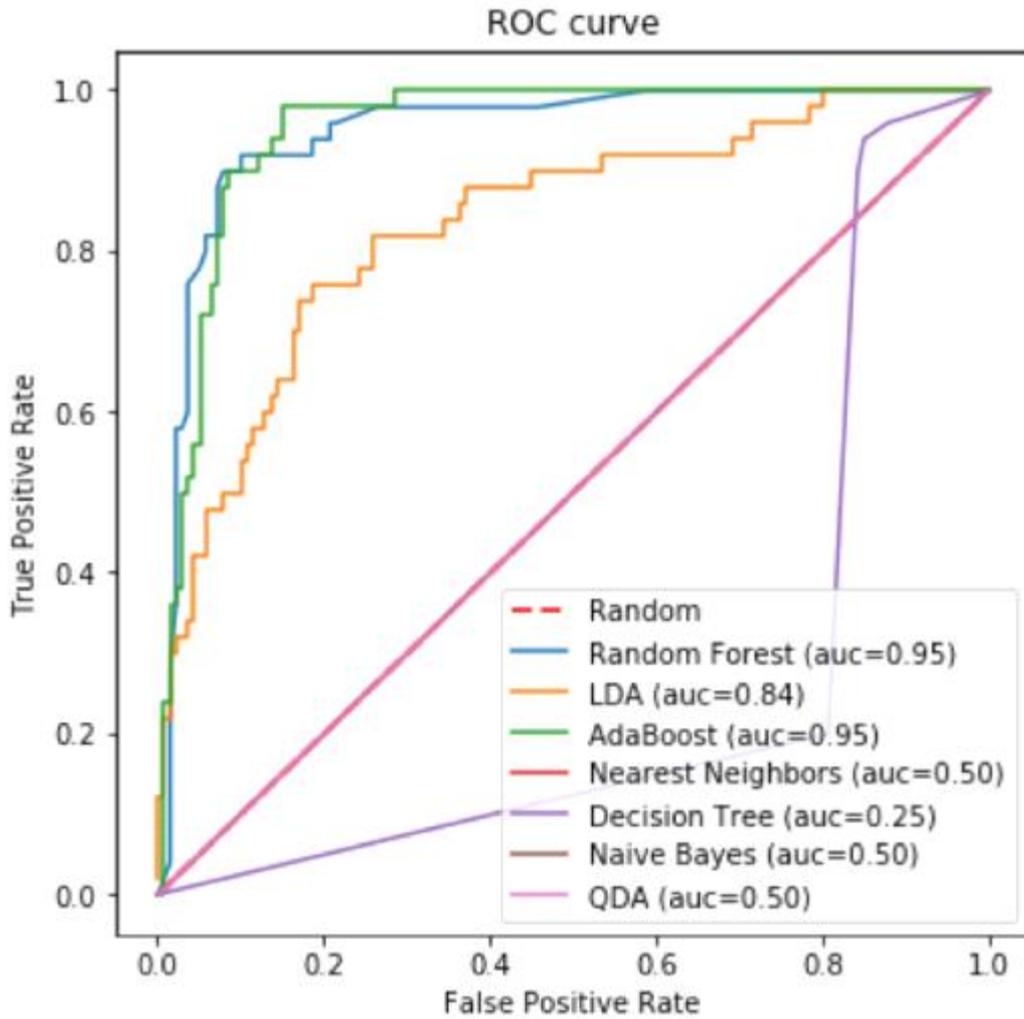


Figure 23. Receiver operating characteristic curve using virtual pedigree and additional sample genotypes

Table 10. The accuracies for different machine learning models for breed identification.

	accuracy	auc	precision	sensitivity	specificity
AdaBoost	0.8842110	0.9521430	0.7258060	0.9000000	0.8785710
Decision Tree	0.3578950	0.2530710	0.2831330	0.9400000	0.1500000
LDA	0.3157890	0.8352860	0.2777780	1.0000000	0.0714290
Naïve Bayes	0.2631580	0.5000000	0.2631580	1.0000000	0.0000000
Nearest Neighbors	0.2631580	0.5000000	0.2631580	1.0000000	0.0000000
QDA	0.2631580	0.5000000	0.2631580	1.0000000	0.0000000
Random Forest	0.9052630	0.9498570	0.7666670	0.9200000	0.9000000

총 7가지의 기계학습 모델 (AdaBoost, Decision Tree, LDA, Naive Bayes, Nearest Neighbors,

QDA, Random Forest)을 적용하여 95 SNP 마커의 품종 식별능을 측정하였다. 각각의 기계학습 모델에 따른 ROC curve 도출 결과 모델 AdaBoost와 모델 Random forest의 정확도가 가장 높게 측정되어 위 두 모델이 가장 적합한 모델이라 판단되었다.

가상의 집단을 통해 확인된 모델 AdaBoost와 모델 Random forest를 이용한 95개 SNP 마커의 실제 품종 식별능을 검증하기 위해 case집단으로 이용될 일부 PL(Pure Line) 5종과 GSP CC 집단 3종 및 control 집단으로 이용될 시중에 유통 중인 육용계(Ross, Cobb, Arbor Acres) 및 산란계(Lohmann Brown) 샘플, 한국 토종닭 계통의 실용 육용계(WM) 3종, 원종계 교잡종(GSP_cross)의 유전자형 정보를 이용하여 식별능을 평가하였다(Table 11, 12).

Table 11. The results from Random forest machine learning model for breed identification.

desc	n	correct_n	accuracy	precision	sensitivity	specificity
GSP CC	10	10	1.00000	1.00000	1.00000	NA
GSP CC__2	10	10	1.00000	1.00000	1.00000	NA
GSP CC__3	10	9	0.90000	1.00000	0.90000	NA
GSP 삼계/육계 후보	10	10	1.00000	1.00000	1.00000	NA
Arbor acre	20	18	0.90000	0.00000	NA	0.90000
CBC	12	7	0.58333	0.00000	NA	0.58333
Cobb(2017)	8	8	1.00000	NA	NA	1.00000
Ross	20	16	0.80000	0.00000	NA	0.80000
Lohmann brawn	10	10	1.00000	NA	NA	1.00000
HF	5	5	1.00000	1.00000	1.00000	NA
HH	5	4	0.80000	1.00000	0.80000	NA
HS	10	10	1.00000	NA	NA	1.00000
HW	5	5	1.00000	NA	NA	1.00000
HY	5	5	1.00000	NA	NA	1.00000
우리맛닭__2	10	8	0.80000	0.00000	NA	0.80000
Yelim	10	7	0.70000	0.00000	NA	0.70000
현인	10	9	0.90000	0.00000	NA	0.90000
GSP_cross	20	4	0.20000	0.00000	NA	0.20000

GSP CC, GSP CC__2, GSP CC__3, GSP 삼계/육계 후보 - GSP commercial chicken; Arbor acre, CBC, Cobb, Ross - Commercial broiler; Lohmann brawn - Commercial layer; HF, HH, HS, HW, HY - Hanhyup Pure line; 우리맛닭__2, Yelim, 현인 - Korean native commercial chicken; GSP_cross - Hanhyup Grand Parent Stock cross breeding.

Table 12. The results from AdaBoost machine learning model for breed identification.

desc	n	correct_n	accuracy	precision	sensitivity	specificity
GSP CC	10	9	0.90000	1.00000	0.90000	NA
GSP CC__2	10	10	1.00000	1.00000	1.00000	NA
GSP CC__3	10	8	0.80000	1.00000	0.80000	NA
GSP 삼계/육계 후보	10	8	0.80000	1.00000	0.80000	NA
Arbor acre	20	20	1.00000	NA	NA	1.00000
CBC	12	11	0.91667	0.00000	NA	0.91667
Cobb(2017)	8	8	1.00000	NA	NA	1.00000
Ross	20	19	0.95000	0.00000	NA	0.95000
Lohmann brawn	10	10	1.00000	NA	NA	1.00000
HF	5	5	1.00000	1.00000	1.00000	NA
HH	5	5	1.00000	1.00000	1.00000	NA
HS	10	10	1.00000	NA	NA	1.00000
HW	5	5	1.00000	NA	NA	1.00000
HY	5	5	1.00000	NA	NA	1.00000
우리맛닭__2	10	9	0.90000	0.00000	NA	0.90000
Yelim	10	10	1.00000	NA	NA	1.00000
현인	10	10	1.00000	NA	NA	1.00000
GSP__cross	20	6	0.30000	0.00000	NA	0.30000

GSP CC, GSP CC__2, GSP CC__3, GSP 삼계/육계 후보 - GSP commercial chicken; Arbor acre, CBC, Cobb, Ross - Commercial broiler; Lohmann brawn - Commercial layer; HF, HH, HS, HW, HY - Hanhyup Pure line; 우리맛닭__2, Yelim, 현인 - Korean native commercial chicken; GSP__cross - Hanhyup Grand Parent Stock cross breeding.

Random forest 모델 및 AdaBoost 모델을 이용한 95 SNP 마커의 식별력의 정확도는 각각 90.5%와 88.4%로 전반적으로 우수한 구분력을 보여주었다. 하지만 일부 품종에서 GSP 품종의 자손임에도 불구하고 자손이 아닌 것으로 확인되는 개체가 존재하였다. 특히, 두 모델 모두 시중에 유통되고 있는 실용 육용계인 Cobb 품종(CBC)의 일부 개체 및 한협의 원종계 교잡종(GSP__cross) 개체의 구분이 정확하게 이뤄지지 못하였다.

하지만 실험에 이용된 Cobb 품종 중 구분이 정확히 이뤄지지 못한 12개체는 2009년도에 이용되었던 과거의 개체들로서 현재 유통되지 않는 개체들이어서 현재 Cobb 품종과는 유전적 조성이 틀린 것으로 판단되었다. 이와는 반대로 현재 시중에서 유통되고 있는 Cobb(Cobb2017) 8개체는 본 SNP분석으로 품종을 완벽하게 식별하는 것으로 확인되었다. 또한 실험에 이용된 한협의 원종계 교잡종(GSP__cross)은 GSP 집단의 원종계로 이용될 HH 및 HF 계통과 교잡된 계통으로 판단되어 위와 같이 결과가 나온 것으로 판단된다.

위와 같은 결과를 보완하기 위해 분석결과에 영향을 주는 과거의 Cobb 품종과 한협의 원종계 교잡종(GSP__cross) 개체를 분석에서 제외하고, 가상의 집단과 실제 집단 모두를 기계학습 모

델 구축에 이용하였다. 또한, 분석에 이용된 SNP마커 중 특징 중요도(Feature Importance; FI)가 낮은 SNP를 제외하여 가장 정확도가 높은 최적의 마커수를 선정하여 Random forest 모델 및 AdaBoost 모델로 확인하였다.

최적 마커수의 탐색결과 Random forest 모델의 경우 FI 값이 0.001 이상인 SNP마커의 개수가 총 40개로 나타났으며, AdaBoost 모델의 경우 FI 값이 0이상인 SNP마커의 개수가 36개로 도출되었다. 따라서 각각 모델에 따른 최적의 SNP마커의 수는 40개, 36개로 결정되었다(Table 13, 14).

Table 13. SNP list for Random forest machine learning mode result.

CHR	SNP	BP	A1	F_A	F_U	A2	CHISQ	P	OR	block	RF Feature importance
24	AX-80996298	3197370	C	0.9239	0.09751	G	297.9	9.243E-67	112.4	94252	0.415901552
15	AX-75818747	10907261	A	0.8478	0.1178	G	229.6	7.238E-52	41.74		0.087218915
15	AX-75817170	10442003	A	0.6222	0.04752	G	211.2	7.594E-48	33.01		0.066552381
3	AX-76535428	68491734	C	0.5326	0.01653	T	230.9	3.77E-52	67.8		0.065263121
1	AX-75313446	158688892	A	0.8977	0.1674	G	195.3	2.169E-44	43.67		0.06183337
2	AX-76160423	80293248	A	0.8108	0.09013	G	216.5	5.29E-49	43.27		0.058085546
1	AX-80899165	100081505	A	0.9783	0.2025	T	211.6	6.105E-48	177.2	9407	0.03603864
22	AX-76272972	3936204	C	0.8913	0.166	T	200.6	1.519E-45	41.2	92379	0.03198406
1	AX-75427127	31677714	A	0.5652	0.01033	G	266.9	5.256E-60	124.5	3059	0.020791393
2	AX-76047156	16998127	A	0.6413	0.04752	G	223.2	1.777E-50	35.84		0.020717421
2	AX-76160472	80319772	A	0.5652	0.01033	G	266.9	5.256E-60	124.5	24615	0.018596548
18	AX-75887276	1073313	C	0.7717	0.07231	T	251.8	1.028E-56	43.37		0.011386285
5	AX-76795778	20986452	A	0.7391	0.1054	G	189.4	4.242E-43	24.06	50182	0.011372133
18	AX-80977368	1676225	A	0.5652	0.03719	T	201.9	8.07E-46	33.66		0.009651958
2	AX-76125395	61624073	C	0.7391	0.08058	T	221.7	3.937E-50	32.33		0.006137192
2	AX-76084731	38301546	A	0.4783	0.01446	G	206.1	9.965E-47	62.46		0.006070739
24	AX-76304444	2532351	C	0.8587	0.1446	T	205.6	1.284E-46	35.94	94073	0.005241562
15	AX-75817181	10446252	C	0.6196	0.04959	T	207.8	4.112E-47	31.21	82940	0.00470585
11	AX-75633527	11597619	C	0.6705	0.07589	T	181.3	2.503E-41	24.77		0.004438295
1	AX-75425816	31014454	A	0.6957	0.05992	G	230.8	4.052E-52	35.86	2993	0.004091615
10	AX-80746856	9311268	C	0.5652	0.04752	G	182.9	1.106E-41	26.06		0.003834378
4	AX-76604177	10376860	G	0.5109	0.03099	A	185.3	3.313E-42	32.66	41368	0.003447784
24	AX-76300452	1541158	G	0.5652	0.04132	T	194	4.278E-44	30.16		0.00344016
9	AX-77168878	3321398	A	0.7391	0.09711	G	199.4	2.802E-45	26.34	65453	0.003312718
3	AX-76423687	15504466	C	0.7283	0.09298	T	199.2	3.145E-45	26.14		0.003181336
2	AX-76077120	33937993	C	0.8514	0.1288	A	189.6	3.953E-43	38.75		0.003161627
10	AX-75613832	5162971	A	0.6304	0.06612	G	186.7	1.641E-42	24.1	69229	0.002930716
1	AX-80790876	104968932	A	0.4457	0.0166	T	182.1	1.649E-41	47.63		0.002756147
15	AX-75838335	5837883	C	0.6957	0.04792	T	251.2	1.447E-56	45.42	82182	0.002664225
25	AX-76323855	118590	A	0.6	0.05785	G	182.2	1.635E-41	24.43		0.002491659
28	AX-76381155	3344167	A	0.8261	0.1426	G	191.7	1.324E-43	28.57	98019	0.00236571
1	AX-75420310	28247414	T	0.5978	0.05785	C	182.8	1.211E-41	24.21		0.002290886
2	AX-76006359	130534978	T	0.8152	0.1157	C	215.3	9.647E-49	33.72	28536	0.00210078
2	AX-76160202	80177255	T	0.8587	0.1488	C	201.4	1.017E-45	34.77		0.00193509
2	AX-75980284	117052433	C	0.6522	0.07676	T	182.1	1.65E-41	22.55	27453	0.001789129
6	AX-76925021	2313063	T	0.9022	0.1901	C	185.3	3.326E-42	39.29	54203	0.001342614
14	AX-75789618	2147220	C	0.7826	0.1183	T	195.7	1.812E-44	26.84	79355	0.00133059
24	AX-76307553	3240959	A	0.7889	0.08678	G	236.6	2.157E-53	39.33		0.001268902
1	AX-75426894	31571231	A	0.6196	0.04357	G	218.3	2.148E-49	35.75		0.001136617
2	AX-80999327	121219573	T	0.6889	0.07906	A	192.3	9.761E-44	25.79	27760	0.001021882

Table 14. SNP list for AdaBoost machine learning mode result.

CHR	SNP	BP	A1	F_A	F_U	A2	CHISQ	P	OR	block	RF Feature importance
2	AX-76125395	61624073	C	0.7391	0.08058	T	221.7	3.937E-50	32.33		0.06
15	AX-75818747	10907261	A	0.8478	0.1178	G	229.6	7.238E-52	41.74		0.06
11	AX-75633527	11597619	C	0.6705	0.07589	T	181.3	2.503E-41	24.77		0.04
22	AX-76272972	3936204	C	0.8913	0.166	T	200.6	1.519E-45	41.2	92379	0.04
5	AX-76799696	22816681	T	0.9565	0.2004	C	202.7	5.351E-46	87.77		0.04
7	AX-77028473	31033675	A	0.5543	0.03112	G	207.8	4.074E-47	38.73	61407	0.04
1	AX-75421550	28888062	G	0.75	0.1033	A	187.8	9.429E-43	26.04		0.04
2	AX-76160423	80293248	A	0.8108	0.09013	G	216.5	5.29E-49	43.27		0.04
10	AX-75613832	5162971	A	0.6304	0.06612	G	186.7	1.641E-42	24.1	69229	0.04
24	AX-76307553	3240959	A	0.7889	0.08678	G	236.6	2.157E-53	39.33		0.04
18	AX-75887276	1073313	C	0.7717	0.07231	T	251.8	1.028E-56	43.37		0.04
14	AX-75789618	2147220	C	0.7826	0.1183	T	195.7	1.812E-44	26.84	79355	0.04
2	AX-76005970	130345881	T	0.7391	0.1095	C	184.7	4.605E-42	23.04		0.02
6	AX-76925021	2313063	T	0.9022	0.1901	C	185.3	3.326E-42	39.29	54203	0.02
7	AX-76980672	12994878	T	0.7935	0.124	C	195.1	2.418E-44	27.15		0.02
15	AX-75839084	6058269	T	0.9022	0.1921	C	183.7	7.671E-42	38.77		0.02
5	AX-76795778	20986452	A	0.7391	0.1054	G	189.4	4.242E-43	24.06	50182	0.02
1	AX-75424575	3060760	G	0.663	0.07438	A	191.3	1.666E-43	24.49	281	0.02
3	AX-76535036	68311818	T	0.413	0.01033	G	181.5	2.292E-41	67.41	36650	0.02
28	AX-76381155	3344167	A	0.8261	0.1426	G	191.7	1.324E-43	28.57	98019	0.02
18	AX-80922019	8595316	G	0.5761	0.04545	C	192.2	1.054E-43	28.54	86442	0.02
1	AX-75420463	28327047	G	0.7935	0.124	T	195.1	2.418E-44	27.15	2697	0.02
24	AX-80996298	3197370	C	0.9239	0.09751	G	297.9	9.243E-67	112.4	94252	0.02
1	AX-75313446	158688892	A	0.8977	0.1674	G	195.3	2.169E-44	43.67		0.02
3	AX-76423687	15504466	C	0.7283	0.09298	T	199.2	3.145E-45	26.14		0.02
9	AX-77168878	3321398	A	0.7391	0.09711	G	199.4	2.802E-45	26.34	65453	0.02
5	AX-76798646	22318499	G	0.8696	0.09091	A	277.5	2.698E-62	66.67	50289	0.02
24	AX-76304444	2532351	C	0.8587	0.1446	T	205.6	1.284E-46	35.94	94073	0.02
1	AX-75427495	31841978	G	0.5761	0.03719	A	207.7	4.278E-47	35.18		0.02
22	AX-76272998	3939329	A	0.8804	0.1508	G	210.1	1.314E-47	41.46		0.02
15	AX-75817170	10442003	A	0.6222	0.04752	G	211.2	7.594E-48	33.01		0.02
1	AX-80899165	100081505	A	0.9783	0.2025	T	211.6	6.105E-48	177.2	9407	0.02
5	AX-80875346	41386516	C	0.7609	0.08264	G	230.2	5.509E-52	35.32	52135	0.02
15	AX-75838335	5837883	C	0.6957	0.04792	T	251.2	1.447E-56	45.42	82182	0.02
1	AX-75427127	31677714	A	0.5652	0.01033	G	266.9	5.256E-60	124.5	3059	0.02
3	AX-76391615	100940980	A	0.5889	0.04357	G	200.2	1.861E-45	31.45	39566	0.02

각각의 결정된 모델별 최적의 SNP마커의 수로 앞선 방식과 동일하게 정확도를 측정하였다. 측정결과 Random forest 모델의 경우 GSP CC개체 일부 샘플의 분석결과의 sensitivity가 떨어지는 것으로 확인되었지만, 전체 정확도가 93.30%로 이전 보다 상승된 결과를 확인할 수 있었다. 또한, AdaBoost 모델의 경우 GSP CC의 하나의 개체를 제외한 모든 품종의 구분을 완벽하게 수행하여 전체 정확도가 99.36%로 매우 우수한 식별능을 확인하였다. 이 결과는 향후 48 SNP를 이용한 GSP PL의 유전자형 정보를 수집하여 두 모델을 활용한 기계학습을 적용하며 sensitivity와 specificity를 고려한 최소 SNP를 활용할 때 GSP 집단과 그 이외의 집단을 99% 이상 정확히 구분할 수 있을 것으로 판단된다(Table 15, 16).

Table 15. The results from Random forest machine learning model for breed identification using 40 selected SNP markers.

desc	n	correct_n	accuracy	precision	sensitivity	specificity
GSP CC	10	7	0.70	1.00	0.70	NA
GSP CC_2	10	9	0.90	1.00	0.90	NA
GSP CC_3	10	9	0.90	1.00	0.90	NA
GSP 삼계/육계후보	10	9	0.90	1.00	0.90	NA
Arbor acre	20	20	1.00	NA	NA	1.00
Cobb(2017)	8	8	1.00	NA	NA	1.00
Ross	20	20	1.00	NA	NA	1.00
Lohmann brawn	10	10	1.00	NA	NA	1.00
HF	5	5	1.00	1.00	1.00	NA
HH	5	5	1.00	1.00	1.00	NA
HS	10	10	1.00	NA	NA	1.00
HW	5	5	1.00	NA	NA	1.00
HY	5	5	1.00	NA	NA	1.00
우리맛닭_2	10	10	1.00	NA	NA	1.00
Yelim	10	10	1.00	NA	NA	1.00
현인	10	10	1.00	NA	NA	1.00

GSP CC, GSP CC_2, GSP CC_3, GSP 삼계/육계후보 - GSP commercial chicken: Arbor acre, Cobb, Ross - Commercial broiler; Lohmann brawn - Commercial layer; HF, HH, HS, HW, HY - Hanhyup Pure line; 우리맛닭_2, Yelim, 현인 - Korean native commercial chciekn.

Table 16. The results from AdaBoost machine learning model for breed identification using 36 selected SNP markers.

desc	n	correct_n	accuracy	precision	sensitivity	specificity
GSP CC	10	9	0.90	1.00	1.00	NA
GSP CC_2	10	10	1.00	1.00	1.00	NA
GSP CC_3	10	10	1.00	1.00	1.00	NA
GSP 삼계/육계후보	10	10	1.00	1.00	1.00	NA
Arbor acre	20	20	1.00	NA	NA	1.00
Cobb(2017)	8	8	1.00	NA	NA	1.00
Ross	20	20	1.00	NA	NA	1.00
Lohmann brawn	10	10	1.00	NA	NA	1.00
HF	5	5	1.00	1.00	1.00	NA
HH	5	5	1.00	1.00	1.00	NA
HS	10	10	1.00	NA	NA	1.00
HW	5	5	1.00	NA	NA	1.00
HY	5	5	1.00	NA	NA	1.00
우리맛닭_2	10	10	1.00	NA	NA	1.00
Yelim	10	10	1.00	NA	NA	1.00
현인	10	10	1.00	NA	NA	1.00

GSP CC, GSP CC_2, GSP CC_3, GSP 삼계/육계후보 - GSP commercial chicken: Arbor acre, Cobb, Ross - Commercial broiler; Lohmann brawn - Commercial layer; HF, HH, HS, HW, HY - Hanhyup Pure line; 우리맛닭_2, Yelim, 현인 - Korean native commercial chciekn.

따라서, 현재까지는 600k SNP 분석 및 validation을 통한 분석 결과들은 최대한 많은 품종

을 구분하기 위해 품종 구분을 수행할 수 있는 최소의 샘플만을 활용하였다. 차년도 연구과제를 통해 계속적으로 축적될 유전자형 정보를 이용하여 기계학습의 training sample 수가 증가한다면 정확한 개체 및 집단식별이 가능한 마커가 선별될 것으로 판단된다.

3. 확보된 Multiplex MS 마커조합의 신품종 토종종계 검증시스템 적용을 위한 검증

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

1차년도에서 확립한 12 MS 마커조합의 allele별 정확한 size 검증을 위해 한협 H 수탉 line 556수를 대상으로 sequencing을 진행하였으며 대립유전자의 크기를 확인하였다 (Table 17).

Table 17. Number of alleles per marker

Marker	Holding allele											Number of alleles	
ADL0293	106	110	112	114	116	118	120	124					8
ADL0304	138	140	152	156	158	160							6
ADL0317	178	184	186	190	192	196	198	204					8
GCT0016	109	131	133	135	137	139	141	143	153				9
LEI0094	248	252	258	260	262	264	268	276	280	282			10
MCW0029	146	148	150	152	162	164	166	168	182	186	188		11
MCW0087	266	268	270	272	274	276	278	280	282	284			10
MCW0104	193	203	207	209	211	213	217	223	225	227	229		11
MCW0123	80	82	86	88	90								5
MCW0127	227	229	231	233	235	237	239	241	259	263	271		11
MCW0145	178	190	200	204	206	210	212						7
MCW0330	257	269	275	277	289								5

(2) MS 마커 Single PCR

1차년도에서 선발한 12종의 각 MS 마커(ADL0293, ADL0304, ADL0317, GCT0016, LEI0094, MCW0029, MCW0087, MCW0104, MCW0123, MCW0127, MCW0145, MCW0330)별로 dye가 붙지 않은 Foward primer 및 Reverse primer를 사용하여 Single PCR을 수행하였다.

(3) Gel electrophoresis purification

10X TBE buffer (Tris/Borate/EDTA)를 distilled water를 이용하여 0.5X TBE buffer로 희석을 한 후 TBE buffer와 Agarose powder (Bioneer, Korea), Ethidium bromide(EtBr)를 정량 측정하여 2%의 Agarose Gel를 제작한다. Single PCR 산물을 100V의 전압에 약 50분간 Gel electrophoresis 하여 단일 염기 가닥의 band를 확인한다. band를 칼로 잘라 Gel 덩어리를 AccuPrep® Gel Purification Kit (Bioneer, Korea)을 이용하여 불순물을 제거하여 순수한 DNA 절편만 남도록 정제한다.

(4) Reaction PCR, Ethanol down 및 Sequence analysis

정제된 DNA 절편을 경우에 따라 Forward 혹은 Reverse Primer와 BigDye® Terminator

v3.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 절편 끝에 ddNTP로 Reaction PCR을 진행하여, 각 서열에 dye가 달려있는 ddNTP를 붙여 종결이 되는 사슬 종결 법으로 증폭시켜주었다. 증폭된 DNA 절편들을 EtOH 침전법을 통하여 정제를 해주었다. 수용액인 DNA에서 녹지 않게 Sodium acetate를 이용하여 음전하를 blocking하고, EtOH를 넣어 DNA에서 물 분자와 수소결합을 끊어 불용성 물질로 만들어 Tube 밑바닥에 pallet의 형태로 침전을 시킨다. Reaction PCR 산물과 Sodium acetate(NaOCH), 70%의 EtOH를 이용해 DNA를 용출해낸다. 용출된 DNA를 농도에 따라 10X ~ 100X 정도 Hi-Di™ formamide로 희석하고 Heating과 Icing 과정을 거쳐 단일가닥으로 유지하였다. 그 후, Genetic Analyzer 3730 (Applied Biosystems, USA) 장비를 사용하여 Sequencing analysis를 수행하였다.

(5) Repeat sequence 구조 확인 및 대립유전자 크기 비교

각 마커의 Repeat sequence 구조 분석 Biological Sequence Alignment Editor (version 7.2.5 BioEdit, USA)을 Sequence의 크기를 이용하여 결정하였다. 1차년도에 분석된 MS marker별 대립유전자형 결과와 Reference data (National Center for Biotechnology Information NCBI, USA)의 염기서열을 각각 비교하였다.

나. 연구수행 결과

(1) 12 MS 마커별 Sequence size 검증

12종의 MS 마커 조합의 정확한 allele별 size를 검증하기 위해 실시하였다. Sequencing 결과물과 1차년도의 Microsatellite Genotyping 결과를 비교하여 검증하였으며 Repeat Sequence와 Whole Sequence의 구조를 알아내었다 (Table 18)

Table 18. Sequence structure by marker

Marker	Size	Repeat sequence	Whole sequence
ADL0304	138-162	(TG) _n	GGTACACCGGGGTGCCTGAGTATGCA(TG) _n ATGGGAATGGGTGAACGCACTAGTTAAAAAGG AAAAAGCATGAGCAATGTGGAA TCCCAGAGCACACTGTCCTGATAATTCACATG TAATGAAGATATAATGTAATATATAATATAG
ADL0317	178-204	(CA) _n	AATGTCATGAATCAACTGCTGAAATACGCTTTA AATGTCAGACATTTAAATGTCAGACATTGGTTCG CAGAGGTGTTGGATGGGA (CA) _n TGGATGGCTGACACCAACTA TTCCAAGGTTCTCCAGTTCCCAACA (TG) _n
GCT0016	109-153	(TG) _n	CAATATCAAGAAAGGAGGTGGCATGAATCTCTC TCAGACTTCCCCAGGATATCCGTGCCTGTTGCTA TCCTTATGCCA
LEI0094	232-282	(CA) _n	CTGGAGTGGTACCTCAGGATGGCTGTTATGCTTC CAGAGGGTGAAGACTTAAACGAATGGGTTGCA

Marker	Size	Repeat sequence	Whole sequence
MCW0029	131-187	(CA) _n	<p>GTTAACAGTAAGTTGGCTAA (CA)_n CTTCTTGGTGCTGAATGTGAGCTGACACTTGTG GGAAGACA ACTGTGTACTTCTTTCTAGTGATGT TCGCACC ACTCTGCACTGTGTTACAGTGTGA CAAAGTGTCTTCAGAGTGCAGGTCTGTGTTTGA GTTACC (CA)_n TGGAGGGCAAATTAATGCTATGCACGGTCCTG AATTGCTGAAAAGGTTGT TGAAGCATT TAAA (CA)_n CGAGGATTTATCATGTAAGAAGTAGGTTAAAA TACTATTAATATATAAATTGACCCCTGACAC TAGTTATGGCTCTTCAGTAAGTCTGCCTTAACT TCTGCTTTTGTCTCTAAGACTTCTGCAGTCAAA TGAAGAGAATTATACTAATTATACACTATACC ATGGAGTATTTACAGCAATTCCTGTTCTTGAGA ACTGCCTGAGAAA AAGGGGCAGGGTCTGAGCATTCTGTTTGCCCTG AGCCCAAAGGAAGCAAAAGCAGCAGCAGCAGCG</p>
MCW0087	265-289	(CA) _n	<p>TGGAGCAATGGCCACAGCAAGCAGCCCG (TG)_n CGAGTGTGTGCACACACCCCCCGAAGAGAGACAC ACTTGTGTAA ATTCTGTTTGCCCTGAGCCCAAAGGAAGCAAA AGCAGCAGCAGCAGCGTGGAGCAGTGGCCACAG</p>
MCW0104	192-232	(TG) _n	<p>CAAGCAGCCC (TG)_n CCCACATCCCCTAAGGAGGTACACAGCTGTGCAA GTCTGA TTTTTGTGTTGTTTGTGTTTGTGTTTGTGTTT (TG)_n</p>
MCW0127	226-274	(TG) _n	<p>TCTCTATCTTTTCCTCCAAACTTTCCCGAAAAA TTATATRGGGCCCTTTTTTATAGATATTTTAT ATCCCAACCCCGATGTATTTAAA CAAATGGAATAACGTCCAACTCGCTMATGAA GCTAGGATCAAGCATGTTTAGATGTGGGTGACA TAGGCTTGATTACACTTACTACGTGAAAAGAGG</p>
MCW0145	178-214	(TG) _n	<p>ATAACGTCCAACTG (CA)_n GGGCTGACTGCACAAGGATGAAAGCTATTATGA ACTCAATCATTTGAGTAAACGGATTTAAAGAG AATAAAGTAAATAAGCAGGA ACTCTATGAGAA CATATGATA</p>
MCW0330	252-286	(CA) _n	

(2) 12 MS 마커별 Repeat Sequence 구조

Biological Sequence Alignment Editor (version 7.2.5 BioEdit, USA)를 사용하여 분석한 마커의 allele별 구조는 Figure 24~32 과 같이 나타났으며, Repeat Sequence 구조를 확인하였다.

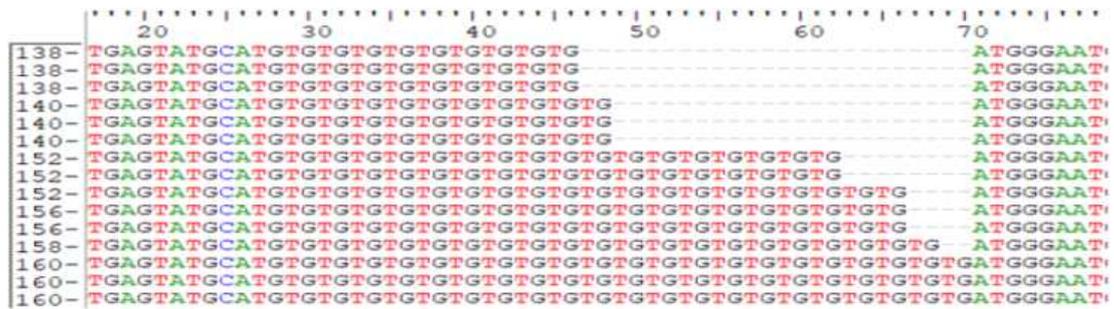


Figure 24. ADL0304 Marker analysis using Bioedit program

ADL0304의 allele 값은 138, 140, 152, 156, 158, 160으로 6개의 allele 값을 보유하고 있다. (TG)_n의 염기가 반복되는 Repeat Sequence 구조를 가지며 전체 sequence는 <GGTACACCGGGTGCCTGAGTATGCA (TG)_n ATGGGAATGGGTGAACGCACTA GTTAAAAAGGAAAAAGCATGAGCAATGTGGAA>의 구조를 갖는다.

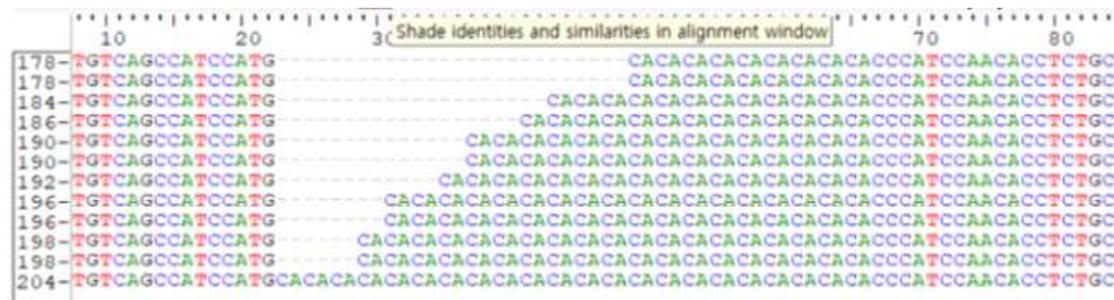


Figure 25. ADL0317 Marker analysis using Bioedit program

ADL0317의 allele 값은 178, 184, 186, 190, 192, 196, 198, 204로 8개의 allele 값을 보유하고 있다. (CA)_n의 염기가 반복되는 Repeat Sequence 구조를 가지며 전체 sequence는 <TCCAGAGCACACTGTCCTGATAATTCACATGTAATGAAGATATAATGTAA ATATAATATAGAAATGTCATGAATCAACTGCTGAAATACGCTTTAAATGTC AGACATTTAAATGTCAGACATTGGTCGCAGAGGTGTTGGATGGG(AC)_n CATGGATGGCTGACACCAACTA>의 구조를 갖는다.

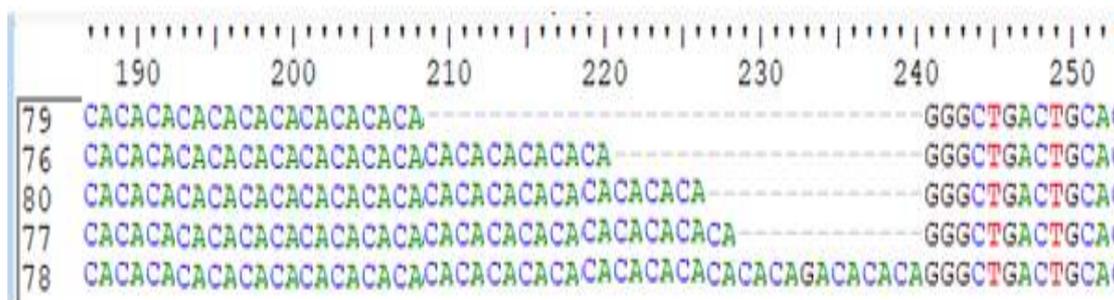


Figure 26. MCW0330 Marker analysis using Bioedit program

MCW0330의 allele 값은 257, 269, 275, 277, 289로 5개의 allele 값을 보유하고 있다. (CA)_n의 염기가 반복되는 Repeat Sequence 구조를 가지며 전체 sequence는 <TCCAGAGCACACTGTCAGTATAATTACATGTAATGAAGATATAATGTAATATATAATATAGAATGTCATGAATCAACTGCTGAAATACGCTTTAAATGTCAGACATTAAATGTCAGACATTGGTCGCAGAGGTGTTGGATGGG(AC)_nCATGGATGGCTGACACCAACTA>의 구조를 갖는다.



Figure 27. LEI0094 Marker analysis using Bioedit program

LEI0094의 allele 값은 248, 252, 258, 260, 262, 264, 268으로 7개의 allele 값을 보유하고 있다. (AC)_n의 염기가 반복되는 Repeat Sequence 구조를 가지며 전체 sequence는 <CTGGAGTGGTACCTCAGGATGGCTGTTATGCTTCCAGAGGGTGAAGACTTAAACGAATGGGTTGCAGTTAACAGTAAGTTGGCTAA (CA)_n CTTCTTGGTGCTGAATGTGAGCTGACACTTGTGGGAAGACAACCTGTGTACTTCTTTCTAGTGATGTTCGCACCACTCTGCACTGTGTTACAGTGTGA>의 구조를 갖는다.

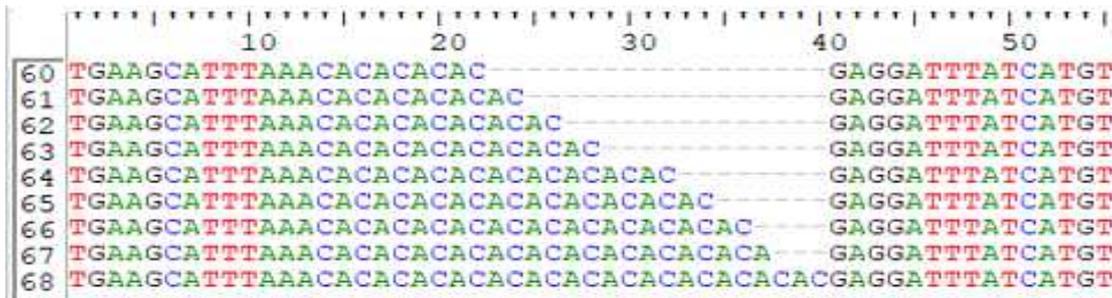


Figure 28. MCW0087 Marker analysis using Bioedit program

MCW0087의 allele 값은 266, 268, 270, 272, 276, 278, 282, 284, 286으로 7개의 allele 값을 보유하고 있다. (AC)_n의 염기가 반복되는 Repeat Sequence 구조를 가지며 전체 sequence는 <TGAAGCATTTAAA(AC)_nCGAGGATTTATCATGTAAGAAGTAGGTTAAATACTATTAATATATAAATTGACCCCTGACACTAGTTATGGCTCTTCAGTAAGTCTGCCTTAACTTCTGCTTTTGTCTCTAAGACTTCTGCAGTCAAATGAAGAGAATTATACTAATTATACACTATACCATGGAGTATTTACAGCAATTCCTGTTCTTGAGAACTGCC TGAGAAA>의 구조를 갖는다.

〈TTTTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTT (GT)_n TCTCTATCTTTTCC
 TCCAAACTTTCCCCGAAAAATTATATRGGGCCCTTTTTTATAGATATTTTATATCC
 CCAACCCCGATGTATTTAAA〉의 구조를 갖는다.



Figure 32. MCW0104 Marker analysis using Bioedit program

MCW0104의 allele 값은 193, 203, 207, 209, 211, 213, 217, 223, 225, 227, 229으로 11개의 allele 값을 보유 하고 있다. (CA)_n의 염기가 반복되는 Repeat Sequence 구조를 가지며 전체 sequence는
 〈AAGGGGCAGGGTCTGAGCATTCTGTTTGCCCCTGAGCCAAA
 GGAAGCAAAAGCAGCAGCAGCAGCGTGGAGCAATGGCCACAGCAAGCAGCCCG
 (TG)_n CGAGTGTGTGCACACACCCCCCGAAGAGAGACACACTTGTGTAA〉의 구조를 갖는다.

4. 신품종 토종종계 PL의 유전자형 확보 및 DB 구축을 위한 유전자형 정보제공

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

앞선 연구를 통해 선별한 96 SNP 마커의 식별력 강화 및 주요 PL(Pure Line)의 유전자형 정보를 구축하기 위해 한협외의 순계 품종(HF, HH, HY)과 비교분석에 사용될 상용 육용(Arbor Acre, Cobb, Ross) 및 산란계(Lohmann Brown)와 토종 실용계(WM_2, Yelim K, Hyunin), 실용 GSP DNA 샘플을 확보하였다(Table 19).

Table 19. Number of samples collected and the experimental samples.

Type	Breed	experiment sample
Hanhyup Pure Line	Hanhyup F	36
	Hanhyup H	36
	Hanhyup Y	26
Korean Commercial Chicken	WM_2	10
	Yelim K	5
	Hyunin	5
Broiler Commercial Chicken	Arbor Acre	11
	Cobb	8
	Ross	20
Layer Commercial Chicken	Lohmann brown	5
GSP Commercial Chicken	GSP_cc (HFHY)	10
	GSP_cc (FHFY)	10
	GSP_cc (FHHY)	10
Total		192

(2) Fluidigm SNP 유전자형 분석

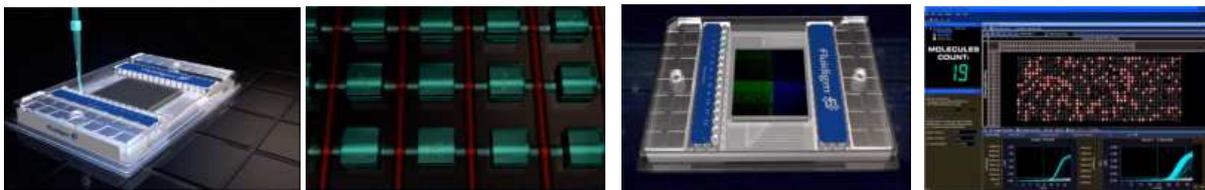


Figure 33. The example steps for Fluidigm SNP genotype array.

SNP 분석은 Fluidigm SNP chip을 이용하여 선별된 96개의 SNP 유전자형을 확인하였으며, 총 192개의 샘플을 분석하였다(Figure 33). 실험의 수행과정을 192개의 각각의 샘플과 SNP array를 특수 제작한 Fluidigm SNP chip에 주입 후, hybridization 후에 genotype의 신호를 Digital array를 이용해 스캐닝하여 genotype의 정보를 얻은 후, Biomark software을 이용하여 이미지를 분석하여 genotype을 얻어내었으며, plink 등의 분석방법을 이용하여 QC를 수행했다.

(3) 선별된 96 SNP 마커의 식별능 검증

품종구분을 위한 96개의 SNP 마커의 식별능 검증 방법에는 우선, QC를 통해 분석에 문제

가 있는 missing SNP를 제거한 후, 확보된 마커의 유전자형 정보를 바탕으로 MDS(Multi-dimensional scaling)분석을 통해 품종 식별 여부를 확인하였다.

선발된 96 SNP 마커의 식별능을 검증하기 위해서 이전 단계를 통해 획득한 283 마리 (Ab:10, Cobb:12, HA:20, HF:23, HG:23, HH:23, HL:10, HS:23, HV:23, HW:23, HY:21, HZ:15, LO:10, NC:6, ND:6, NH:6, NR6, NS:5, NY:5, Ross:12)의 600K SNP 데이터서 96개의 SNP마커를 추출하여 함께 MDS분석을 통해 분산 정보를 획득하였다. 획득된 분산정보를 기계학습을 적용하여 이전 600K 정보에서 얻은 데이터를 학습 데이터로 이용하고, 96 SNP 정보 데이터를 테스트 데이터로 이용하여 각 기계학습 모델별 정확도(ROC curve)를 도출하여 최적의 모델을 선정하였다(Figure 34).

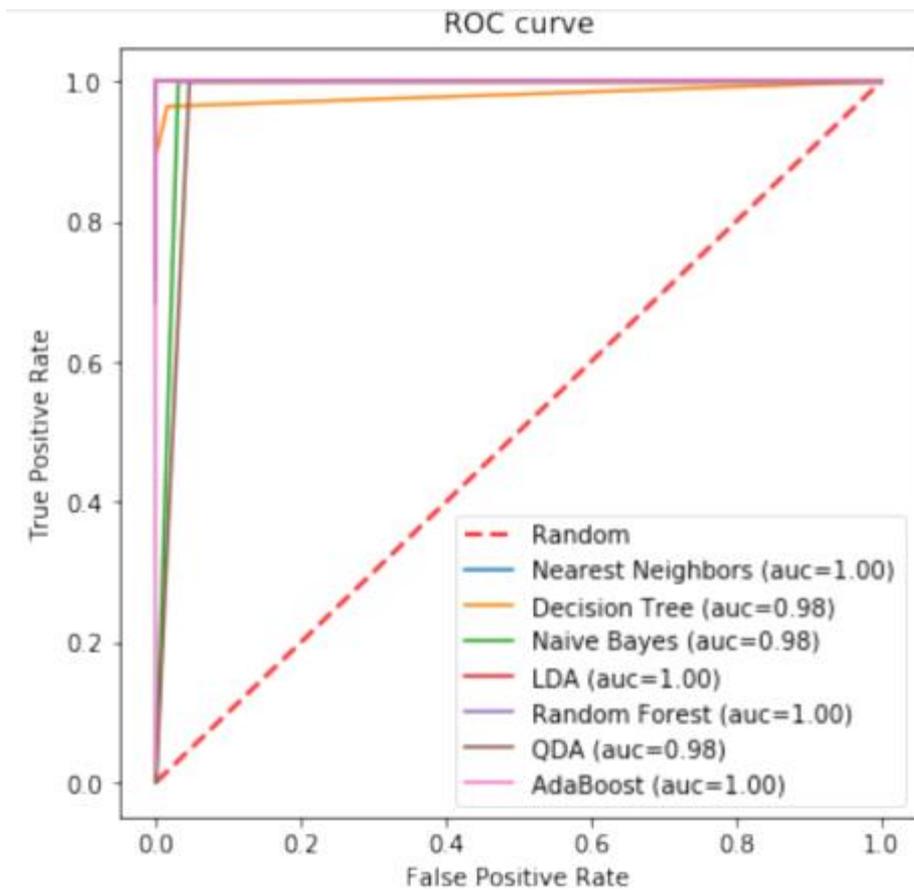


Figure 34. Numerical accuracy values of machine learning models for breed discrimination.

가. 연구수행 결과

3, 4세부의 PS교배조합능력 평가에 따른 주요 PL(Pure Line)가 HF, HH, HY로 확정되었다. 이에 반해 2 차년도에 선발한 SNP 마커 조합의 경우 주요 계통이 확정되기 이전에 선별된 마커 조합이기 때문에 HF와 HH 계통만을 구분 가능한 조합으로 구성되어있다. 따라서 마커 조합의 품종 구분력 강화를 위해서는 추가적인 HY 계통의 유전자형 분석을 통해 SNP 마커 조합의 재구성과 재구성 된 마커들의 대한 주요 PL의 유전자형 정보의 데이터베이스 구축이 필요로 하게 되었다(Figure 35).

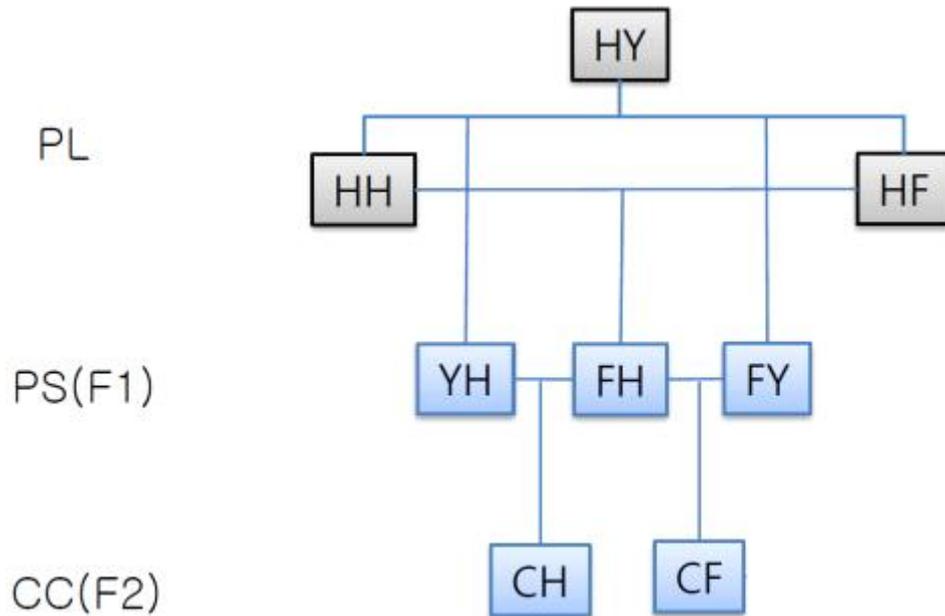


Figure 35. GSP commercial chicken combination schematic.

주요 계통인 HF, HH 및 HY를 구분 가능한 마커를 선별하기 위해 이전 단계를 통해 획득한 총 283 마리(Ab:10, Cobb:12, HA:20, HF:23, HG:23, HH:23, HL:10, HS:23, HV:23, HW:23, HY:21, HZ:15, LO:10, NC:6, ND:6, NH:6, NR6, NS:5, NY:5, Ross:12)의 600K SNP 데이터를 이용하여 case-control test를 실시하였다. 이때 본 연구의 목표가 되는 3 계통(HF, HH, HY)을 case 집단으로 설정하고 기타 집단을 control 집단으로 설정하여 plink software를 이용하여 case 집단에 특이적인 SNP를 선별 하였다(Figure 36).

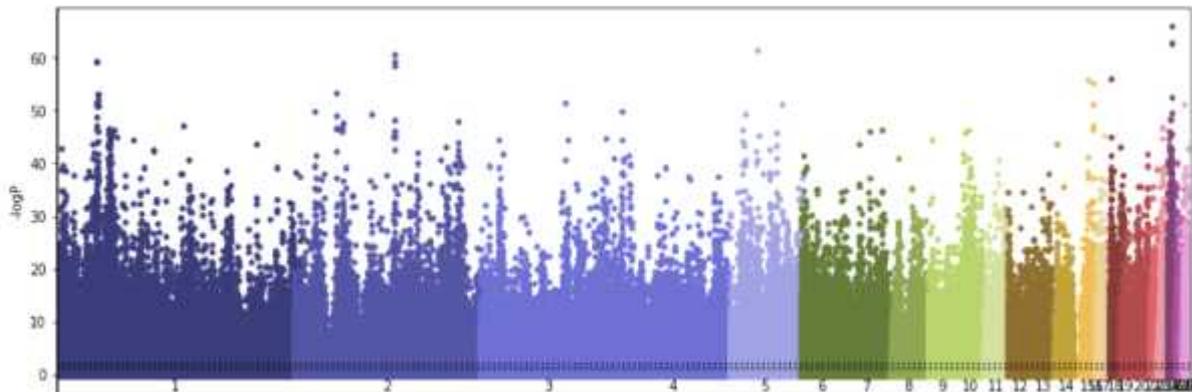
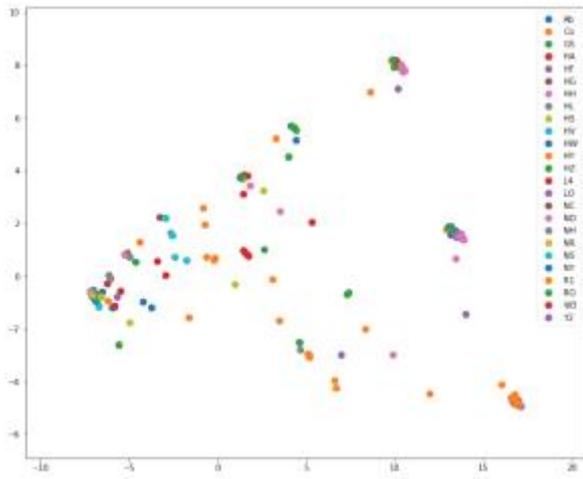


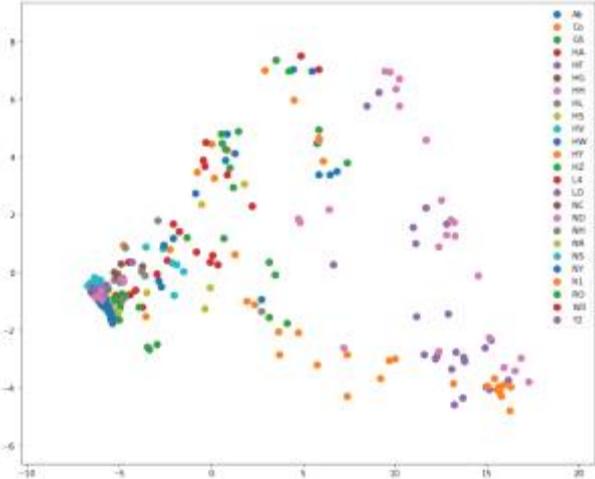
Figure 36. Case-Control association test to select specific SNPs of target lines.

Case-control test를 통해 획득한 유의미한 SNP 중 상위 96개의 SNP를 선별하였다. 이때 선별된 SNP 마커들이 거대 염색체에 편향되어 선별되는 것을 방지하고 품종 구분력을 높이기 위해 SNP 마커 사이의 LD(Linkage Disequilibrium) block을 계산하고 이에 따른 거리간격으로 SNP를 선별하였고, 선별된 마커를 이용한 MDS 분석을 실시하였다(Figure 37).

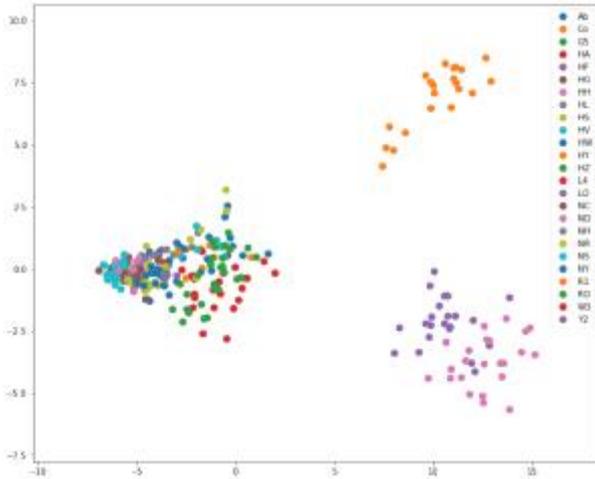
A) No LD block interval marker selection



B) 1 LD block interval marker selection



C) 50 LD block interval marker selection



D) 100 LD block interval marker selection

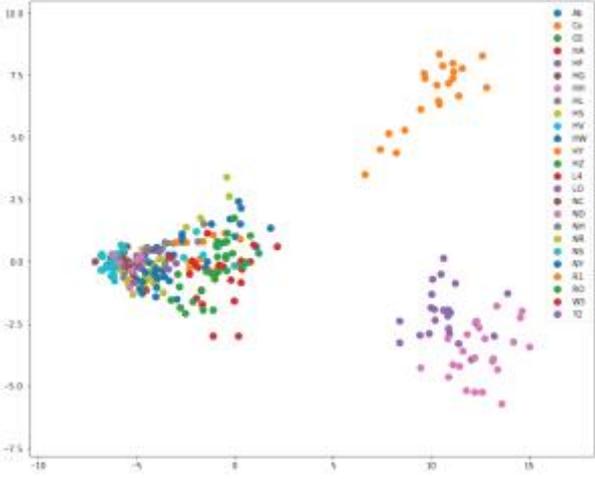
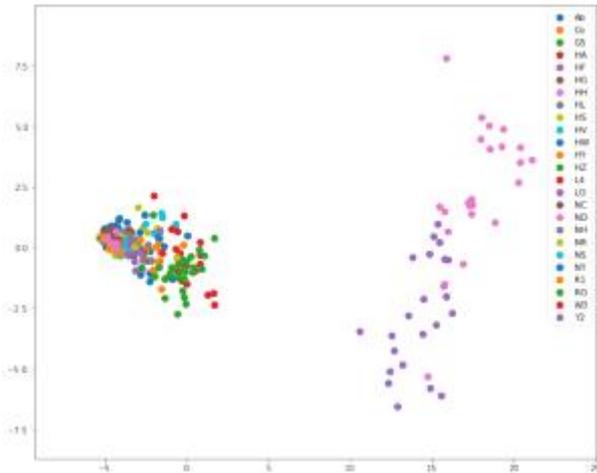


Figure 37. MDS plot of the difference in the number of LD blocks between selected markers.

LD block에 따른 SNP 마커 선별 결과 50 LD block 당 1개의 SNP 마커를 선별하는 것이 품종 구분력이 가장 뛰어난 것으로 확인 되었다(Figure 37_C). 이에 반해 LD block 없이 선별 결과(Figure 37_A)나 1 LD block 당 선별 결과(Figure 37_B)에서는 case 집단의 구분이 명확하지 않은 것으로 확인 되었다. 따라서 case 집단의 구분이 명확한 50, 100 LD block 당 선별 결과 중 유전체 전체에 SNP가 고루 분포한 50 LD block 간격 결과를 이용하여 96개의 유의미한 SNP 마커를 선별하였다.

A) HH, HF를 Case로 설정한 결과



B) HH, HF, HY를 Case로 설정한 결과

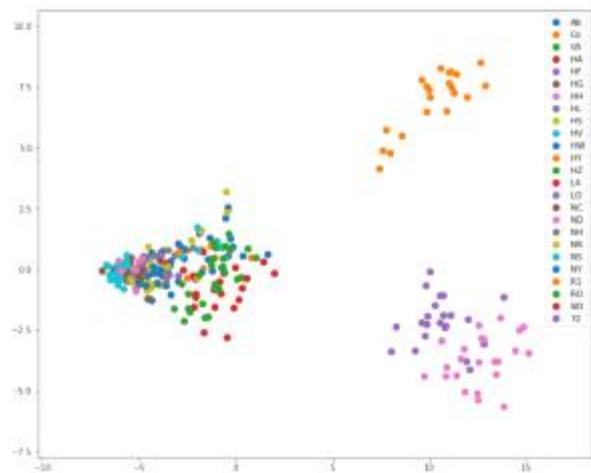


Figure 38. MDS plot using existing and new markers.

기존의 96 SNP 마커와 새롭게 선발된 96 SNP 마커를 MDS 분석을 통해서 결과를 비교하였다. 비교결과 새롭게 선발된 SNP 마커는 기존 선발 마커와 달리 HY 계통 또한 HF, HH 계통과 같이 명확한 분리가 가능하였다(Figure 38_B). 보다 정확한 validation test를 위해서 획득한 SNP 마커 정보를 활용하여 주요 계통인 HF, HH, HY 교배를 통한 가상의 F1, F2 자손을 총 488수 생성하였다(Figure 39). 가상의 자손은 아버지와 어미의 유전자형을 임의로 선발 및 조합하여 유전자형 정보를 생성하였다.

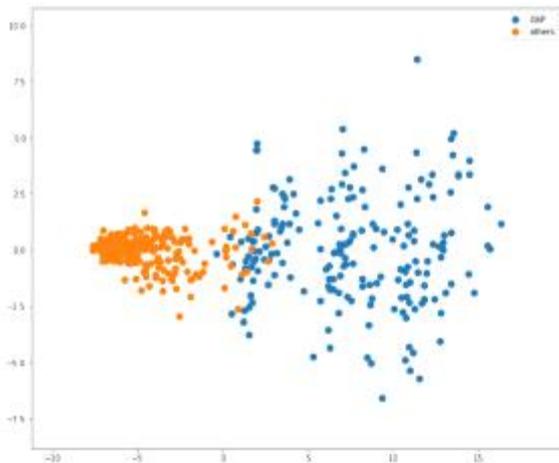
선발된 96 SNP 마커 정보 및 가상의 자손 정보를 활용하여 MDS 분석을 실시한 결과 기존의 HF 및 HH만을 구분 가능한 마커 보다 주요 계통(HF, HH, HY) 모두를 구분 가능한 새로운 마커에서 보다 명확하게 집단의 분리 경향을 확인 할 수 있었다(Figure 39). 이는 기존의 마커에서는 HY 계통을 control 집단으로 인식하기 때문에 case 집단인 HF 및 HH 계통의 구분은 명확하게 이뤄지지만 HF, HH와 HY 간에 생성된 GSP 실용계(CH, CF, YH, FY)의 경우 유전적 조성을 공유하기 때문에 상대적으로 구분이 모호한 경향을 갖는다(Figure 39_A). 하지만 새로운 마커에서는 주요 계통인 HY 또한 case 집단으로 판단하기 때문에 보다 정확하게 구분이 가능 한 것으로 판단된다(Figure 39_B).

선발된 SNP 마커의 cross validation test를 위해서 새롭게 genotyping을 진행하였다. 96 SNP 마커의 유전자형 정보를 얻기 위해 Fluidigm genotyping chip을 제작하여 한협외의 순계 품종(HF, HH, HY)과 비교분석에 사용될 상용 육용(Arbor Acre, Cobb, Ross) 및 산란계(Lohmann Brown)와 토종 실용계(WM_2, Yelim K, Hyunin), 실용 GSP 샘플을 포함한 총 192마리의 유전자형 분석을 실시하였다(Figure 40).

유전자형 분석 결과 전체 call rate가 99.85%로 전반적으로 유전자형 분석이 잘 이루어졌음을 확인하였다. 일부 call이 되지 않은 데이터 분석 결과에 영향을 주지 않는다고 판단되어 전체 평균값으로 대체하여 분석을 진행하였다. 집단의 분리 경향을 확인하기 위해 새로이 획득한 유전자형 정보와 기존 600K 데이터에서 추출한 데이터를 모두 합하여 MDS 분석을 실시하였다(Figure 41). 분석 결과 validation test를 위해 획득한 실제 데이터 또한 가상 자손의 결과와 동일한 패턴의 결과를 나타내었다. case 집단과 control 집단의 분리가 명확하게 확인되었으며, 주요 계통간의 교배로 생성된 GSP_cc 개체의 경우 HF,HH 집단과 HY 집단의 사이에 분

포하는 것을 확인 할 수 있었다

A) HH, HF를 Case로 설정한 결과



B) HH, HF, HY를 Case로 설정한 결과

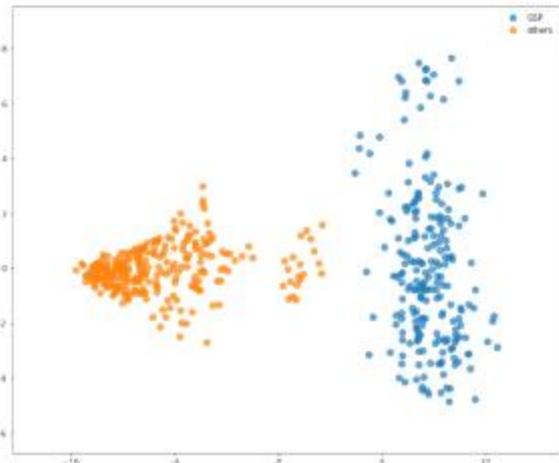


Figure 39. Set of existing and new markers MDS plot results with virtual offspring.

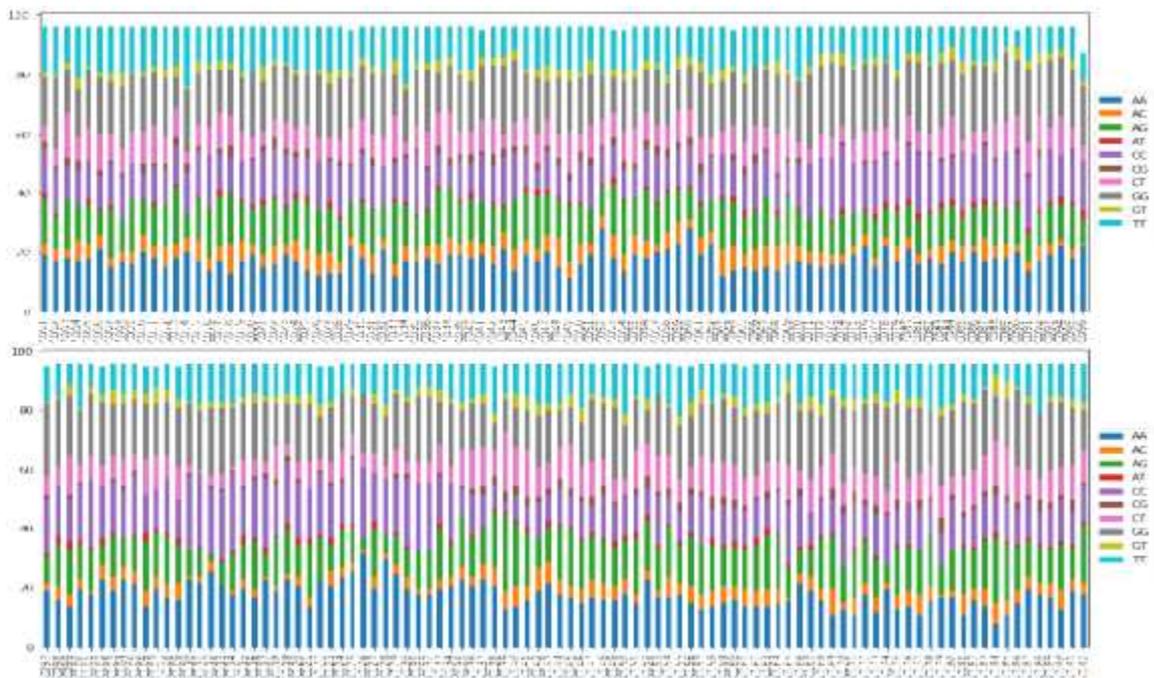


Figure 40. Fluidigm 96 SNP marker genotyping results for each individual.

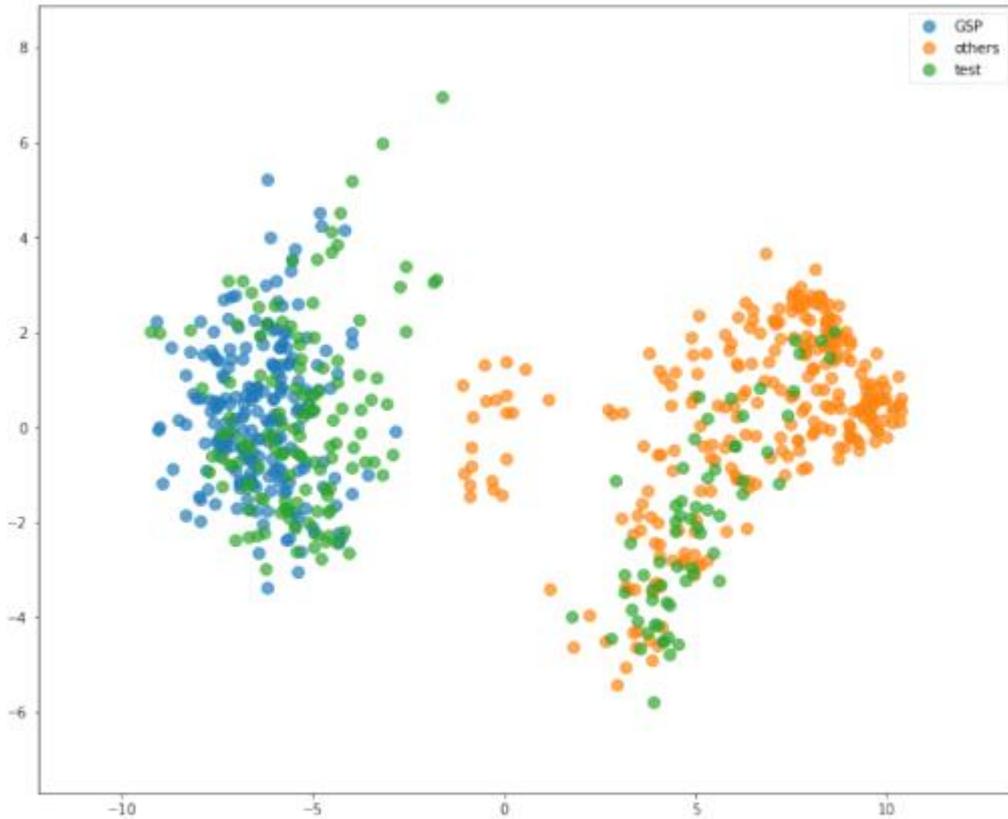


Figure 40. Set of existing and new markers MDS plot results with virtual offspring and real data.

신규 96 SNP 마커의 식별능 검증을 보다 정확하게 수행하기 위해 MDS 분석을 통해 얻은 분산 정보를 바탕으로 기계학습을 실시하여 식별능을 수치화하였다. 기계학습은 기존의 600K 데이터에서 획득한 283 수와 가상자손 488 수를 포함한 총 771 수의 데이터를 학습 데이터 세트로 사용하였고, 새롭게 획득한 192 수의 유전자형 정보를 테스트 데이터 세트로 이용하여 각각의 기계학습 모델에 따른 정확도를 평가하였다. 본 연구에서는 총 8 가지의 기계학습 모델을 적용하였다(AdaBoost, Decision Tree, Linear Discriminant Analysis, Linear SVM, Naive Bayes, Nearest Neighbors, Quadratic Discriminant Analysis, RBF SVM, Random Forest). 또한 각각의 모델의 정확도는 ROC(Receiver operating characteristic) curve를 도출하여서 평가하였다(Figure 42).

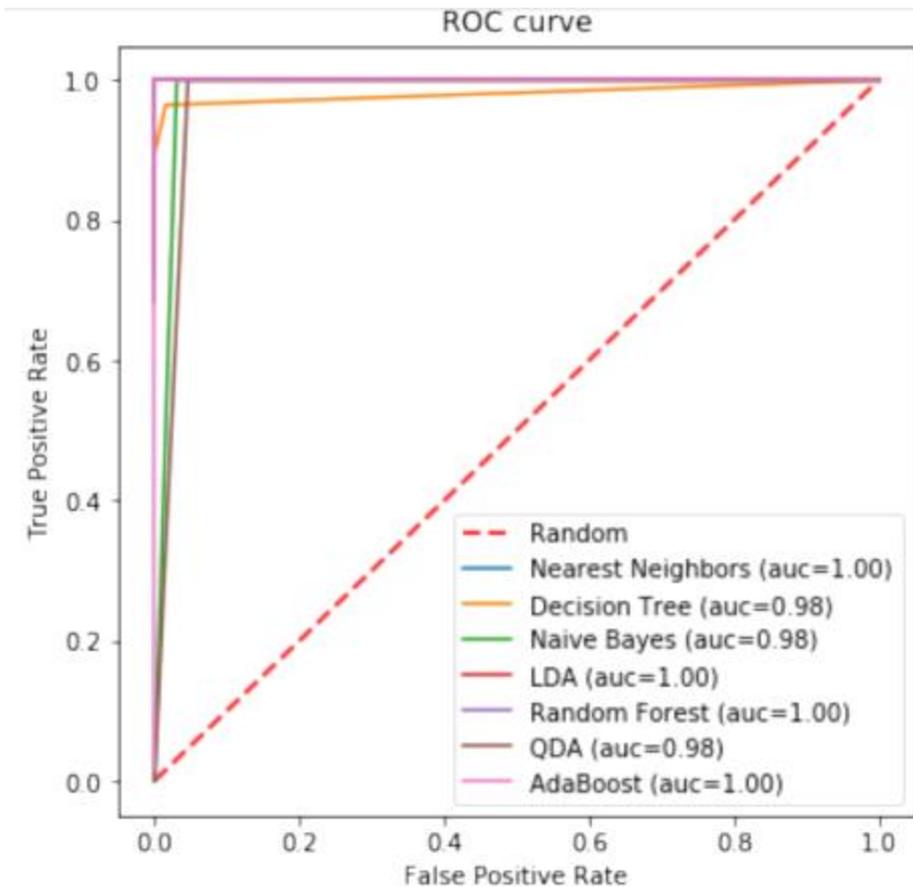


Figure 42. Numerical accuracy values of machine learning models for breed discrimination.

기계학습 모델 별 정확도를 도출한 결과 전반적인 모델에서 높은 수준의 정확도로 품종을 구분 가능한 것을 확인하였다(Table 20). 특히, Linear Discriminant Analysis 모델의 경우 GSP 품종(HF, HH, HY, YH, FH, FY, CH, CF)과 그 외 품종을 100% 확률로 구분이 가능한 것으로 확인이 되었다(Figure 43_A). 이 외에도 Linear SVM, Nearest Neighbors 모델에서도 각각 99.48%와 97.40%로 높은 수준의 정확도를 확인하였다(Figure 43_B,C). 더불어, 실제 참값을 참값으로 인지할 확률의 지표인 Sensitivity는 모든 모델에서 100%의 정확도를 나타내었다. 이는 임의의 개체가 GSP 품종일 경우 이를 GSP 품종이라고 판단할 확률이 100%를 의미한다. 위와 같이 전반적으로 높은 수준의 품종 구분력을 보인 이유는 앞서 선발한 96 SNP 마커들이 본 연구의 주요 타겟인 HF, HH, HY의 특이적이 SNP를 잘 반영했기 때문으로 사료된다.

Table 20. The accuracies for different machine learning models for breed identification using 96 SNP markers.

	AdaBoost	Decision Tree	Linear Discriminant Analysis	Linear SVM	Naive Bayes	Nearest Neighbors	Quadratic Discriminant Analysis	RBF SVM	Random Forest
Accuracy	0.96	0.96	1.00	0.99	0.92	0.97	0.92	0.33	0.95
Sensitivity	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	NA	1.00
Specificity	0.90	0.90	1.00	0.98	0.81	0.93	0.80	0.33	0.88

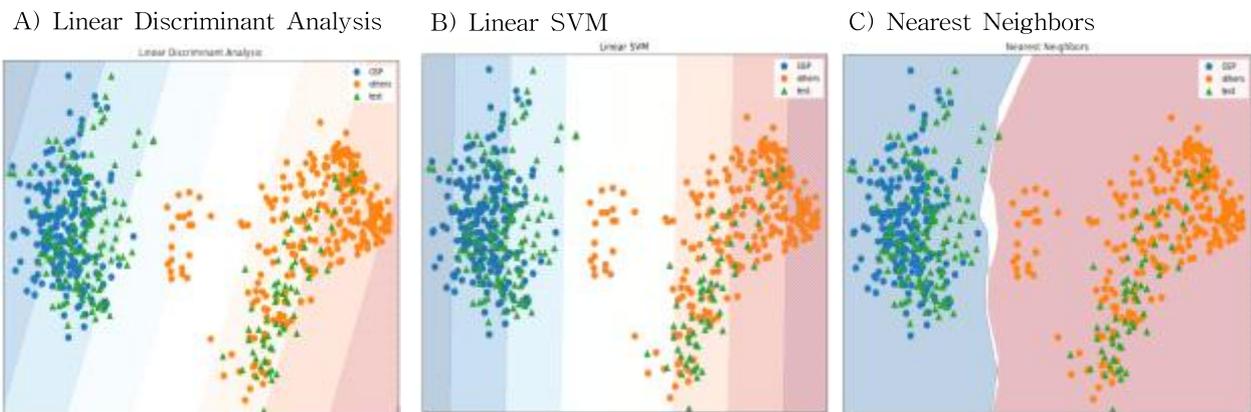


Figure 43. Group clustering trend plot by Machine Learning Model.

품종 구분을 위한 최적의 마커 조합을 선별하기 위해 18년도에 선별한 96 SNP 마커 세트와 신규 96 SNP 마커 세트의 유전자형 정보를 모두 이용하여 최적의 마커 조합을 탐색하였다. 마커 조합의 탐색을 위해 각각 18년도 96 SNP 마커 세트의 11개, SNP 마커와 19년도 96 SNP 마커 세트의 96 SNP 마커를 이용하여 총 107 SNP 마커에서 선별 과정을 수행하였다.

107 SNP 마커를 이용한 기계 학습은 기존의 600K 데이터에서 획득한 283 수와 가상자손 488 수를 포함한 총 771 수의 데이터를 학습 데이터 세트에 사용하였고, 새롭게 획득한 182 수의 유전자형 정보를 테스트 데이터 세트에 사용하여 각각의 기계 학습 모델에 따른 정확도 및 특징 중요도(Feature importance)를 도출하였다(Figure 44).

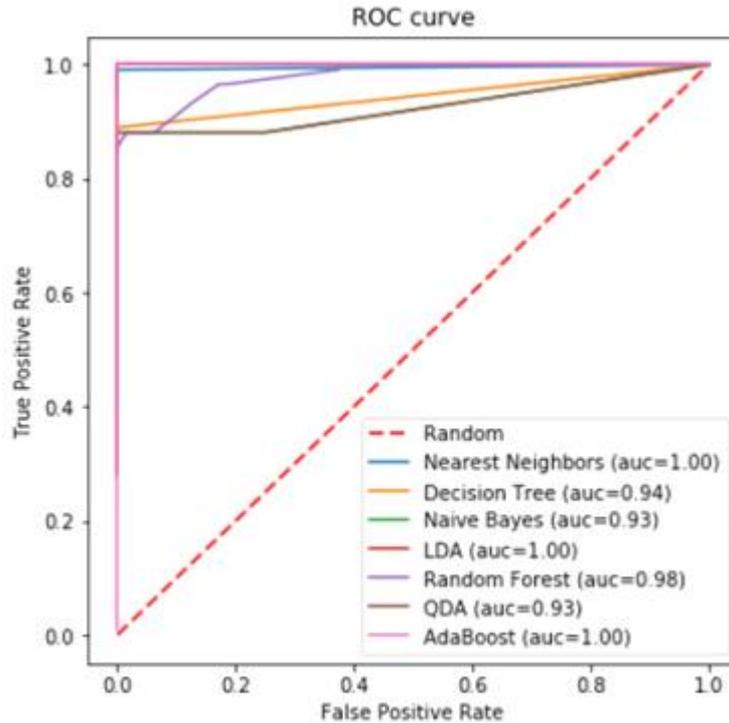


Figure 44. Numerical accuracy values of machine learning models for breed discrimination using 107 SNP markers.

마커 조합의 최적화를 위해 전체 107개의 SNP 중 품종 구분에 실질적으로 영향을 주는 SNP를 특징 중요도(Feature Importance:FI)에 기초하여 선발하였다. 선발 결과 Decision Tree 모델에서 8개, Random Forest 모델에서 44개, AdaBoost 모델에서 36개의 SNP 마커를 각각 선발하였다. 모델별 특징 중요도로 선발된 SNP들은 일부 중복된 값을 가지고 있었으며, 총 61개의 SNP로 구성 되어있었다. 따라서, 품종 구분에 실질적으로 영향을 준다고 판단되는 61개의 SNP를 최적의 SNP마커 조합으로 선발하였다(Figure 45).

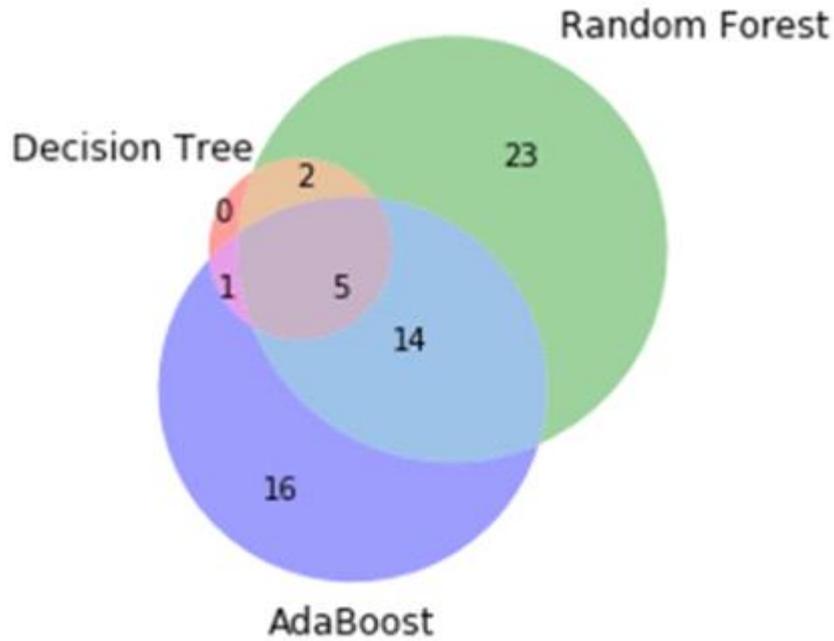


Figure 45. Venn diagram for the number of markers in the marker combination by the models.

선발된 최적의 마커 조합을 바탕으로 validation test를 진행하였다. validation test는 앞선 방법과 동일하게 기존의 600K 데이터에서 획득한 283 수와 가상자손 488 수를 포함한 총 771 수의 데이터를 학습 데이터 세트로 사용하였고, 새롭게 획득한 182 수의 유전자형 정보를 테스트 데이터 세트로 이용하여 마커 조합의 정확도를 평가하였다.

Table 21. The accuracies for different machine learning models for breed identification using optimal marker combinations.

	AdaBoost	Decision Tree	Linear Discriminant Analysis	Naive Bayes	Nearest Neighbors	Quadratic Discriminant Analysis	Random Forest
Accuracy	0.995	0.93	1.00	0.918	0.984	0.918	0.934
Sensitivity	0.992	0.890	1.00	0.873	0.975	0.873	0.898
Specificity	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

최적의 SNP 마커 조합에 대한 정확도 평가 결과 Linear Discriminant Analysis 모델에서 100%의 정확도로 가장 높은 정확도를 보였다. AdaBoost 모델 또한 99.5%으로 높은 수준의 정확도를 나타냈다(Table 21, Table 22).

Table 22. The results by machine learning model for breed identification using 61 selected SNP markers.

Breed	Experiment samples	AdaBoost	Decision Tree	Linear Discriminant Analysis	Naive Bayes	Nearest Neighbors	Quadratic Discriminant Analysis	Random Forest
Hanhyup F	36	1.0	0.917	1.0	0.972	1.0	0.972	0.972
Hanhyup H	36	1.0	0.944	1.0	0.972	1.0	0.972	0.94
Hanhyup Y	26	0.961	0.769	1.0	0.731	0.962	0.73	0.769
WM_2	10	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Yelim K	5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Hyunin	5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Arbor Acre	11	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Cobb	8	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Ross	20	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Lohmann brown	5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
GSP_cc (HFHY)	10	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9
GSP_cc (HFHY)	10	1.0	0.9	1.0	0.4	0.8	0.4	0.6

결론적으로, 3차년도 연구를 통해 GSP 주요 PL 계통인 HF, HH, HY 및 주요 계통을 통해 생성되는 Commercial chicken을 타 집단으로부터 구분 가능한 61개의 최적의 SNP 마커 조합을 선별하였다. 더불어, 36개의 최소의 SNP 마커 조합으로도 99.5%의 높은 수준의 품종 구분이 가능한 것을 확인하였다. 또한 본 연구 수행으로 획득한 주요 계통의 유전자형 정보는 DB구축에 이용될 수 있도록 2세부연구에 제공되었다.

5. MS 마커를 활용한 신품종 토종종계 검증 표준화 시스템 기반 마련

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

토종 종계 PL 계통 세 품종과 육용계 한 품종(Table 23) 을 대상으로 기존 1차년도 연구내용에서 확보된 allele값 검증 방법으로 Genotyping을 실시해 각 allele별 size를 확인하였다.

Table 23. Description of the 4 chicken breeds used in the present study.

Breed	No. of sample
HH	75
HF	74
HY	21
Ross	20

(1) MS 마커 Single PCR

1차년도에서 선발한 12종의 각 MS 마커(ADL0293, ADL0304, ADL0317, GCT0016, LEI0094, MCW0029, MCW0087, MCW0104, MCW0123, MCW0127, MCW0145, MCW0330)별로 dye가 붙지 않은 Forward primer 및 Reverse primer를 사용하여 기존 확보된 대립유전자를 가지고 있는 Genomic DNA에 대한 Single PCR을 수행하였다.

(2) Gel electrophoresis purification

10X TBE buffer (Tris/Borate/EDTA)를 distilled water를 이용하여 0.5X TBE buffer로 희석을 한 후 TBE buffer와 Agarose powder (Bioneer, Korea), Ethidium bromide(EtBr)를 정량 측정하여 2%의 Agarose Gel를 제작한다. Single PCR 산물을 100V의 전압에 약 50분간 Gel electrophoresis 하여 단일 염기 가닥의 band를 확인한다. band를 칼로 잘라 Gel 덩어리를 AccuPrep® Gel Purification Kit (Bioneer, Korea)을 이용하여 불순물을 제거하여 순수한 DNA 절편만 남도록 정제한다.

(3) Reaction PCR, Ethanol down 및 Sequence analysis

정제된 DNA는 Forward 혹은 Reverse Primer와 BigDye® Terminator v3.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 절편 끝에 ddNTP로 Reaction PCR을 진행하여, 각 서열에 dye가 달려있는 ddNTP를 붙여 종결이 되는 사슬 종결 법으로 증폭시켜주었다. 증폭된 DNA 절편들을 EtOH 침전법을 통하여 정제를 해주었다. 수용액인 DNA에서 녹지 않게 Sodium acetate를 이용하여 음전하를 blocking하고, EtOH를 넣어 DNA에서 물 분자와 수소결합을 끊어 불용성 물질로 만들어 Tube 밑바닥에 pallet의 형태로 침전을 시킨다. Reaction PCR 산물과 Sodium acetate(NaOCH), 70%의 EtOH를 이용해 DNA를 용출하였다. 용출된 DNA를 농도에 따라 10X ~ 100X 정도 Hi-Di™ formamide로 희석하고 Heating과 Icing 과정을 거쳐 단일가닥으로 유지하였다. 그 후, Genetic Analyzer 3730 (Applied Biosystems, USA) 장비를 사용하여 Sequencing analysis를 수행하였다.

(4) TA Cloning을 이용한 Homozygosity allele의 clone 확보

Homozygosity allele을 보유하고 있는 것으로 확인된 샘플 중 MCW0127 마커의 Homozygosity allele을 보유하고 있는 샘플 10수를 선정하여 cloning에 이용하였다. pTOP TA Cloning kit를 사용하여 정제된 PCR product를 vector에 삽입한 후 competent cell 내부로 형질전환 시키며, 숙주세포를 배양하여 Homozygosity allele DNA를 가지는 clone을 확보한다. Clone 내 Plasmid DNA 추출은 Dyne Plasmid Miniprep Kit를 이용한다. 확보된 Plasmid DNA는 BigDye® Terminator v3.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA)를 사용해 사슬 종결 법으로 증폭한 후 ABI 3130xl을 이용하여 size를 확인한다.

가. 연구수행 결과

(1) 12 MS 마커별 allele size 검증 및 Single PCR을 통한 Homozygosity allele 확보

토종 종계의 추가 샘플 190수를 확보하여 genotyping을 실시하고 allele별 size값과 비교검증한 결과 2차년도 연구 결과에서 새로 추가된 size의 allele 18개를 확인하였다 (Table 24). Homozygosity allele을 갖는 샘플을 대상으로 각 마커에 대한 Single PCR과 Genotyping을 진행하여 Homozygosity allele을 일부 확보하였다 (Table 25).

Table 24. Number of alleles per additional sample marker

Marker	Holding allele											Number of alleles (new allele)	
ADL0293	106	108	110	112	114	116	118	120	122	124			10(2)
ADL0304	138	140	152	156	158	160							6
ADL0317	178	182	184	186	190	192	196	198	204				9(1)
GCT0016	109	129	131	133	135	137	139	141	143	153			10(1)
LEI0094	248	252	258	260	262	264	268	276	280	282			10
MCW0029	138	144	146	148	150	152	160	162	164	166	169		16(5)
	174	180	182	186	188								
MCW0087	266	268	270	272	274	276	278	280	282	284	286		11(1)
MCW0104	191	193	203	207	209	211	213	215	217	221	223		14(3)
	225	227	229										
MCW0123	80	82	86	88	90								5
MCW0127	227	229	231	233	235	237	239	241	259	263	269		12(1)
	271												
MCW0145	178	190	200	202	204	206	208	210	212				9(2)
MCW0330	257	267	269	275	277	287	289						7(2)

Table 25. Homozygosity alleles by markers obtained genotyping

Marker	Homozygosity allele										Number of alleles
ADL0293	108	110	112	114	116	118	122	124			8
ADL0317	178	182	184	186	190	192	196	198	204		9
GCT0016	109	129	131	135	137	139	141	143	153		9
LEI0094	252	258	260	262	264						5
MCW0087	266	270	272	274	276	278	280	282	284		9
MCW0127	227	229	231	233	235	239	241	259	269	271	10

(2) 12 MS 마커별 Repeat Sequence 구조

각 마커별 추가로 발견한 Homozygosity allele에 대하여 Biological Sequence Alignment Editor (version 7.2.5 BioEdit, USA)를 사용하여 구조를 분석하였다 (Figure 46~54).

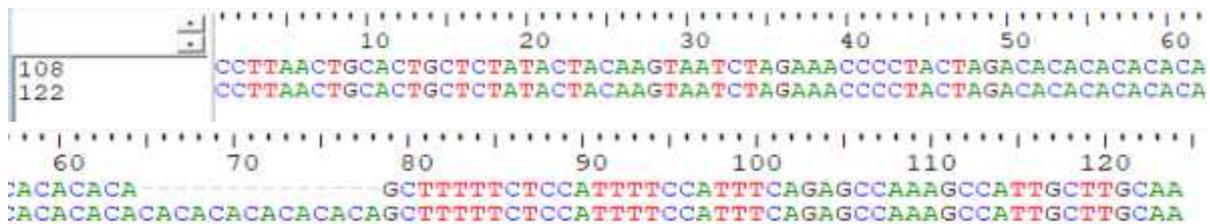


Figure 46. ADL0293 marker analysis via Bioedit program

ADL0293의 추가로 확인된 Allele 값은 108, 122 으로 (CA)_n의 염기가 반복되는 Repeat sequence 구조를 가지며 전체 Sequence는 <CCTTAACTGCACTGCTCTATACTACAAGTAATCTAGAAAACCCCATCTA (CA)_n GCTTTTTCTCCATTTTCCATTTTCAGAGCCAAAGCCATTGCTTGCAA>의 구조를 갖는다.

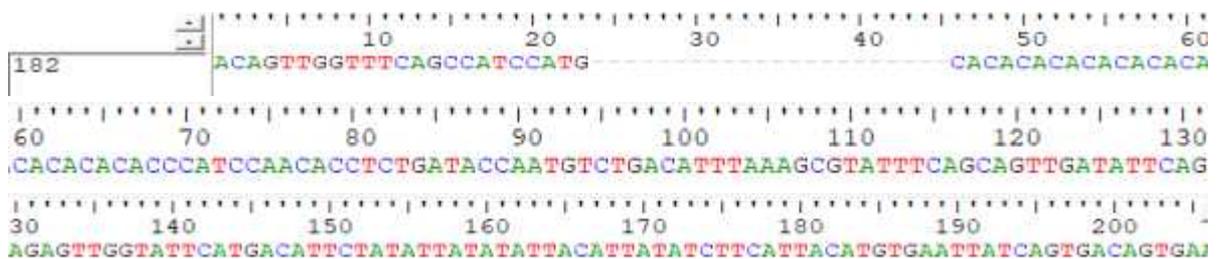


Figure 47. ADL0317 marker analysis via Bioedit program

ADL0317의 추가로 확인된 Allele 값은 182 으로 (CA)_n의 염기가 반복되는 Repeat sequence 구조를 가지며 전체 sequence는 <ACAGTTGGTTTCAGCCATCCATG (CA)_n CCCATCCAACACCTCTGATACCAATGTCTGACATTTAAAGCGTATTTTCAGCAGTTGATATTCAGAGTTGGTATTCATGACATTCTATATTATATATTACATTATATCTTCATTACATGTGAATTATCAGTGACAGTGAA>의 구조를 갖는다.

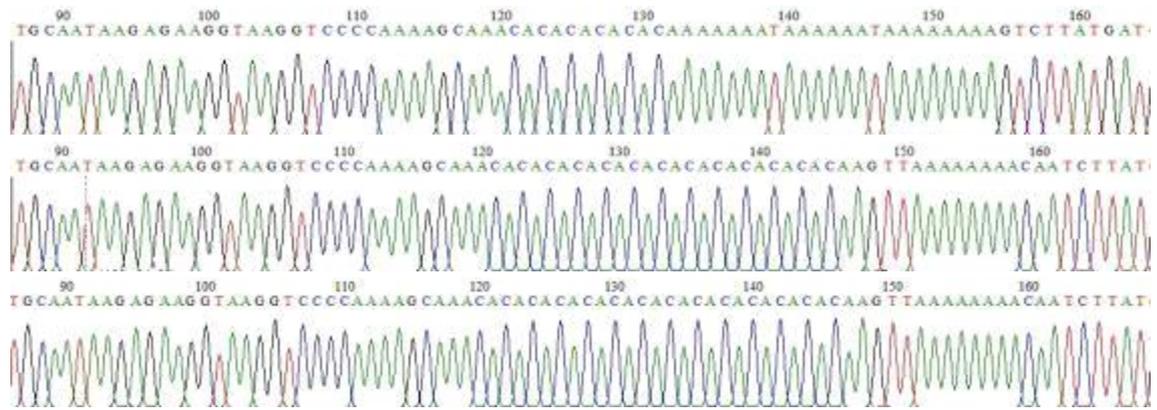


Figure 55. Sequencing for the Homozygosity allele of MCW0127

5. 최소 SNP 마커조합 확립 및 Kit 제작

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

3년차 연구를 통해 선별한 최적의 61 SNP 마커 조합의 토종종자 인증 Kit 제작 및 주요 PL(Pure Line)의 유전자형 정보를 구축하기 위해 한협외의 순계 품종(HF, HH, HY)과 비교분석에 사용될 상용 육용(Indian River, Ross), GSP 실용계(GSP_CC) DNA 샘플을 추가로 확보하였다(Table 26).

Table 26. Number of samples collected and the experimental samples.

Type	Breed	experiment samples
2013 Hanhyup Pure Line	Hanhyup F	49
	Hanhyup H	39
	Hanhyup Y	15
2016 Hanhyup Pure Line	Hanhyup F	159
	Hanhyup Y	166
2019 Hanhyup Pure Line	Hanhyup F	99
	Hanhyup H	87
	Hanhyup Y	49
Broiler Commercial Chicken	Indian River	72
	Ross	66
GSP Commercial Chicken	GSP_CC (FHFY)	37
	GSP_CC (FHHY)	40
	GSP_CC (HFHY)	38
	GSP_CC (HFFY)	44
Total		960

(2) TaqMan OpenArray SNP 유전자형 분석



Figure 56. The steps for OpenArray workflow.

SNP 분석은 TaqMan OpenArray Plates을 이용하여 선발된 61개의 SNP 유전자형을 확인하였으며, 총 960개의 샘플을 분석하였다(Table 27, Figure 56).

Table 27. 61 SNP marker combination information.

	Chr	SNP	Physical position	A1	A2	Machine learning model
1	1	AX-75377378	186339052	T	C	RandomForest
2	1	AX-75379158	187002396	G	A	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
3	1	AX-75443426	39248473	T	C	RandomForest
4	1	AX-75446390	40710381	A	G	RandomForest
5	1	AX-75446643	40838785	G	A	RandomForest
6	1	AX-75446774	40897183	T	C	RandomForest
7	1	AX-75446836	40926139	T	C	AdaBoost, RandomForest
8	1	AX-75450200	42700221	G	A	RandomForest
9	1	AX-75450269	42731066	T	C	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
10	1	AX-75451215	43171485	G	A	RandomForest
11	1	AX-75451445	43263769	A	C	RandomForest
12	1	AX-75452996	43997714	G	T	RandomForest
13	1	AX-75458405	46632353	T	G	AdaBoost, RandomForest
14	1	AX-75459486	47136098	C	T	AdaBoost, RandomForest
15	1	AX-75474264	54082924	G	A	RandomForest
16	1	AX-75541725	86901036	C	T	AdaBoost
17	10	AX-75576766	12309949	A	C	AdaBoost, DecisionTree
18	10	AX-75584784	14613017	G	T	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
19	10	AX-75606960	3013930	T	C	RandomForest
20	15	AX-75817170	10442003	A	G	AdaBoost, RandomForest
21	15	AX-75817181	10446252	C	T	AdaBoost
22	15	AX-75817263	10470240	A	C	DecisionTree, RandomForest
23	15	AX-75830104	3155963	A	C	AdaBoost
24	15	AX-75838335	5837883	C	T	RandomForest
25	2	AX-76004707	129702668	G	A	AdaBoost, RandomForest
26	2	AX-76046791	16801291	T	G	AdaBoost
27	2	AX-76060521	24681889	G	A	AdaBoost
28	2	AX-76073577	31602596	G	A	RandomForest
29	2	AX-76076543	33597664	A	G	AdaBoost, RandomForest
30	20	AX-76200839	11501023	T	G	AdaBoost, RandomForest
31	20	AX-76200845	11504796	G	A	AdaBoost
32	22	AX-76272972	3936204	C	T	AdaBoost
33	24	AX-76302050	1921841	T	C	RandomForest
34	24	AX-76304444	2532351	C	T	AdaBoost
35	24	AX-76305675	2804520	A	G	AdaBoost, RandomForest
36	24	AX-76307382	3198302	A	G	AdaBoost
37	24	AX-76314648	4922109	T	C	RandomForest
38	26	AX-76333998	1849162	G	A	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
39	26	AX-76334482	1956241	A	G	RandomForest
40	26	AX-76336047	2304029	T	C	AdaBoost DecisionTree, RandomForest
41	28	AX-76388478	737078	C	A	RandomForest
42	3	AX-76404489	106465724	T	C	AdaBoost, RandomForest
43	3	AX-76405796	106989833	A	C	DecisionTree, RandomForest

Chr	SNP	Physical position	A1	A2	Machine learning model	
44	3	AX-76406048	107075180	A	G	AdaBoost
45	5	AX-76772443	10525709	A	G	AdaBoost, RandomForest
46	5	AX-76783359	15422952	T	C	AdaBoost
47	5	AX-76795927	21044319	G	A	RandomForest
48	5	AX-76813402	28944704	T	C	RandomForest
49	5	AX-76816988	30557101	G	A	AdaBoost, RandomForest
50	5	AX-76826610	35241221	G	A	AdaBoost, RandomForest
51	6	AX-76897968	123160	G	A	RandomForest
52	6	AX-76929414	2483135	T	C	AdaBoost
53	6	AX-76929922	2502241	A	G	AdaBoost
54	6	AX-76936945	27629403	G	A	AdaBoost
55	6	AX-76956620	354242	C	T	AdaBoost, RandomForest
56	6	AX-76958587	4349782	A	G	RandomForest
57	7	AX-77013891	25566642	A	C	AdaBoost
58	7	AX-77016453	26550071	A	C	AdaBoost
59	5	AX-80900040	31919073	C	G	AdaBoost, RandomForest
60	3	AX-80939801	70475559	C	G	RandomForest
61	2	AX-80984170	63960038	C	G	RandomForest

각각의 샘플과 TaqMan OpenArray™ Master Mix를 특수 제작한 OpenArray Plates에 주입 후, 안정화를 위해 Immersion fluid를 주입 후 Quant Studio 12K Flex OpenArray Plate Press v2.0 기기를 통해 PCR 증폭을 수행하였다. PCR 증폭 시 발현되는 형광 신호 결과를 ThermoFisher cloud service를 이용하여 genotype 정보를 얻어내었다. 획득된 genotyping 정보는 Array genotyping 이미지 정보를 바탕으로 유전자형 정보를 확인하기 어려운 마커나, 증폭이 이뤄지지 않은 샘플들을 제거하였다.

(3) 최적의 61 SNP 마커의 식별능 검증 및 Kit 활용 가능 여부 확인

품종구분을 위한 61개의 SNP 마커의 식별능 검증 방법에는 우선, QC를 통해 분석에 문제가 있는 missing SNPs 또는 샘플들을 제거한 후, 확보된 마커의 유전자형 정보를 바탕으로 PCA(Principal Component Analysis)분석을 통해 품종 식별 경향성을 확인하였다.

최적의 61 SNP 마커의 식별능을 검증하기 위해서 이전 연구를 통해 획득한 600K SNP 데이터와 Fluidigm validation 데이터에서 61개의 SNP마커를 추출하여 함께 PCA분석으로 분산 정보를 획득하였다. 획득된 분산정보를 기계학습을 적용하여 이전 연차연구 데이터를 학습 데이터로 이용하고, Kit 확립을 위해 진행된 당해년도 연구 데이터를 테스트 데이터로 이용하여 각 기계학습 모델별 정확도를 도출하여 마커 조합의 식별능을 검증하고, Kit 마커조합으로써의 적합성을 확인하였다.

나. 연구수행 결과

이전 연차연구를 통해 확정된 최적의 61 SNP 마커 조합을 활용하여 GSP 토종종자 인증 Kit 제작 및 순계 집단의 유전자형 DB구축을 위한 유전자형 분석을 실시하였다.

유전자형 분석을 위한 샘플로써 case집단과 control집단을 나누어 선발하였다. case집단은 순

계 집단의 세대교체에 따른 유전적 다양성을 반영하고, DB구축을 위해 보다 많은 수의 샘플을 확보하기 위해 GSP 사업의 모든 연차 동안 확보한 순계 집단 663수(2013_F : 49, 2013_H : 39, 2013_Y : 15, 2016_F : 159, 2016_Y : 166, 2019_F : 99, 2019_H : 87, 2019_Y : 49)를 선발하였고, 순계집단을 통해 생산되어 실제 시장에서 유통될 예정인 GSP_CC의 모든 조합 159수(FHFY : 37, FHHY : 40, HFHY : 38, HFFY : 44)로 구성하였다. control집단은 실제 시장에서 접하기 쉽고, 대중적인 육계 품종인 Ross(66)와 대중적이지만 이전 연차연구에서 활용된 적이 없는 새로운 품종 Indian River(72)로 구성하였다.

Array genotyping 이미지 정보를 활용한 유전자형 분석 결과에서 데이터의 품질이 과도하게 떨어지는 일부를 제외하였다(Figure 57). “rs312644159” 마커의 genotyping은 Figure 57의 (B)와 같이 genotyping 결과가 유전자형별로 분리가 안되어 전체 결과값에서 제외하였고, PCR증폭이 수행되지 않은 15개의 샘플 또한 결과 값에서 제외하였다. 따라서, 총 945개 샘플에 대한 60개 마커의 유전자형 정보를 획득하였다.

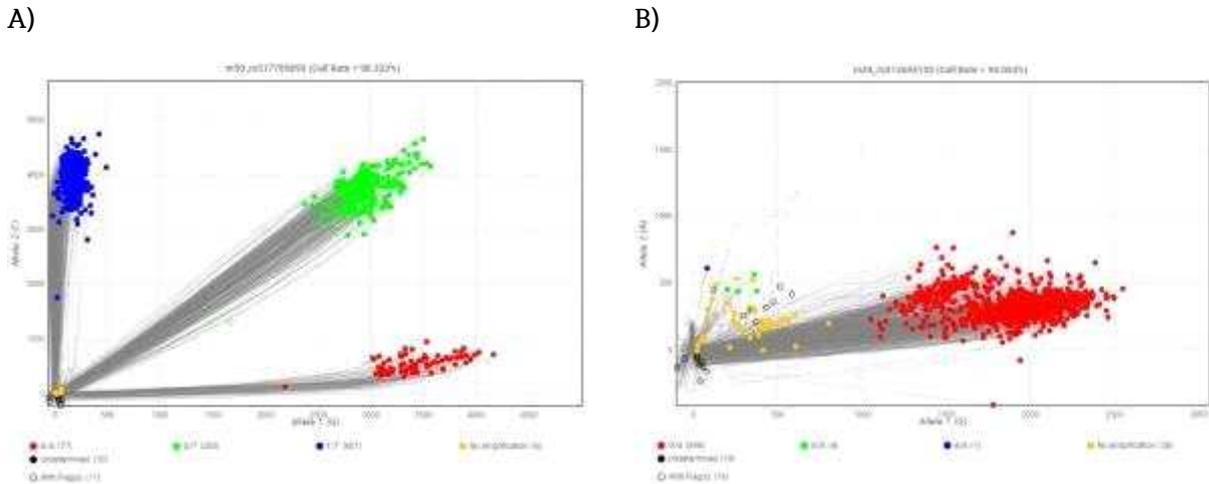


Figure 57. Example of A) good and B) bad genotyping results.

이미지 QC 이후 유전자형 분석 결과 전체 call rate는 99.42%로 매우 양호한 유전자형 분석이 이뤄진 것을 확인하였다(Figure 58). 일부 call이 되지 않은 데이터의 경우 추후 분석 결과에 영향을 주지 않는다고 판단되어 전체 평균값으로 대체하여 분석을 진행하였다.

획득된 유전자형 정보의 경향성을 확인하기 위해 유전자형 정보를 활용하여 PCA를 실시하였다(Figure 59). 분석결과 이전 연구와 동일하게 case집단과 control집단이 명확하게 분리되는 것을 확인하였다. GSP 순계 집단인 HF, HH, HY는 모두 같은 방향으로 편향되어 위치하였고, 이 중 부계 계통인 HF, HH는 상대적으로 더 밀집되어 위치하였다. 또한 GSP 순계 집단의 교잡종인 GSP_CC 집단은 순계 집단과 유전자형을 공유하기 때문에 중간 부위에 위치하였다. 반면 control집단인 Ross와 Indian River 집단은 case집단과 다른 방향으로 편향되어 위치하였다. 최소의 36 SNP 마커 조합 결과에서도 앞선 결과와 매우 유사한 경향성을 확인하였다(Figure 60). 전반적으로 case집단의 군집이 이전 결과보다 넓게 퍼져서 일부 case샘플과 control샘플의 구분이 어려우나 집단의 분리 경향은 동일하게 확인되었다.

하지만, 단순 경향성을 통한 결과는 수치화된 결과가 누락되어 객관성이 부족하다고 판단되었

다. 따라서, 마커조합의 Kit로써의 활용 가능성과 타당성을 보충하기 위해 전년도 연구에서 획득한 600K SNP 데이터와 Fluidigm validation 데이터를 병합 후 기계학습을 이용하여 수치화된 정확도를 도출하였다.

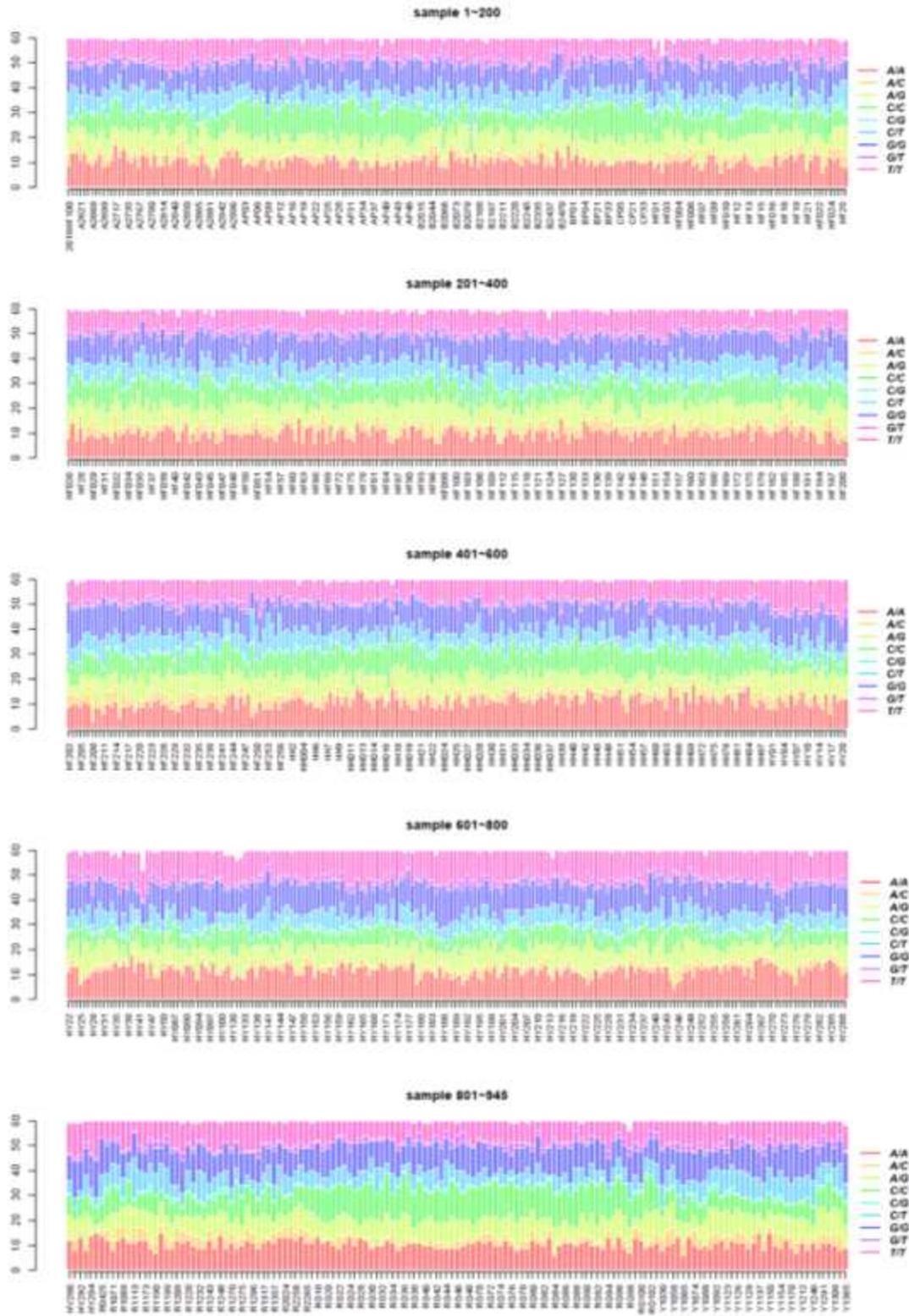


Figure 58. TapMan OpenArray 60 SNP marker genotyping results for each individual.

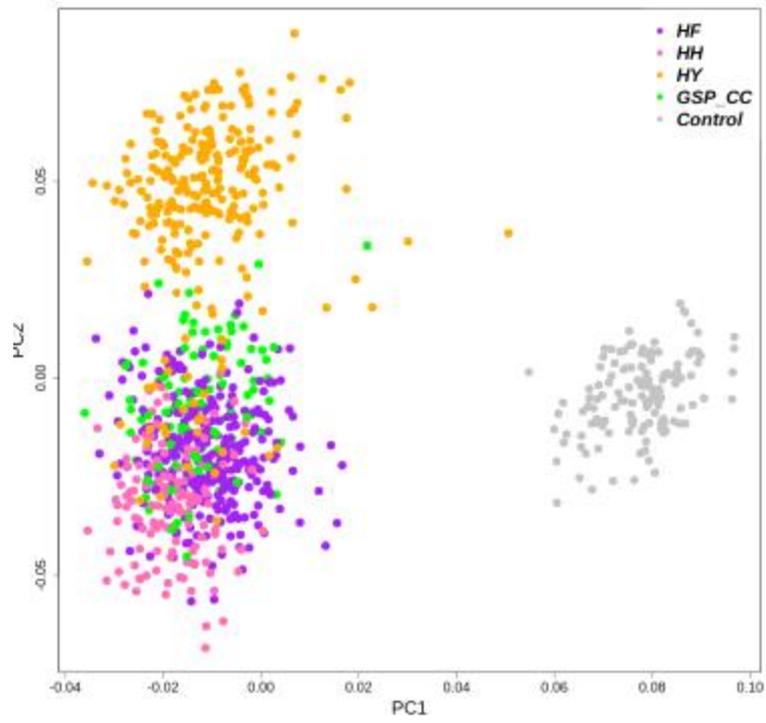


Figure 59. PCA result using 60 markers on 945 individuals.

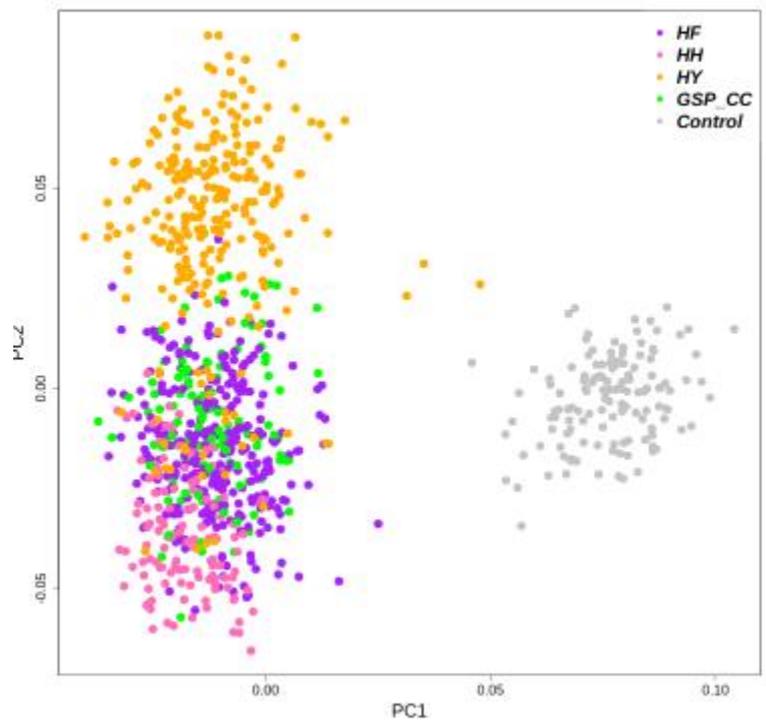


Figure 60. PCA result using 36 markers on 945 individuals.

총 283마리(Ab:10, Cobb:12, HA:20, HF:23, HG:23, HH:23, HL:10, HS:23, HV:23, HW:23, HY:21, HZ:15, LO:10, NC:6, ND:6, NH:6, NR6, NS:5, NY:5, Ross:12)의 600K SNP 데이터에서 최적 및 최소 마커 조합에 대한 유전자형을 각각 추출하였으며, Fluidigm validation 데이터 총 192마리(Ab:11, Cobb:8, HF:31, HH:41, HY:26, LO:5, Ross:20, GSP_CC:30, K:5, HI:5, WM_2:10)에서도 동일하게 마커를 추출하여 plink software를 이용하여 데이터를 합병하였다. 데이터 합병 시 Open Array genotyping 데이터의 경우 “rs312644159” 마커의 데이터가 누락되어 있기 때문에 누락된 데이터는 결측값(NA) 처리 후 분석을 진행하였다.

기계학습을 위해 이전 연차 연구 결과에서 획득된 283마리 600K 데이터와 Fluidigm validation 데이터를 각각 training data set으로 설정하였고, 945마리의 Open Array genotyping 를 test data set으로 설정하여 총 8 가지의 기계학습 모델을 적용하였다(Random Forest, Linear Discriminant Analysis, AdaBoost, Nearest Neighbors, Decision Tree, Naive Bayes, Quadratic Discriminant Analysis, K-Nearest Neighbors).

최적의 60 SNP 마커 조합에 대하여 기계학습 모델별로 정확도를 도출한 결과 전반적으로 우수한 품종 식별 정확도를 확인하였다(Table 28, Figure 61). 모든 기계학습 모델에서 99% 이상의 정확도로 목표한 GSP 토종종자와 GSP_CC 집단을 타집단과 구분하였다. 이는 전체 945 개의 샘플로 판별 테스트를 실시하였을 경우 적게는 1개 내지, 많게는 4개 정도의 샘플을 제외하고 모두 정확하게 case집단과 control집단으로 구분한 것을 의미한다. 더불어, 실제 거짓값을 거짓값으로 인지할 확률의 지표인 Specificity는 모든 모델에서 100%의 정확도를 나타내었다. 이는 임의의 개체가 GSP 품종이 아닐 경우 이를 GSP 품종이 아니라고 판단할 확률이 100%를 의미한다.

Table 28. The accuracies for different machine learning models for breed identification using 61 SNP markers.

Model	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Precision	Recall	Prevalence	Balanced Accuracy
Decision_tree	0.998	0.998	1.000	1.000	0.998	0.860	0.999
AdaBoost	0.998	0.998	1.000	1.000	0.998	0.860	0.999
Linear_SVM	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.860	0.999
Quadratic_Discriminant_Analysis	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.860	0.999
Random_Forest	0.998	0.998	1.000	1.000	0.998	0.860	0.999
Linear_Discriminant_Analysis	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.860	0.999
K-Nearest_Neighbors	0.998	0.998	1.000	1.000	0.998	0.860	0.999
Naive_Bayes	0.996	0.995	1.000	1.000	0.995	0.860	0.998

마찬가지로 최소의 36 SNP 마커 조합에 대해서도 앞선 분석과 동일 정확도 평가를 실시하였다. 분석 결과 최소 마커 조합에서도 최적의 마커 조합 결과와 매우 유사한 결과를 확인하였다 (Table 29, Figure 62).

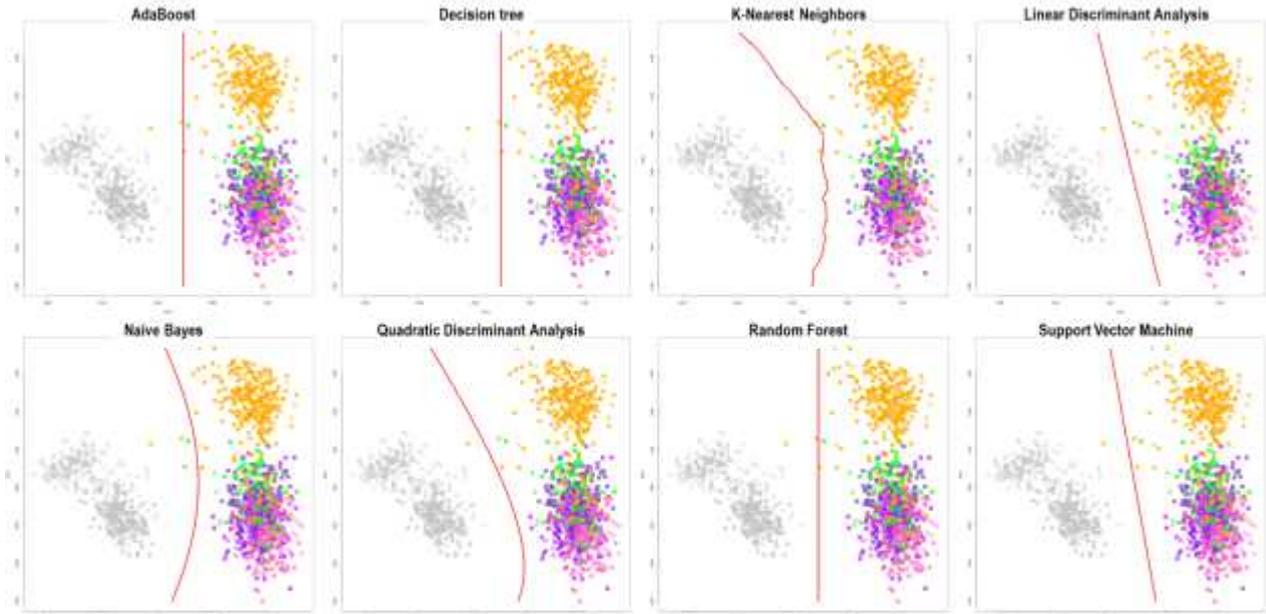


Figure 61. Group clustering trend plot by 8 Machine Learning Model using 61 SNP markers.

최소의 36 SNP 마커 조합에 대하여 기계학습 모델별로 정확도를 도출한 결과 모든 모델에서 99% 이상의 정확도를 확인하였다. case-control 집단의 경계선에 일부 변화가 확인되었으나 일부 이상치 개체를 제외하고 정확하게 구분 및 분리된 결과를 확인하였다.

Table 29. The accuracies for different machine learning models for breed identification using 36 SNP markers.

Model	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Precision	Recall	Prevalence	Balanced Accuracy
Decision_tree	0.998	0.998	1.000	1.000	0.998	0.860	0.999
AdaBoost	0.998	0.998	1.000	1.000	0.998	0.860	0.999
Linear_SVM	0.997	0.996	1.000	1.000	0.996	0.860	0.998
Quadratic_Discriminant_Analysis	0.996	0.995	1.000	1.000	0.995	0.860	0.998
Random_Forest	0.998	0.998	1.000	1.000	0.998	0.860	0.999
Linear_Discriminant_Analysis	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.860	0.999
K-Nearest_Neighbors	0.997	0.996	1.000	1.000	0.996	0.860	0.998
Naive_Bayes	0.997	0.996	1.000	1.000	0.996	0.860	0.998

본 연구 결과는 최적 및 최소 SNP 마커 조합이 GSP 품종은 정확히 구분할 수 있고, 본 마커 조합을 활용한 Kit 역시 품종 구분을 할 수 있음을 의미한다. 더욱이 기계학습 분석의 특성상 축적되는 데이터의 양이 늘어날수록 보다 개선된 결과를 도출할 수 있을 것으로 사료된다. 현재의 결과는 학습데이터셋이 473수로 상당히 적은수로 945마리의 대부분 닭 집단을 구분하였기 때문에 유의미한 결과를 얻은 것으로 판단된다. 또한, 기존 마커 선발 시 사용된 적이 없던 품종인 Indian River에 대해서도 정확한 품종 구분이 가능하였다. 이는 선발된 마커 조합이 GSP 토종종자의 특이적인 유전자형 구성을 반영한 결과임을 시사하고 있으며, 나아가 기존에 기계학습 되지 않은 새로운 품종에 대해서도 대응할 수 있는 가능성을 확인하였다.

또한, Kit 제작에 이용된 TaqMan OpenArray genotyping 방법은 높은 genotyping call rate을 보였으며, 획득된 유전자형 정보를 바탕으로 수행한 PCA 분석 결과에서도 특이적인 이상치 없이 기존 결과와 유사한 결과를 나타내어 genotyping 정확도에도 Kit로 활용하기에 충분한 것으로 확인이 되었다. 결론적으로, TaqMan OpenArray로 제작된 Kit는 목표한 GSP 토종종자와 GSP_CC를 성공적으로 구분 가능성이 확인되었다.

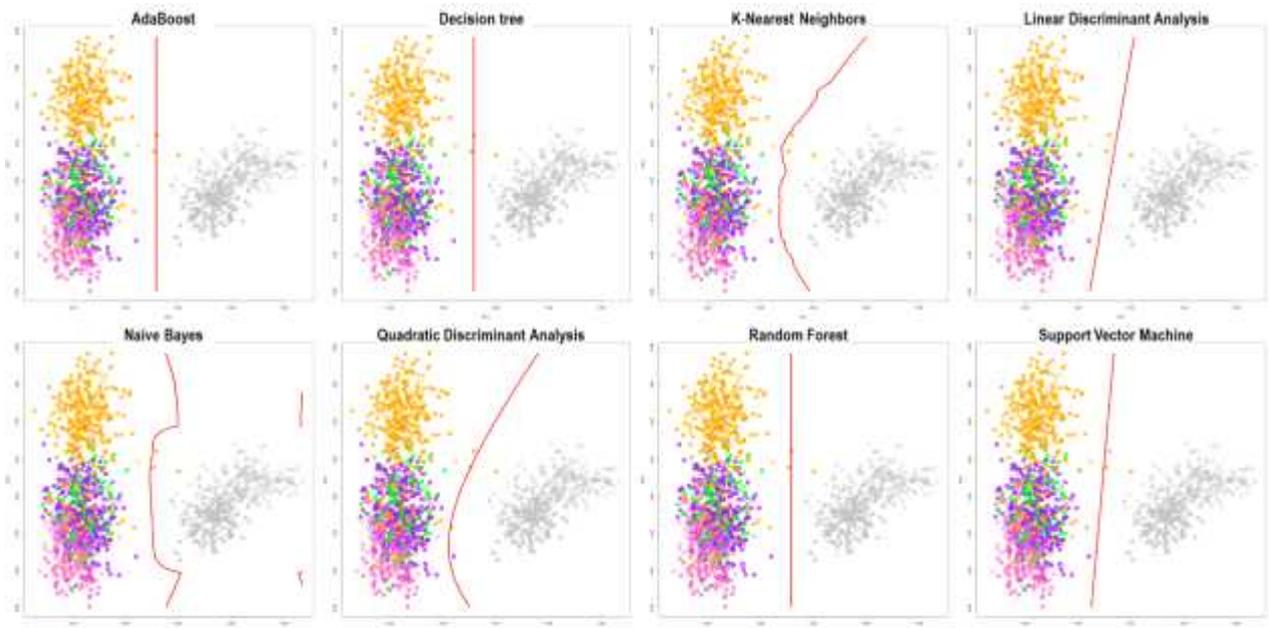


Figure 62. Group clustering trend plot by 8 Machine Learning Model using 36 SNP markers.

6. MS 마커를 활용한 종계 검증시스템 확립

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

표준화된 토종 종계 검증시스템을 확립하기 위하여 선행 연구에서 확보한 개체 중 유전적 다형성과 특이성을 가지는 PL 5계통 (F, H, S, W, Y)을 대상으로 Homozygosity allele을 갖는 샘플을 이용하였다 (Table 30).

Table 30. Description of the 5 chicken breeds used in the present study.

Breed	No. of Sample
Hanhyup F line	48
Hanhyup H line	48
Hanhyup S line	72
Hanhyup W line	72
Hanhyup Y line	46

(1) 각 마커별 Homozygosity allele 확보를 위한 유전자형 분석

1차년도 연구 결과로 확립된 12 MS Multiplex PCR 수행 시 발생하는 Split 현상 및 노이즈 현상을 줄이기 위해 Reverse Primer에 맞춤형 tail을 부착하였다. 이를 이용하여 각 MS 마커별 해당 allele을 가지고 있는 샘플에 대한 Single PCR을 수행하였다.

PCR 증폭 산물은 농도에 따라 10X~100X 정도 Hi-DiTM formamide로 희석한 후, GeneScanTM- 500LIZTM size standard와 혼합하여 Heating과 Icing 과정을 거쳐 단일 가닥으로 유지하였다. 그 후, Genetic Analyzer 3130xl (Applied Biosystems, USA) 장비를 사용하여 Fragment analysis를 수행하였다. MS marker 별 대립유전자형의 크기는 GeneMapper ver 5.0(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 결정하였다.

(2) Sequence 구조 확인을 통한 Data 검증

10X TBE buffer (Tris/Borate/EDTA)를 distilled water를 이용하여 0.5X TBE buffer로 희석을 한 후 TBE buffer와 Agarose powder (Bioneer, Korea), Ethidium bromide(EtBr)를 정량 측정하여 2%의 Agarose Gel를 제작한다. Single PCR 산물을 100V의 전압에 약 50분간 Gel electrophoresis 하여 단일 염기 가닥의 band를 확인한다. band를 칼로 잘라 Gel 덩어리를 AccuPrep® Gel Purification Kit (Bioneer, Korea)을 이용하여 불순물을 제거하여 순수한 DNA 절편만 남도록 정제한다.

정제된 DNA 절편을 경우에 따라 Forward 혹은 Reverse Primer와 BigDye® Terminator v3.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 절편 끝에 ddNTP로 Reaction PCR을 진행하여, 각 서열에 dye가 달려있는 ddNTP를 붙여 종결이 되는 사슬 종결 법으로 증폭시켜주었다.

증폭된 DNA 절편들을 EtOH 침전법을 통하여 정제를 해주었다. Reaction PCR 산물과 Sodium acetate(NaOCH), 70%의 EtOH를 이용해 DNA를 용출해냈으며 용출된 DNA를 농도에 따라 10X ~ 100X 정도 Hi-DiTM formamide로 희석하고 Heating과 Icing 과정을 거쳐 단

일가닥으로 유지하였다. 그 후, Genetic Analyzer 3730 (Applied Biosystems, USA) 장비를 사용하여 Sequencing analysis를 수행하였다.

(3) Cloning 기법을 통한 allele mixture 개발

(가) TA cloning을 통한 plasmid DNA 확보

pTOP TA Cloning kit를 사용하여 정제된 PCR product를 vector에 삽입시킨 후 cloning 한 mixture 5 μ L을 1.5 mL tube에 competent cell 100 μ L과 함께 넣어 섞어준 뒤 얼음에 30분간 반응시킨다. 42 $^{\circ}$ C에서 30초 동안 heat block를 이용하여 heat-shock를 주어 세포막 내외에 온도의 불균형으로 plasmid DNA가 세포 내로 들어갈 수 있도록 하고, 즉시 얼음에 2분간 방치하여 세포를 안정화시킨다. 37 $^{\circ}$ C로 예열된 LB broth를 400 μ L 첨가한 뒤 뚜껑을 살짝만 닫고 shaking incubator를 이용하여 37 $^{\circ}$ C에서 흔들어주며 1시간 동안 배양한다. 200 μ L의 용액을 ampicillin(50 μ g/mL)이 포함된 LB agar 배지에 도포하여 overnight 배양한다. Insertion이 일어나지 않은 세포는 LB agar plate 내 ampicillin 에 의하여 사멸하고 insert 된 세포만 남게 된다. 이 colony를 하나씩 선별하여 Liquid culture 하여 보관한다.

15mL tube에 있는 E.coli 을 3000rpm에서 5분간 Spin down하고 media를 pipetting을 통하여 완전히 제거하여 E.coli 을 채취한 뒤 Plasmid Extraction Kit (Bioneer, Korea)의 PA1 Buffer 250 μ L를 넣고 Vortexing하여 완전히 섞어주고 새로운 1.5 mL 튜브로 옮겨준다. 1.5 mL tube에 P2 Buffer 250 μ L, PA3 Buffer 350 μ L를 넣고 3~4회 뒤집으며 섞어준다. 13,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 10분간 Spin down한다. 깨끗한 상층액을 DNA binding column tube(collection tube와 결합)에 옮기고 13,000rpm으로 1분간 Spin down한다. collection tube의 내용물을 제거한 후 다시 결합한다. W2 Buffer 700 μ L를 넣고 13,000rpm으로 1분간 Spin down한다. collection tube의 내용물을 제거한 후 다시 결합한다. DNA binding filter를 건조시키기 위하여 13,000rpm, 실온(25 $^{\circ}$ C)에서 5분간 Spin down하여 에탄올을 제거한다. DNA binding column tube를 새로운 1.5ml tube와 결합하고 EA Buffer 50~100 μ L를 넣은 후, 13,000rpm에서 1분간 Spin down하여 plasmid를 얻는다.

(나) Allelic ladder용 mixture 연구

Cloning을 통해 확보된 각 마커별 Homozygosity allele값을 갖는 Plasmid DNA(50 ng/ μ L) 1 μ L, 각각의 primer 0.5 μ L, Hot start Taq DNA polymerase 0.2 μ L, 10 \times Buffer 1.5 μ L, dNTP 1 μ L의 구성에 DW를 첨가하여 최종 부피를 15 μ L로 반응시켜 증폭시켰다.

PCR을 통해 얻어진 PCR 산물을 각 마커별로 일정한 비율로 1차 혼합하고, 마커별로 혼합된 혼합물을 Dye 별로 일정한 비율로 2차 혼합한 후 2차 혼합물을 동량으로 혼합하여 한 번에 12개의 마커에 출현하는 allele mixture를 제작한다.

(4) 검증시스템 적용을 위한 실험 및 통계 분석

(가) 12 MS 마커에 대한 Multiplex PCR

각각의 Microsatellite Marker PCR 반응액 조성은 Genomic DNA 1 μ L, Primer Mix 5 μ L, 10X buffer 1.8 μ L, dNTP 1.5 μ L, Hot start Taq DNA Polymerase 0.5 μ L, D.W 5.2 μ L로 총 반응액 15 μ L으로 구성하여 GeneAmp $^{\circ}$ PCR system 9700 (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 PCR을 진행하였다. PCR 조건은 Pre-denaturation 95 $^{\circ}$ C를 10분간 실시한 뒤 95 $^{\circ}$ C에서 30초, 58 $^{\circ}$ C에서

30초, 72℃에서 1분을 1cycle하여 30cycle을 진행한 후 Final-extension을 1시간 동안 하여 4℃로 종료하였다.

(나) 유전자형 분석

Genetic Analyzer 3730xl (Applied Biosystems, USA) 장비를 사용하여 Fragment analysis를 수행하였으며 GeneMapper ver 5.0(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 MS 마커별 대립유전자형의 크기를 결정하였다.

(다) 주성분 분석(PCoA) 및 요인대응분석(FCA)

집단 사이의 유전적 상관관계를 확인하기 위하여 대립유전자형 값을 이용하여 GenAlEx ver 6.4 프로그램으로 주성분(Principal Components Analysis, PCoA) 분석을 수행하였으며 제1차, 2차, 3차 성분 분석을 2차원 좌표에 분석하였다. 2차원의 주성분 분석 결과를 3차원 좌표로 확인하기 위하여 GENETIX ver 4.05 프로그램을 사용하여 요인대응분석(Factorial Correspondence Analysis, FCA)을 수행하였다.

나. 연구수행 결과

(1) split 및 노이즈 현상 Troubleshooting

Reverse primer에 맞춤형 tail을 붙여 유전자형을 분석한 결과 split과 노이즈 현상이 줄어든 것을 확인하였으며(Figure 63), Single PCR을 통해 각 마커별 Homozygosity allele을 확인하였다 (Table 31).

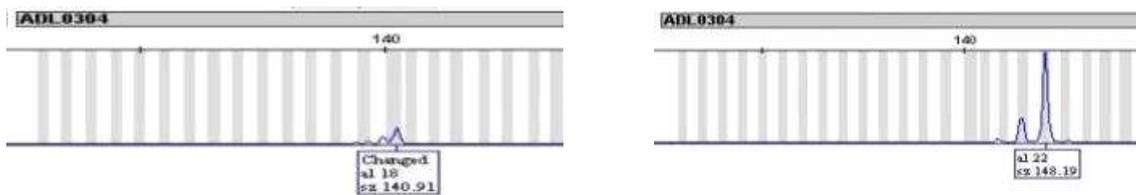


Figure 63. The result of genotyping by attaching the tail to the reverse primer.

Table 31. Homozygosity alleles by markers obtained genotyping

Marker	Homozygosity allele										Number of alleles	
ADL0293	113	115	117	119	121	123	125	129	131		9	
ADL0304	145	147	159	163	165						5	
ADL0317	185	189	191	193	197	199	203	205	211		9	
GCT0016	116	136	138	142	144	146	148	150	160		9	
LEI0094	259	265	267	269	271						5	
MCW0029	151	153	155	157	167	169	173	189	191	193	195	11
MCW0087	273	277	279	281	283	285	287	289	291			9
MCW0104	198	208	212	214	216	218	228	232	234			9
MCW0123	87	89	93	95	97							5
MCW0127	234	236	238	240	242	246	248	266	276	278		10
MCW0145	185	197	207	211	213	217	219					7
MCW0330	264	276	282	284	296							5

(2) 확보한 Homozygosity allele에 대한 반복 염기서열 구조 분석

Biological Sequence Alignment Editor (version 7.2.5 BioEdit, USA)를 사용하여 각 마커별 Homozygosity allele의 반복구간을 분석하였다 (Figure 64~71).

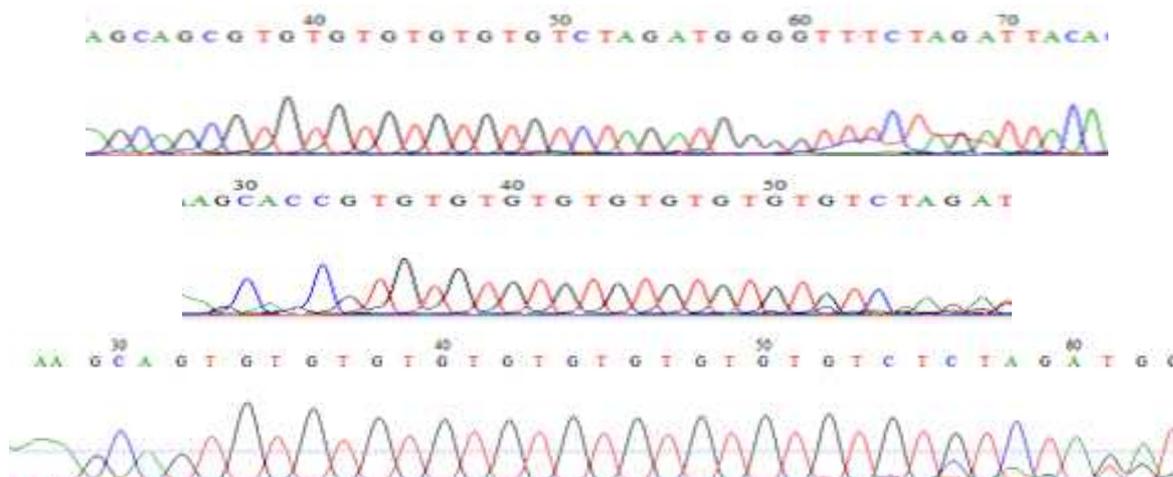


Figure 64. ADL0293 marker size 113, 119, 123 sample analysis through Bioedit program

ADL0293은 (CA)_n의 염기가 반복되는 Repeat sequence 구조를 가지며 전체 Sequence는 <CCTTAACCTGCCTGCTCTATACTACAAGTAATCTAGAAACCCCATCTA(CA)_nGCTTTTTCTCCATTTTCCATTTTCAGAGCCAAAGCCATTGCTTGCAA>의 구조를 갖는다.

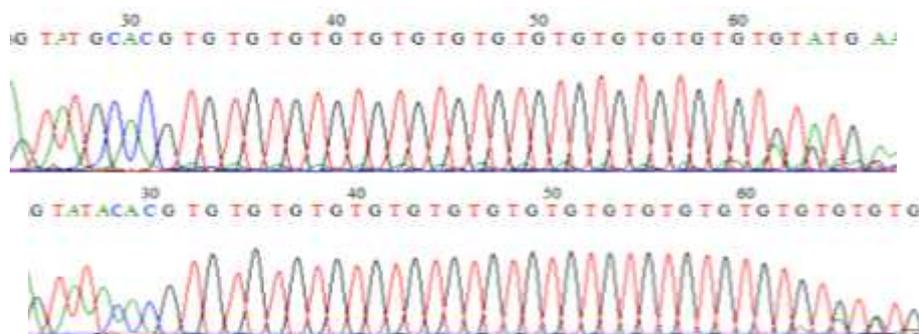
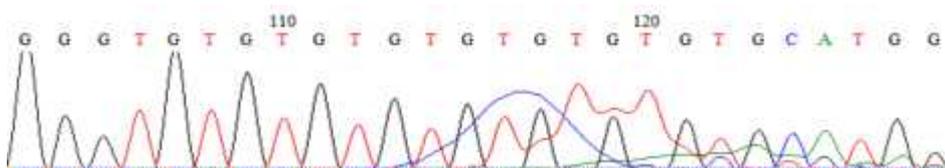


Figure 65. ADL0304 marker size 159, 163 sample analysis through Bioedit program

ADL0304은 (TG)_n의 염기가 반복되는 Repeat Sequence 구조를 가지며 전체 Sequence는 <GGTACACCGGGGTGCCTGAGTATGCA (TG)_nATGGGAATGGGTGAACGCACTAGTTAAAAAGGAAAAAGCATGAGCAATGTGGAA>의 구조를 갖는다.



GAATTGTTTAGATGTGGGTGACATAGGCTTGATTACACTTACTACGTGCAAATGGA
ATAACGTCCAACTT (CA)_n GGGCTGACTGCACAAGGATGAAAGCTATTATGA
ACTCAATCATTGAGTAAACGGATTTAAAGAGAATAAAGTAAATAAGCAGGAA
CTCTATGAGAACATTAA>의 구조를 갖는다.

(3) 확보한 Homozygosity allele에 대한 clone 확보 및 allele mixture 개발

반복 염기서열 구조가 확인된 Homozygosity allele에 대하여 각 마커별 3~5개의 샘플을 선발 하였으며 clone과 Plasmid DNA를 확보 중이다 (Table 32).

Table 32. Size of sample with Homozygosity allele for each selected 12 MS marker

Marker	Allele Size					Number of alleles
ADL0293	113	119	123	129		4
ADL0304	145	159	163	167		4
ADL0317	185	191	211			3
GCT0016	116	140	144	150	160	5
LEI0094	255	267	275	289		4
MCW0029	151	157	167	173	193	5
MCW0087	273	283	291			3
MCW0104	198	208	218	228	234	5
MCW0123	87	93	95	97		4
MCW0127	234	238	246	248		4
MCW0145	185	197	207			3
MCW0330	264	276	284	296		4

확보한 plasmid DNA를 Single PCR을 통해 증폭하였으며, 증폭 산물은 Distilled Water로 희석하여 농도를 맞추어 마커별로 혼합한 뒤 형광 Dye 별로 혼합하는 과정을 통해 allelic ladder로 적용 가능한 mixture를 개발하였다 (Figure 72).

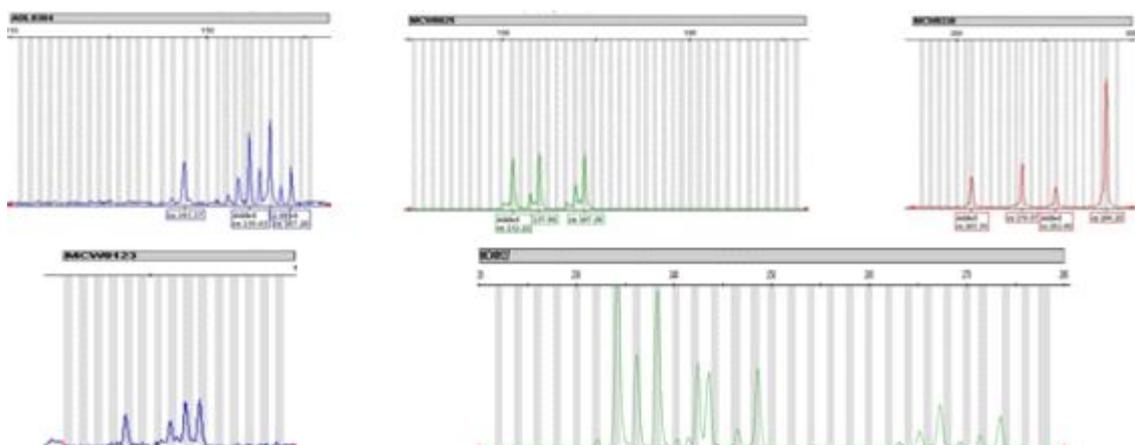


Figure 72. The result of loading allele mixture of ADL0304, MCW0029, MCW0330, MCW0123, MCW0127

(3) Multiplex PCR을 통한 PL 5계통 주성분 분석 및 요인대응분석 결과

대립유전자형 값을 이용하여 GenAlEx ver 6.4 프로그램으로 주성분(Principal Components Analysis, PCoA) 분석을 수행한 결과 제 1성분의 분산치는 56.67%, 제 2성분의 분산치는 24.41%, 제 3성분의 분산치는 15.18%로 확인되었으며 이를 2차원 좌표로 나타내었다. 제 1성분의 분산에 의해 H와 F계통이 가까이 위치하고 있는 것을 확인하였다 (Figure 73).

○ 2차원의 주성분 분석 결과를 3차원 좌표에 표시하기 위하여 GENETIX ver 4.05 프로그램을 통해 요인대응분석(Factorial Correspondence Analysis, FCA)을 수행하였다. 제 1요인, 제 2요인, 제 3요인의 분산치는 각각 51.52%, 24.15%, 18.04%로 확인되었으며, H 계통 및 F 계통과, S 계통 및 W 계통이 각각 한 Cluster를 형성하였다 (Figure 74).

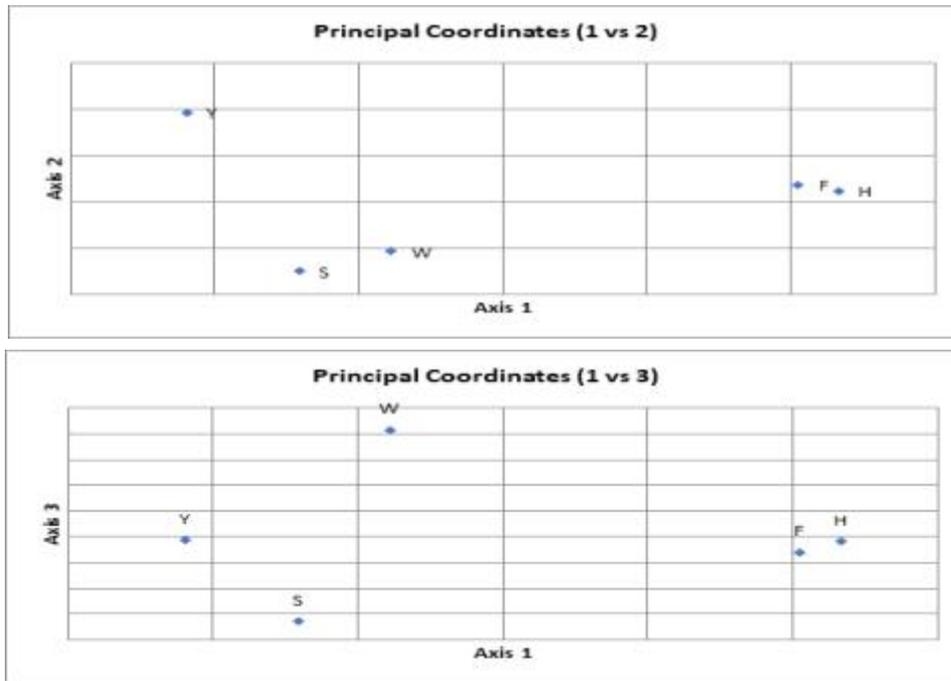


Figure 73. Principal Coordinates Analysis (PCoA) using 12 microsatellite loci genotype in 5 populations using the GeneAlex

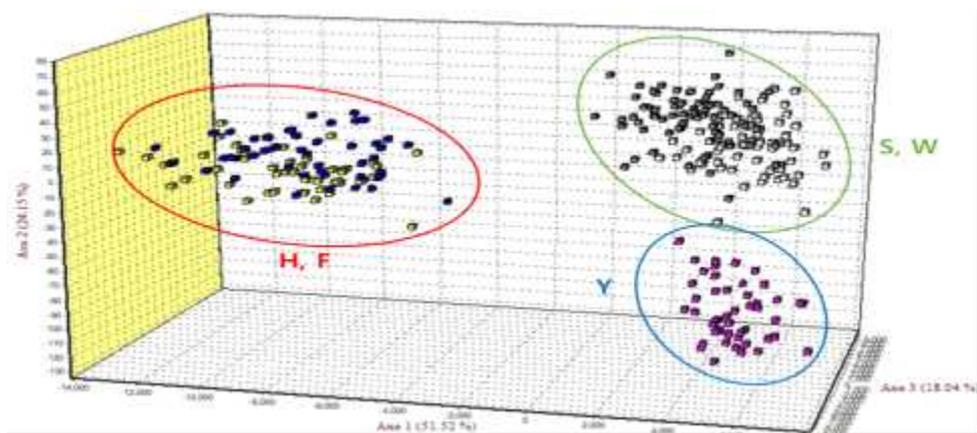


Figure 74. Factorial Correspondence Analysis (FCA) using 12 microsatellite loci genotype in 5 populations using the GeneAlex

6. 신품종 토종종계 인증 KIT의 검증 시스템 확립

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

4년차 연구를 통해 제작한 최적의 61SNP 마커 조합의 토종종자 인증 Kit의 실증실험 및 주요 PL(Pure Line)의 유전자형 정보를 구축하기 위해 한협외의 순계 품종(HF, HH, HY)과 비교 분석에 사용될 상용 육용(Arbor Acre, Ross, White Semi), GSP 실용계(GSP_CC) 및 한국재래닭 집단의 DNA 샘플을 추가로 확보하였다 (Table 33).

Table 33. Number of samples collected and the experimental samples.

Type	Breed	Experiment sample
2013 Hanhyup Pure Line	Hanhyup Y	41
2021 Hanhyup Pure Line	Hanhyup S Hanhyup W	18 19
GSP Commercial Chicken	CNU_GSP_cc (FHFY)	129
	GNU_GSP_cc (FHFY)	204
Broiler Commercial Chicken	Arbor Acre	59
	Ross	89
	White Semi	35
	Commercial broiler	48
Korean Native Chicken	Araucana	52
	Hoengseong Yakdak	40
	Hyunin	53
	Hwangbong	81
	Jeju	49
Total		917

(2) TaqMan OpenArray SNP 유전자형 분석



Figure 75. The steps for OpenArray workflow.

SNP 분석은 TaqMan OpenArray Plates을 이용하여 선발된 61개의 SNP 유전자형을 확인하였으며, 총 917개의 샘플을 분석하였다(Table 34, Figure 75).

Table 34. 61 SNP marker combination information.

	Chr	SNP	Physical position	A1	A2	Machine learning model
1	1	AX-75377378	186339052	T	C	RandomForest
2	1	AX-75379158	187002396	G	A	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
3	1	AX-75443426	39248473	T	C	RandomForest
4	1	AX-75446390	40710381	A	G	RandomForest
5	1	AX-75446643	40838785	G	A	RandomForest
6	1	AX-75446774	40897183	T	C	RandomForest
7	1	AX-75446836	40926139	T	C	AdaBoost, RandomForest
8	1	AX-75450200	42700221	G	A	RandomForest
9	1	AX-75450269	42731066	T	C	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
10	1	AX-75451215	43171485	G	A	RandomForest
11	1	AX-75451445	43263769	A	C	RandomForest
12	1	AX-75452996	43997714	G	T	RandomForest
13	1	AX-75458405	46632353	T	G	AdaBoost, RandomForest
14	1	AX-75459486	47136098	C	T	AdaBoost, RandomForest
15	1	AX-75474264	54082924	G	A	RandomForest
16	1	AX-75541725	86901036	C	T	AdaBoost
17	10	AX-75576766	12309949	A	C	AdaBoost, DecisionTree
18	10	AX-75584784	14613017	G	T	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
19	10	AX-75606960	3013930	T	C	RandomForest
20	15	AX-75817170	10442003	A	G	AdaBoost, RandomForest
21	15	AX-75817181	10446252	C	T	AdaBoost
22	15	AX-75817263	10470240	A	C	DecisionTree, RandomForest
23	15	AX-75830104	3155963	A	C	AdaBoost
24	15	AX-75838335	5837883	C	T	RandomForest
25	2	AX-76004707	129702668	G	A	AdaBoost, RandomForest
26	2	AX-76046791	16801291	T	G	AdaBoost
27	2	AX-76060521	24681889	G	A	AdaBoost
28	2	AX-76073577	31602596	G	A	RandomForest
29	2	AX-76076543	33597664	A	G	AdaBoost, RandomForest
30	20	AX-76200839	11501023	T	G	AdaBoost, RandomForest
31	20	AX-76200845	11504796	G	A	AdaBoost
32	22	AX-76272972	3936204	C	T	AdaBoost
33	24	AX-76302050	1921841	T	C	RandomForest
34	24	AX-76304444	2532351	C	T	AdaBoost
35	24	AX-76305675	2804520	A	G	AdaBoost, RandomForest
36	24	AX-76307382	3198302	A	G	AdaBoost
37	24	AX-76314648	4922109	T	C	RandomForest
38	26	AX-76333998	1849162	G	A	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
39	26	AX-76334482	1956241	A	G	RandomForest
40	26	AX-76336047	2304029	T	C	AdaBoost, DecisionTree, RandomForest
41	28	AX-76388478	737078	C	A	RandomForest
42	3	AX-76404489	106465724	T	C	AdaBoost, RandomForest
43	3	AX-76405796	106989833	A	C	DecisionTree, RandomForest

Chr	SNP	Physical position	A1	A2	Machine learning model	
44	3	AX-76406048	107075180	A	G	AdaBoost
45	5	AX-76772443	10525709	A	G	AdaBoost, RandomForest
46	5	AX-76783359	15422952	T	C	AdaBoost
47	5	AX-76795927	21044319	G	A	RandomForest
48	5	AX-76813402	28944704	T	C	RandomForest
49	5	AX-76816988	30557101	G	A	AdaBoost, RandomForest
50	5	AX-76826610	35241221	G	A	AdaBoost, RandomForest
51	6	AX-76897968	123160	G	A	RandomForest
52	6	AX-76929414	2483135	T	C	AdaBoost
53	6	AX-76929922	2502241	A	G	AdaBoost
54	6	AX-76936945	27629403	G	A	AdaBoost
55	6	AX-76956620	354242	C	T	AdaBoost, RandomForest
56	6	AX-76958587	4349782	A	G	RandomForest
57	7	AX-77013891	25566642	A	C	AdaBoost
58	7	AX-77016453	26550071	A	C	AdaBoost
59	5	AX-80900040	31919073	C	G	AdaBoost, RandomForest
60	3	AX-80939801	70475559	C	G	RandomForest
61	2	AX-80984170	63960038	C	G	RandomForest

각각의 샘플과 TaqMan OpenArray™ Master Mix를 특수 제작한 OpenArray Plates에 주입 후, 안정화를 위해 Immersion fluid를 주입 후 Quant Studio 12K Flex OpenArray Plate Press v2.0 기기를 통해 PCR 증폭을 수행하였다. PCR 증폭 시 발현되는 형광 신호 결과를 ThermoFisher cloud service를 이용하여 genotype 정보를 얻어내었다. 획득된 genotyping 정보는 Array genotyping 이미지 정보를 바탕으로 유전자형 정보를 확인하기 어려운 마커나, 증폭이 이뤄지지 않은 샘플들을 제거하였다.

(3) 신품종 토종종자 인증 Kit 활용 가능 여부 확인

품종구분을 위한 61개의 SNP 마커의 식별능 검증 방법에는 우선, QC를 통해 분석에 문제가 있는 missing SNPs 또는 샘플들을 제거한 후, 확보된 마커의 유전자형 정보를 바탕으로 PCA(Principal Component Analysis)분석을 통해 품종 식별 경향성을 확인하였다.

최적의 61 SNP 마커의 식별능을 검증하기 위해서 이전 연구를 통해 획득한 600K SNP 데이터와 Fluidigm validation 데이터에서 61개의 SNP마커를 추출하여 함께 PCA분석으로 분산 정보를 획득하였다. 획득된 분산정보를 기계학습을 적용하여 이전 연차연구 데이터를 학습 데이터로 이용하고, Kit 확립을 위해 진행된 당해년도 연구 데이터를 테스트 데이터로 이용하여 각 기계학습 모델별 정확도를 도출하여 마커 조합의 식별능을 검증하고, Kit 마커조합으로써의 적합성을 확인하였다.

(4) 유전자형 database 및 신품종 토종종자 검증 시스템 구축

품종구분을 위해 분석이 완료된 61개 SNP에 대한 모든 유전자형 정보를 2세부로 전달 및 database 구축 자료로 활용하였다. 구축된 database 정보를 기반 하여 유전자형 정보 입력 시 신품종 토종종자 여부를 도출하는 online system을 2세부와 함께 구축하였다.

나. 연구수행 내용 및 방법

이전 연차연구를 통해 확정된 최적의 61 SNP 마커 조합을 활용하여 GSP 토종종자 인증 Kit 제작 및 순계 집단 유전자형 DB구축을 위한 유전자형 분석을 실시하였다. 유전자형 분석을 위한 샘플로써 case집단과 control집단을 나누어 선발하였다. case집단은 순계 집단의 세대교체에 따른 유전적 다양성을 반영하고, DB구축을 위해 보다 많은 수의 샘플을 확보하기 위해 확보한 순계 집단 41수(2013_Y : 41)를 선발하였고, 순계집단을 통해 생산되어 실제 시장에서 유통될 예정인 GSP_CC(FHFY) 333수(충남대학교 부속농장 CNU_FHFY : 129, 경상대학교 부속농장 GNU_FHFY : 204)로 구성하였다. control 집단은 실제 시장에서 접하기 쉽고, 대중적인 육계 품종인 Ross(89)와 Arbor Acre(59)를 이용하였으며 실험의 실증성을 위해 임의의 식당에서 채취한 육계 샘플(48) 및 삼계탕용으로 오용되고 있는 White Semi(35)으로 구성하였다. 추가로 재래시장에서 이따금 거래되는 한국재래닭 집단인 Araucana, Hoengseong Yakdak, Hyunin, Hwangbong 및 Jeju을 실험에 추가하여 한국에서 유통 가능한 모든 품종을 실험에 이용하였다.

Array genotyping 이미지 정보를 활용한 유전자형 분석 결과에서 데이터의 품질이 과도하게 떨어지는 일부를 제외하였다(Figure 76). “rs312644159”, “rs314727459” 마커의 genotyping은 Figure 2의 (B)와 같이 genotyping 결과가 유전자형별로 분리가 안되어 전체 결과값에서 제외하였다. 따라서, 총 917개 샘플에 대한 59개 마커의 유전자형 정보를 새롭게 획득하였다.

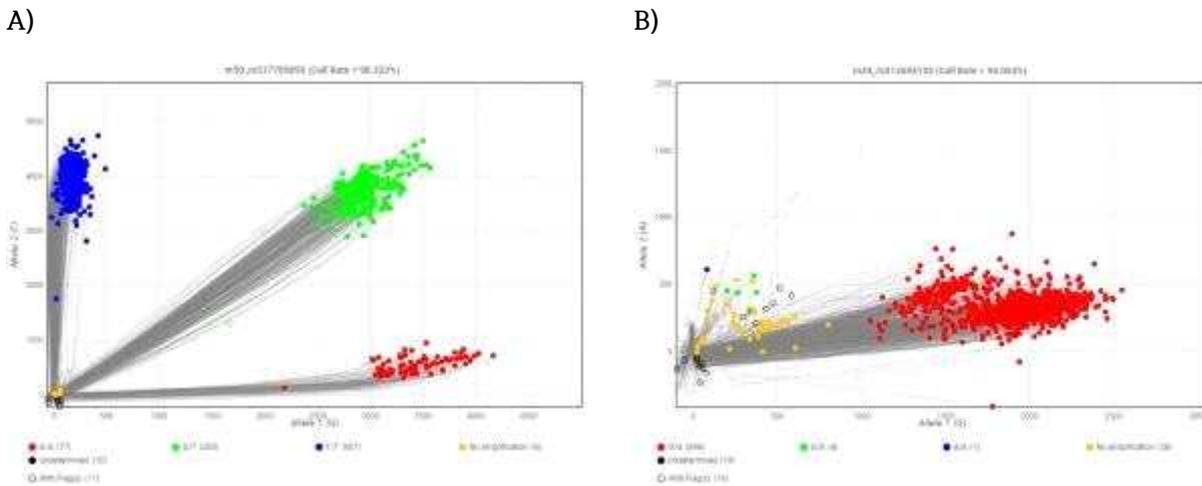


Figure 76. Example of A) good and B) bad genotyping results.

이미지 QC 이후 유전자형 분석 결과 전체 call rate는 99.42%로 매우 양호한 유전자형 분석이 이뤄진 것을 확인하였다(Figure 77). 일부 call이 되지 않은 데이터의 경우 추후 분석 결과에 영향을 주지 않는다고 판단되어 전체 평균값으로 대체하여 분석을 진행하였다.

획득된 유전자형 정보의 경향성을 확인하기 위해 유전자형 정보를 활용하여 PCA를 실시하였다(Figure 78). 분석결과 이전 연구와 동일하게 case집단과 control집단이 명확하게 분리되는 것을 확인하였다. GSP 순계 집단인 HF, HH, HY는 모두 같은 방향으로 편향되어 위치하였고, 이 중 부계 계통인 HF, HH는 상대적으로 더 밀집되어 위치하였다. 또한 GSP 순계 집단의 교잡종인 GSP_CC 집단은 순계 집단과 유전자형을 공유하기 때문에 중간 부위에 위치하였다. 반면 control집단들은 case집단과 다른 방향으로 편향되어 위치하였다.

Genotyping error로 인해 1개의 SNP 정보가 누락된 최소의 35 SNP 결과에서도 앞선 결과와 매우 유사한 경향을 확인하였다(Figure 79). 전반적으로 case집단의 군집이 이전 결과보다

넓게 퍼져서 일부 case샘플과 control샘플의 구분이 어려우나 집단의 분리 경향은 동일하게 확인되었다. 하지만, 단순 경향성을 통한 결과는 수치화된 결과가 누락되어 객관성이 부족하다고 판단되었다. 따라서, 마커조합의 Kit로써의 활용 가능성과 타당성을 보충하기 위해 전년도 연구에서 획득한 600K SNP 데이터와 Fluidigm validation 데이터를 병합 후 기계학습을 이용하여 수치화된 정확도를 도출하였다.

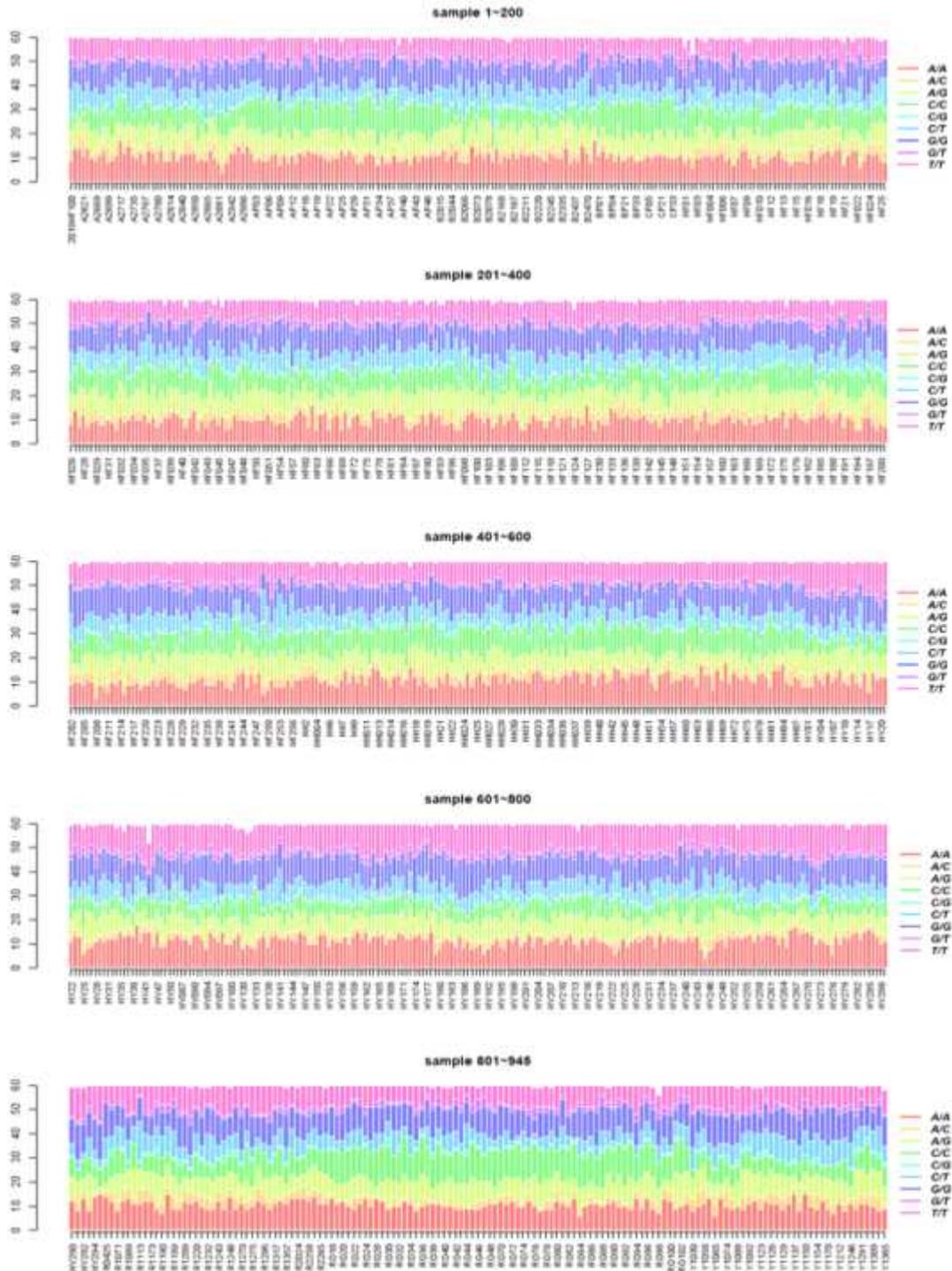


Figure 77. TapMan OpenArray 60 SNP marker genotyping results for each individual.

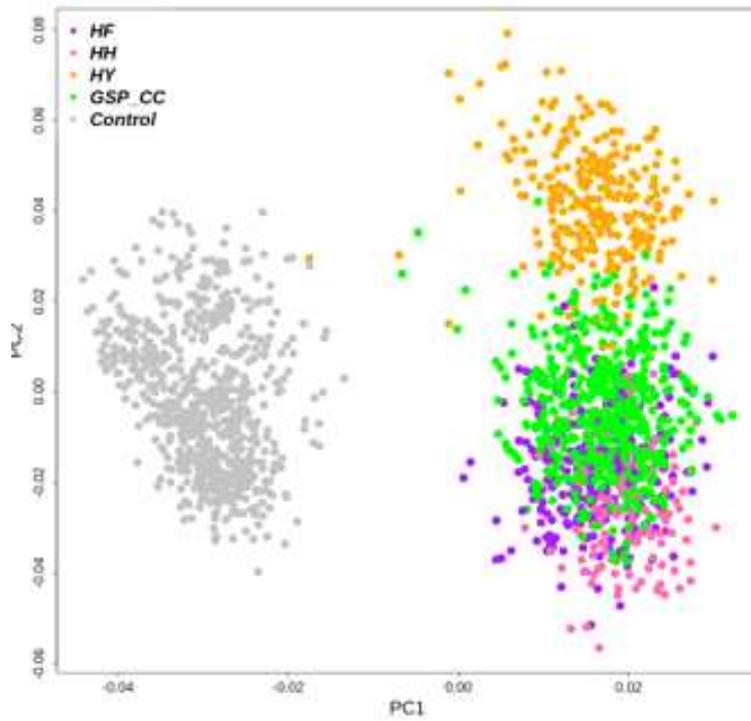


Figure 78. PCA result using 60 markers on 1,861 individuals.

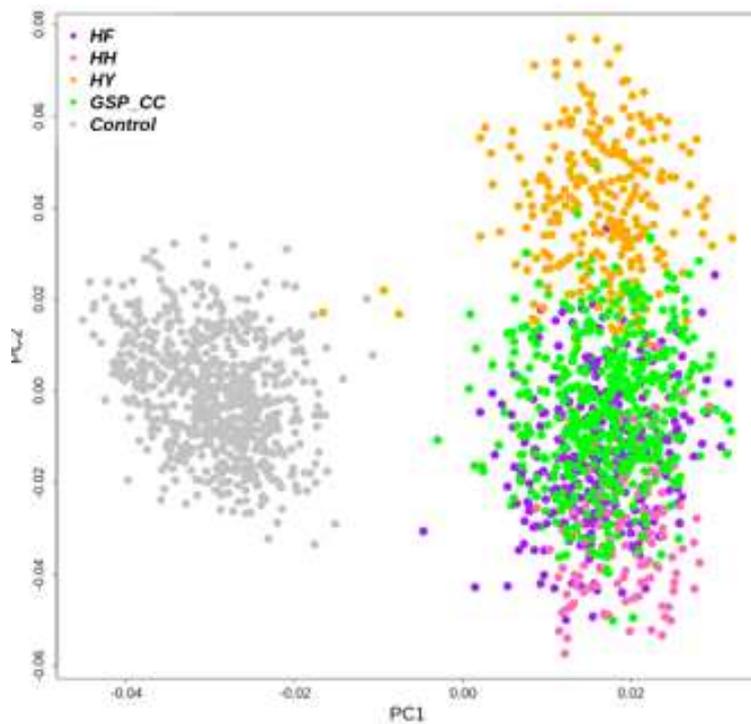


Figure 79. PCA result using 36 markers on 1,861 individuals.

총 283마리(Ab:10, Cobb:12, HA:20, HF:23, HG:23, HH:23, HL:10, HS:23, HV:23, HW:23, HY:21, HZ:15, LO:10, NC:6, ND:6, NH:6, NR6, NS:5, NY:5, Ross:12)의 600K SNP 데이터에서 최적 및 최소 마커 조합에 대한 유전자형을 각각 추출하였으며, Fluidigm

validation 데이터 총 192마리(Ab:11, Cobb:8, HF:31, HH:41, HY:26, LO:5, Ross:20, GSP_CC:30, K:5, HI:5, WM_2:10)에서도 동일하게 마커를 추출하여 plink software를 이용하여 데이터를 합병하였다. 데이터 합병 시 Open Array genotyping 데이터의 경우 “rs312644159”, “rs314727459” 마커의 데이터가 누락되어 있기 때문에 누락된 유전자형 정보를 모두 제거하여 분석을 진행하였다.

기계학습을 위해 이전 연차 연구 결과에서 획득된 283마리 600K 데이터와 Fluidigm validation 데이터를 각각 training data set으로 설정하였고, 4차년도 데이터 945마리와 5차년도의 데이터 917마리의 총 1,862마리의 Open Array genotyping를 test data set으로 설정하여 총 8 가지의 기계학습 모델을 적용하였다(Random Forest, Linear Discriminant Analysis, AdaBoost, Nearest Neighbors, Decision Tree, Naive Bayes, Quadratic Discriminant Analysis, K-Nearest Neighbors).

최적의 61 SNP 마커 조합(2 SNP error)에 대하여 기계학습 모델별로 정확도를 도출한 결과 2개의 SNP가 누락되었음에도 불구하고 전반적으로 우수한 품종 식별 정확도를 확인하였다 (Table 35, Figure 80). 모든 기계학습 모델에서 99% 이상의 정확도로 목표한 GSP 토종종자와 GSP_CC 집단을 타집단과 구분하였다. 이는 전체 945개의 샘플로 판별 테스트를 실시하였을 경우 적게는 1개 내지, 많게는 4개 정도의 샘플을 제외하고 모두 정확하게 case집단과 control집단으로 구분한 것을 의미한다. 더불어, 실제 거짓값을 거짓값으로 인지할 확률의 지표인 Specificity는 모든 모델에서 100%의 정확도를 나타내었다. 이는 임의의 개체가 GSP 품종이 아닐 경우 이를 GSP 품종이 아니라고 판단할 확률이 100%를 의미한다.

Table 35. The accuracies for different machine learning models for breed identification using 61 SNP markers (2 SNP error).

Model	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Precision	Recall	Prevalence	Balanced Accuracy
Decision_tree	0.998	0.997	1.000	1.000	0.997	0.637	0.999
AdaBoost	0.998	0.997	1.000	1.000	0.997	0.637	0.999
Linear_SVM	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.637	1.000
Quadratic_Discriminant_Analysis	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.637	1.000
Random_Forest	0.998	0.997	1.000	1.000	0.997	0.637	0.999
Linear_Discriminant_Analysis	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.637	1.000
K-Nearest_Neighbors	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.637	1.000
Naive_Bayes	0.998	0.997	1.000	1.000	0.997	0.637	0.998

마찬가지로 최소의 36 SNP 마커 조합(1 SNP error)에 대해서도 앞선 분석과 동일 정확도 평가를 실시하였다. 분석 결과 최소 마커 조합에서도 최적의 마커 조합 결과와 매우 유사한 결과

를 확인하였다(Table 36, Figure 81).

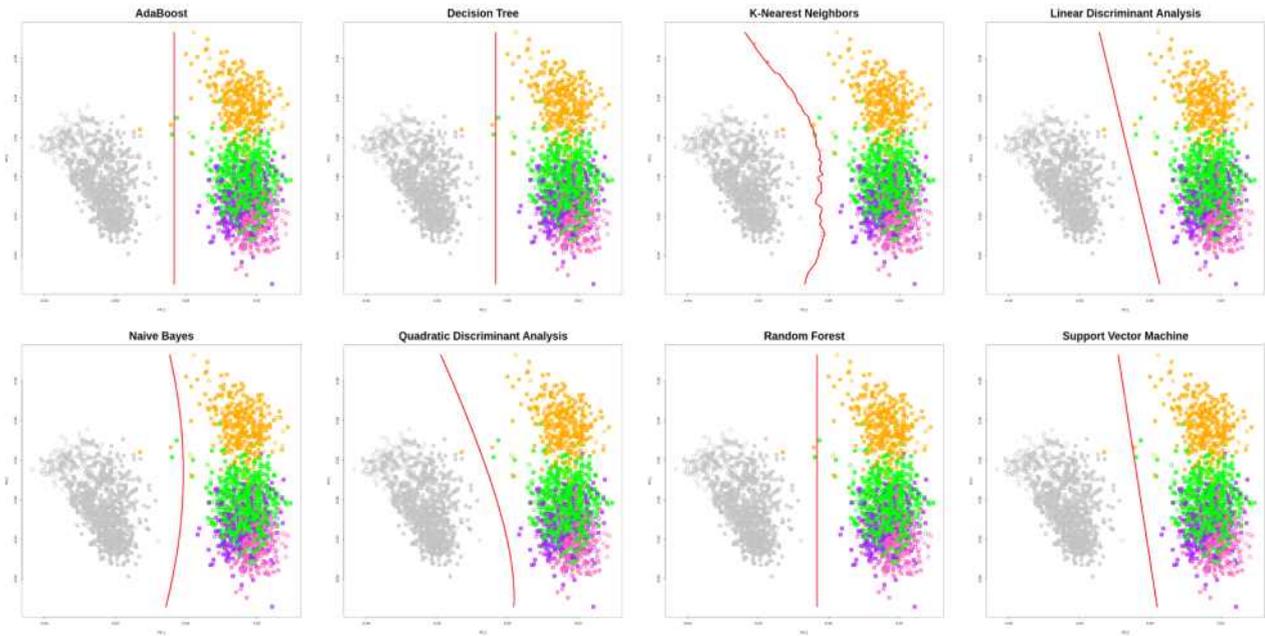


Figure 80. Group clustering trend plot by 8 Machine Learning Model using 61 SNP markers (2 SNP error).

최소의 36 SNP 마커 조합에 대하여 기계학습 모델별로 정확도를 도출한 결과 1개의 SNP가 누락되었음에도 불구하고 모든 모델에서 99% 이상의 정확도를 확인하였다. case-control 집단의 경계선에 일부 변화가 확인되었으나 일부 이상치 개체를 제외하고 정확하게 구분 및 분리된 결과를 확인하였다.

Table 36. The accuracies for different machine learning models for breed identification using 36 SNP markers (1 SNP error).

Model	Accuracy	Sensitivity	Specificity	Precision	Recall	Prevalence	Balanced Accuracy
Decision_tree	0.999	0.998	1.000	1.000	0.998	0.637	0.999
AdaBoost	0.999	0.998	1.000	1.000	0.998	0.637	0.999
Linear_SVM	0.998	0.997	1.000	1.000	0.997	0.637	0.998
Quadratic_Discriminant_Analysis	0.997	0.996	1.000	1.000	0.996	0.637	0.998
Random_Forest	0.999	0.998	1.000	1.000	0.998	0.637	0.999
Linear_Discriminant_Analysis	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999	0.637	1.000
K-Nearest_Neighbors	0.998	0.997	1.000	1.000	0.997	0.637	0.999
Naive_Bayes	0.998	0.997	1.000	1.000	0.997	0.637	0.998

본 연구 결과는 최적 및 최소 SNP 마커 조합이 GSP 품종은 정확히 구분할 수 있고, 본 마커 조합을 활용한 Kit 역시 품종 구분을 할 수 있음을 의미한다. 더욱이 기계학습 분석의 특성상 축적되는 데이터의 양이 늘어날수록 보다 개선된 결과를 도출할 수 있을 것으로 사료된다. 현재의 결과는 학습데이터셋이 473수로 상당히 적은수로 무려 1,862마리의 대부분 닭 집단을 구분하였기 때문에 유의미한 결과를 얻은 것으로 판단된다. 또한, 기존 마커 선발 시 사용된 적이 없던 한국재래닭 집단에 대해서도 정확한 품종 구분이 가능하였다. 이는 선발된 마커 조합이 GSP 토종종자의 특이적인 유전자형 구성을 반영한 결과임을 시사하고 있으며, 나아가 기존에 기계학습 되지 않은 새로운 품종에 대해서도 대응할 수 있는 가능성을 확인하였다.

또한, Kit 제작에 이용된 TaqMan OpenArray genotyping 방법은 비록 2개의 SNP에 대하여 genotyping error를 도출하였으나 높은 genotyping call rate을 보였으며, 획득된 유전자형 정보를 바탕으로 수행한 PCA 분석 결과에서도 특이적인 이상치 없이 기존 결과와 유사한 결과를 나타내어 genotyping 정확도에도 Kit로 활용하기에 충분한 것으로 확인이 되었다. 결론적으로, TaqMan OpenArray로 제작된 Kit는 목표한 GSP 토종종자와 GSP_CC를 성공적으로 구분 가능성이 확인되었다.

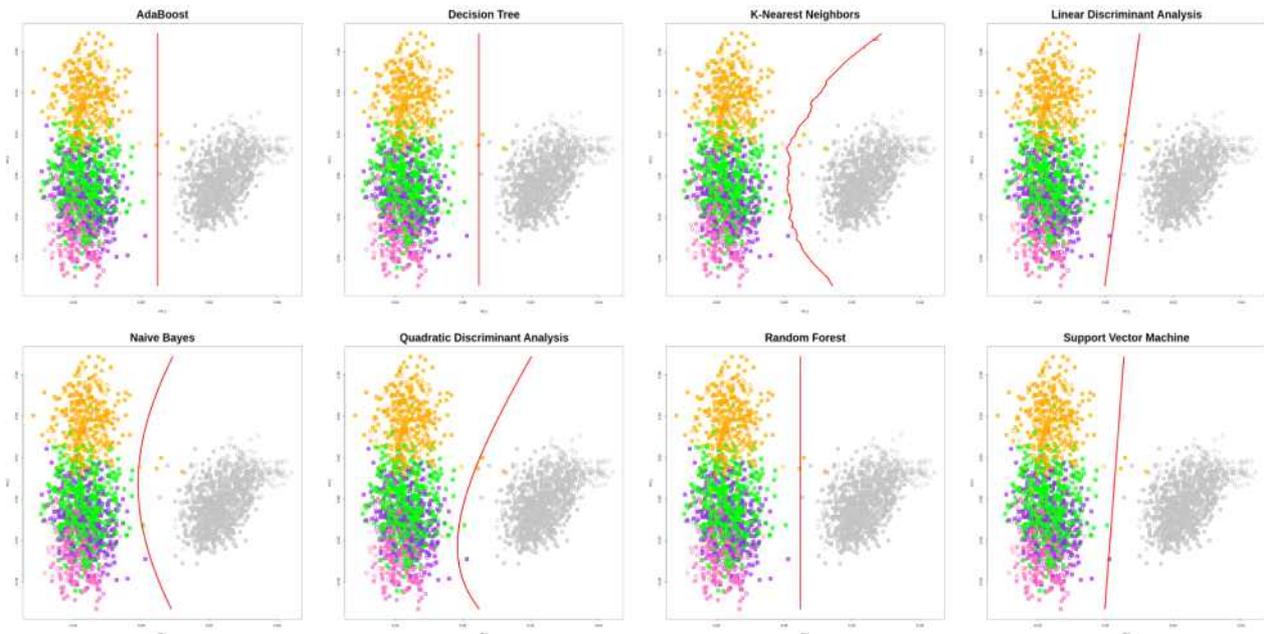


Figure 81. Group clustering trend plot by 8 Machine Learning Model using 35 SNP markers (1 SNP error).

7. 품종 및 개체식별을 위한 표준화 및 KIT 개발과 실증 실험

가. 연구수행 내용 및 방법

(1) 공시재료

신품종 토종 종계 검증시스템 적용을 위하여 확립된 12 MS 마커 (ADL0293, ADL0304, ADL0317, GCT0016, LEI0094, MCW0029, MCW0087, MCW0104, MCW0123, MCW0127, MCW0145, MCW0330)과 Multiplex PCR 조건에 대한 검증 실험을 진행하였으며 한협 PL 7 계통(A, F, H, S, W, Y, Z), 국내 토종 실용계 한협3호, 우리맛닭1호, 2호, 실용육계로 널리 알려진 로스(Ross), 코브(Cobb), 아바에이커(Arbor Acres)를 이용하여 전체 13개 품종의 1042 수를 대상으로 하였다 (Table 37).

Table 37. Description of the 13 chicken breeds used in the present study.

Breed	No. of Sample	Breed	No. of Sample
Hanhyup A line	17	Hanhyup No. 3	98
Hanhyup F line	170	Woorimatdag No. 1	50
Hanhyup H line	171	Woorimatdag No. 2	46
Hanhyup S line	144	Ross	37
Hanhyup W line	144	Cobb	17
Hanhyup Y line	113	Arbor Acres	15
Hanhyup Z line	20		

(2) Multiplex PCR 수행

Multiplex PCR 반응액 조성은 Genomic DNA 1 μ l, Primer Mix 5 μ l, 10X buffer 1.8 μ l, dNTP 1.5 μ l, Hot start Taq DNA Polymerase 0.5 μ l, D.W 5.2 μ l로 총 반응액 15 μ l로 조성하여 GeneAmp® PCR system 9700 (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 PCR을 진행하였다. PCR 온도 조건은 denaturation 과정 95 $^{\circ}$ C에서 10분, 95 $^{\circ}$ C에서 30초, annealing temperature 55 $^{\circ}$ C에서 30초, primer extension 72 $^{\circ}$ C에서 60초간의 과정을 30회 반복하였으며 final extension 을 72 $^{\circ}$ C에서 10분 수행하여 4 $^{\circ}$ C에서 종료하였다.

(3) 유전자형 분석

대립유전자의 크기를 확인하기 위해 증폭된 PCR 산물을 10-100배 정도 Hi-Di™ formamide (Applied Biosystem, USA)를 이용하여 희석하였으며 GeneScan™-500LIZ™ size standard (Applied Biosystem, USA)와 혼합하여 Heating 및 Icing 과정을 거쳤다. 단일 가닥으로 유지된 산물을 Genetic Analyzer 3730x(Applied Biosystem, USA)를 이용하여 Fragment Analysis를 실시하였다. 얻어진 결과는 Genemapper ver. 4.1 (Applied Biosystem, USA) 프로그램을 사용하여 유전자형을 분석하였다.

(4) Allelic Ladder 개발

(가) Cloning을 통한 Plasmid DNA 확보

각 마커별 Homozygosity allele을 가지는 샘플에 대하여 PCR을 수행한 후 각각 cloning을 진행하였다. 정제된 PCR product를 pTOP TA Cloning kit를 사용하여 vector에 삽입시킨 후

cloning 한 mixture 2 μ L을 1.5 mL tube에 competent cell 50 μ L과 함께 넣어 섞어준 뒤 얼음에 20분간 반응시킨다. 42°C에서 50초 동안 heat block를 이용하여 heat-shock를 주어 세포막 내외에 온도의 불균형으로 plasmid DNA가 세포 내로 들어갈 수 있도록 하고, 즉시 얼음에 2분간 방치하여 세포를 안정화시킨다. SOC medium 950 μ L를 첨가한 뒤 뚜껑을 살짝만 닫고 shaking incubator를 이용하여 37°C에서 1시간 동안 배양한다. 그 후 ampicillin(50 μ g/mL)이 포함된 LB agar 배지에 도포하여 overnight 동안 배양한다. Insertion이 일어나지 않은 세포는 LB agar plate 내 ampicillin에 의하여 사멸하고 insert된 세포만 남게 된다. 이 colony를 하나씩 선발하여 Liquid culture 하여 보관한다.

colony가 들어있는 15ml tube를 3000rpm에서 5분간 Spin down하고 media를 pipetting을 통하여 완전히 제거하여 E.coli을 채취한다. Plasmid Extraction Kit (Bioneer, Korea)의 PA1 Buffer 250 μ L를 넣고 Vortexing하여 완전히 섞어주고 새 1.5 mL 튜브로 옮겨준다. 1.5 mL tube에 P2 Buffer 250 μ L, PA3 Buffer 350 μ L를 넣고 3~4회 뒤집으며 섞어준다. 13,000rpm, 4°C에서 10분간 Spin down한 후에 상층액을 DNA binding column tube(collection tube와 결합)에 옮기고 13,000rpm으로 1분간 Spin down한다. collection tube의 내용물을 제거한 후 다시 결합한다. W2 Buffer 700 μ L를 넣고 13,000rpm으로 1분간 Spin down하여 washing 과정을 진행한다. collection tube의 내용물을 제거한 후 다시 결합시킨 후에 DNA binding filter를 건조시키기 위하여 13,000rpm에서 5분간 Spin down하여 에탄올을 제거한다. DNA binding column tube를 새 1.5ml tube와 결합하고 EA Buffer 50 μ L를 넣은 후, 13,000rpm에서 1분간 Spin down하여 plasmid DNA를 얻는다.

(나) Allelic Ladder 개발 과정

clone으로부터 Plasmid DNA를 추출하여 Single PCR을 진행한다. Plasmid DNA(50 ng/ μ) 1 μ L, 각각의 primer 0.5 μ L, Hot start Taq DNA polymerase 0.2 μ L, 10 \times Buffer 1.5 μ L, dNTP 1 μ L의 구성에 DW를 첨가하여 최종 부피를 15 μ L로 반응시켜 증폭시켰다.

얻어진 PCR 산물을 마커마다 일정한 비율로 1차 혼합하고, 네 가지의 형광 Dye에 따라 일정한 비율로 2차 혼합하였으며, 2차 혼합물을 동량으로 혼합하여 한 번에 12개 MS 마커에 출현할 수 있는 Allelic ladder를 개발하였다.

(5) 통계 분석

MS Toolkit software(Park, 2000)를 이용하여 유전자형 분석을 통해 크기가 확인된 대립유전자의 정보를 기반으로 하여 대립유전자의 수(No. of allele), 기대이형접합율(expected heterozygosity, HExp), 관측이형접합율(observed heterozygosity, HObs), 다형성정보지수(Polymorphism information content, PIC)를 분석하였다.

Cervus ver 3.0(Marshall et al., 1998)을 사용하여 동일개체 출현빈도를 분석하였으며 부모 정보가 없는 부권 부정율(NE-1P), 한쪽 부모를 알고 있을 경우 다른 한쪽의 부권 부정율(NE-2P), 양친과 자손을 모두 알고 있을 경우의 부권 부정율(NE-PP), 비혈연 집단 내 동일 유전자형을 보유할 수 있는 경우의 동일 개체 출현율(NE-I), 두 형제 사이에서 동일한 유전자형을 보유할 수 있는 경우의 형제 내 동일개체 출현율(NE-SI)를 분석하였다. API-CALC ver 1.0(Ayres and Overall, 2004) 프로그램을 사용하여 동일개체 출현확률을 분석하였다.

나. 연구수행 내용 및 방법

(1) 토중 종계 개체식별 kit의 최적의 조성 및 온도 조건 개발

각 MS 마커별 peak 높이와 stutter 및 노이즈 양상 등의 trouble shooting을 위하여 primer의 농도, 10x Buffer와 dNTP의 양, Extension time을 조절하였으며 (Figure 82~84), 한 번에 Multiplex PCR이 가능한 최적의 12 MS Multiplex PCR 조건을 확립하였다 (Table 38).

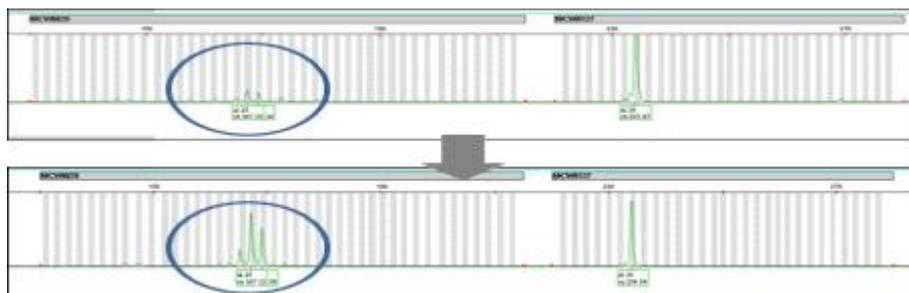


Figure 82. Peak pattern according to concentration change of MCW029

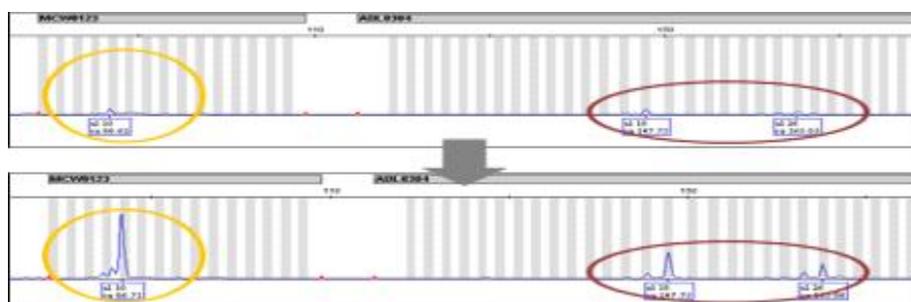


Figure 83. Peak pattern according to volume change of 10x Buffer and dNTP

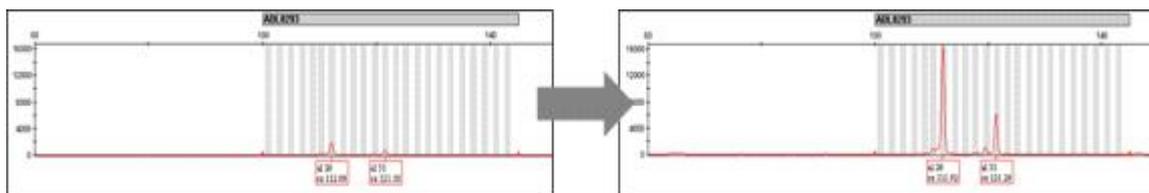


Figure 84. Peak pattern according to change of Extension time

Table 38. Reaction components and temperature conditions for multiplex PCR using 12 MS markers.

Reaction components	Volume(μl)	Cycle step	Temperature	Time	Cycle
DNA(5 ~ 10ng)	1	Pre-denaturation	95 °C	10min	1
Primer mix	5	Denaturation	95 °C	30sec	30
dNTP	1.5	Annealing	55 °C	30sec	
10x Buffer	1.8	Extension	72 °C	1min	
Hot start Taq polymerase	0.5	Final extension	72 °C	10min	1
D.W	5.2	Hold	4 °C		
Total	15				

(2) 데이터 표준화 분석과 공유를 위한 전체 마커 조합의 Allelic Ladder 개발

확인된 12 MS 마커의 Homozygosity allele 중 염기서열을 검증한 샘플에서 clone을 확보해 각각 Plasmid DNA 추출과 single PCR을 진행하였다 (Table 39). 총 80개의 allele로부터 각 마커별 PCR 산물을 확보하였으며 Genotyping을 통하여 대립유전자의 크기를 검증하였다.

Table 39. Size of sample with Homozygosity allele for each selected 12 MS marker

Marker	Allele Size								Number of alleles
ADL0293	113	117	119	121	123	125	127		7
ADL0304	145	147	159	163	165				5
ADL0317	185	189	191	197	205	209	211		7
GCT0016	109	127	129	131	143	153	161	165 167	9
LEI0094	255	265	267	269	271	283	285	289	8
MCW0029	151	153	155	157	163	165	167	169 173	9
MCW0087	273	277	279	283	285	289	291		7
MCW0104	198	208	212	214	218	228	234		7
MCW0123	87	93	95	97					4
MCW0127	234	238	246	248	266	272	274		7
MCW0145	195	197	207	211	213	217			6
MCW0330	264	276	284	296					4

총 80개의 allele로부터 얻어진 PCR 산물을 12개 MS 마커마다 일정한 비율로 1차 혼합하고, 네 가지의 형광 Dye(FAM, VIC, NED, PET)에 따라 일정한 비율로 2차 혼합하였으며, 2차 혼합물을 동량으로 혼합하여 한 번에 12개의 마커에 출현할 수 있는 Allelic ladder를 개발하였다 (Figure 85).

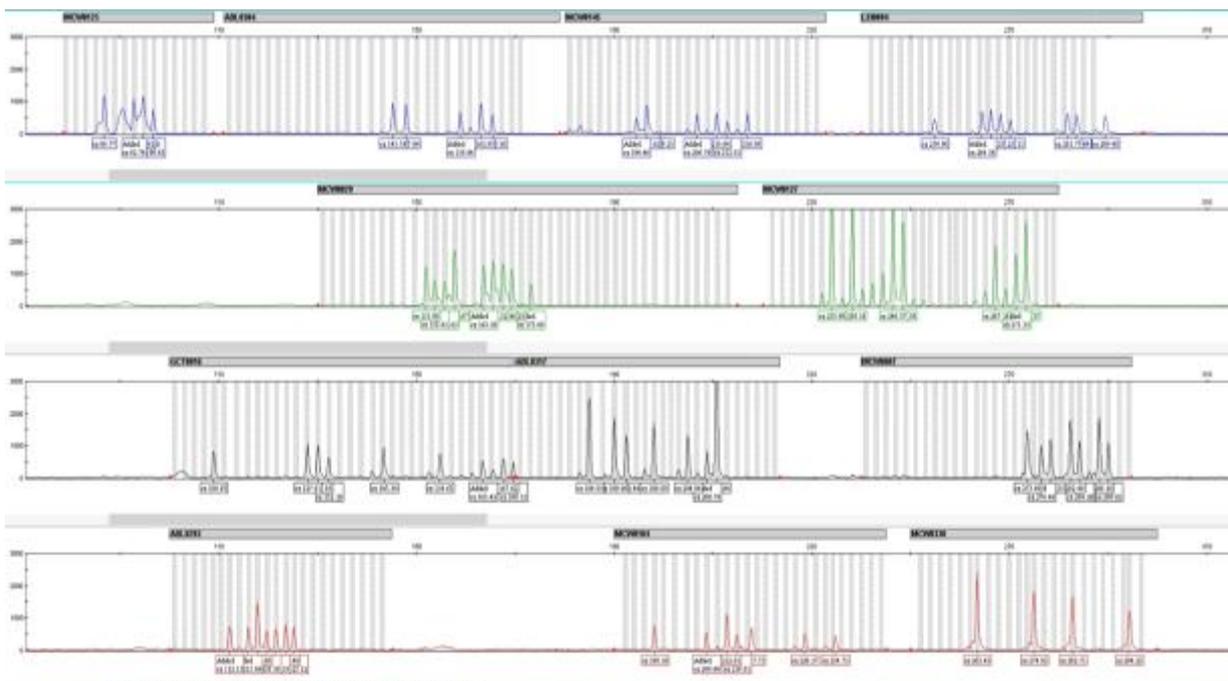


Figure 85. The result of loading allelic ladder

(3) 분석프로그램(Genemapper)에 적용 가능한 panel 및 bin set 개발

Allelic ladder와 확보한 PL 계통 데이터로부터 출현 가능한 allele의 평균 오차값을 산출하였으며 이를 이용하여 12개의 MS 마커에서 대립유전자형의 범위를 각각 설정하고 Genemapper ver 5.0 program에 동일하게 적용할 수 있는 panel과 bin set을 제작하였다 (Figure 86).

	Universal	Marker Name	Dye Color	Min Size	Max Size
1		MCW0123	Blue	78,5	109,02
2		ADL0304	Blue	114,95	182,01
3		MCW0145	Blue	185,0	232,78
4		LEI0094	Blue	246,88	296,95
5		MCW0029	Green	130,0	215,0
6		MCW0127	Green	220,0	280,0
7		GCT0016	Yellow	100,0	172,0
8		ADL0317	Yellow	177,0	223,5
9		MCW0087	Yellow	240,0	296,0
10		ADL0293	Red	100,0	145,0
11		MCW0104	Red	190,0	245,0
12		MCW0330	Red	250,0	300,0

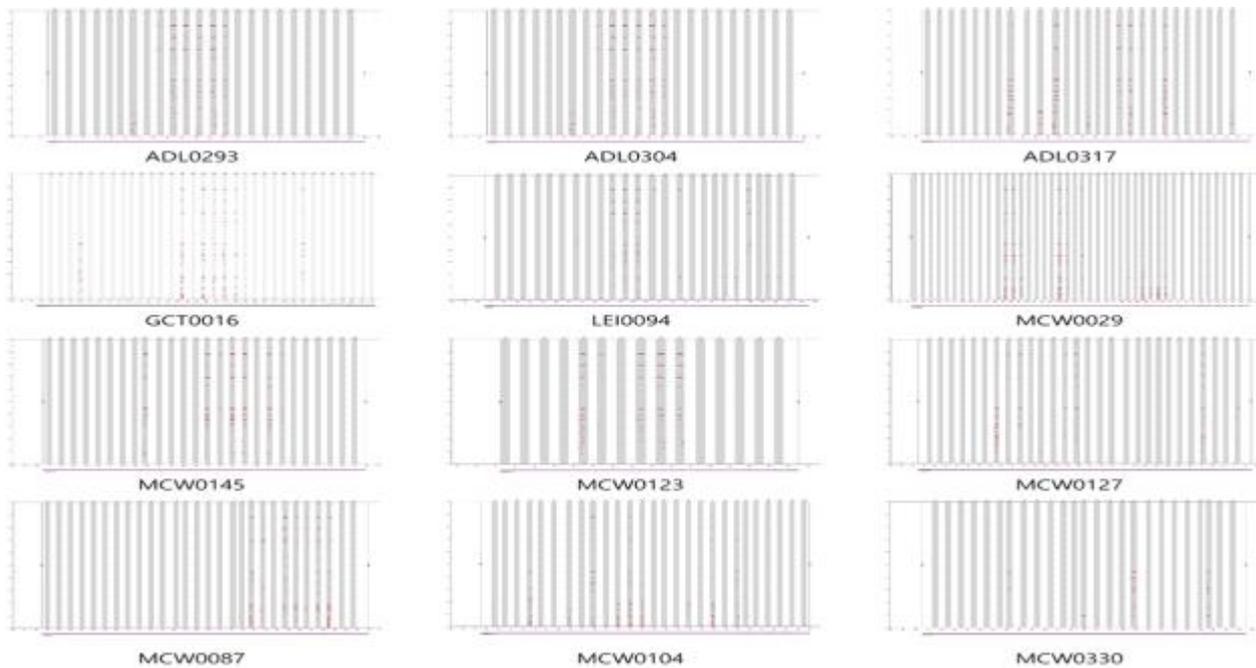


Figure 86. The panel, bin set per 12 marker

(4) 품종 구분의 정확도 향상을 위한 kit의 실증 실험 및 검증시스템 확립

추후 유전자 분석을 이용한 토종 종계의 개량, 개체식별, 유전적 다양성 연구 등에 기초자료로 활용이 가능한 Reference data인 13 품종의 1042수를 확보하여 검증 실험을 진행하였다.

대립유전자의 크기를 기반으로 MS Toolkit software를 이용하여 12종의 MS marker에 대한 관측이형접합율(observed heterozygosity, HObs), 기대이형접합율(expected heterozygosity, HExp), 다형성정보지수(Polymorphism information content, PIC), 대립유전자 수(Number of alleles) 를 분석하였다 (Table 40).

Table 40. The statistical analysis of heterozygosity(HObs and HExp), polymorphism information content(PIC) using selected 12 Microsatellite markers

Marker	HObs	HExp	PIC	Number of alleles
ADL0293	0.657	0.815	0.790	10
ADL0304	0.676	0.756	0.719	7
ADL0317	0.395	0.859	0.842	10
GCT0016	0.400	0.653	0.588	11
LEI0094	0.680	0.722	0.675	10
MCW0029	0.779	0.858	0.842	19
MCW0087	0.579	0.806	0.778	12
MCW0104	0.706	0.879	0.867	17
MCW0123	0.608	0.721	0.671	5
MCW0127	0.687	0.827	0.806	12
MCW0145	0.718	0.795	0.766	10
MCW0330	0.530	0.765	0.731	8
Mean	0.618	0.788	0.756	10.917

전체 집단에서 대립유전자는 총 131개로 확인되었으며 평균 10.917개이다. HObs는 0.395(ADL0317)에서 0.779(MCW0029)로 평균 0.618이며 HExp는 0.653(GCT0016)에서 0.879(MCW0104)로 평균 0.788이다. PIC는 0.675(LEI0094)에서 0.867(MCW0104)로 평균 0.756의 값을 가진다. 일반적으로 MS marker는 HExp 값이 0.6 이상이고, PIC의 값이 0.5 이상 일 때 높은 다형성을 가진 것으로 알려져 있다. 모든 12개 MS 마커가 높은 다형성을 가지고 있음을 확인할 수 있으며 품종 및 개체 식별 마커로 활용 가능할 것으로 사료된다. 12종의 MS marker에 대해 Cervus ver 3.0를 이용하여 전체 종계 집단의 동일개체 출현빈도를 분석하였다 (Table 41). 각각 부모 정보가 없는 부권 부정율(NE-1P), 한쪽 부모를 알고 있을 경우 다른 한쪽의 부권 부정율(NE-2P), 양친과 자손을 모두 알고 있을 경우의 부권 부정율(NE-PP), 비혈연 집단 내 동일 유전자형을 보유할 수 있는 때의 동일 개체 출현율(NE-I), 두 형제 사이에서 동일한 유전자형을 보유할 수 있는 경우의 형제 내 동일개체 출현율(NE-SI)를 분석하였다. 전체 동일개체 출현빈도 값에서 모두 0에 수렴하는 낮은 값을 확인하였다.

Table 41. The statistical analysis of equal prevalence using selected 12 Microsatellite markers

Marker	NE-1P	NE-2P	NE-PP	NE-I	NE-SI
ADL0293	0.54	0.365	0.185	0.059	0.357
ADL0304	0.638	0.46	0.272	0.097	0.396
ADL0317	0.447	0.285	0.121	0.036	0.33
GCT0016	0.765	0.611	0.44	0.185	0.47
LEI0094	0.692	0.519	0.337	0.124	0.42
MCW0029	0.442	0.281	0.115	0.035	0.33
MCW0087	0.56	0.383	0.203	0.066	0.364
MCW0104	0.391	0.242	0.089	0.026	0.317
MCW0123	0.701	0.528	0.352	0.127	0.421
MCW0127	0.508	0.336	0.158	0.051	0.349
MCW0145	0.576	0.398	0.213	0.071	0.371
MCW0330	0.624	0.444	0.256	0.089	0.39
Combined	0.00100926	0.00001240	5.70E-0009	1.15E-0014	0.00000747

API-CALC ver 1.0을 이용하여 12 MS marker에 대한 중계 집단 of 동일개체 출현확률 (PI) 을 분석하여 Table 42에 제시하였다. 또한 전체 중계 집단을 무작위 교배 집단으로 가정하여 부모가 알려진 경우(PE1) 및 한 부모의 유전자형이 누락된 경우(PE2)의 친자감정확률을 추정 하였다 (Table 43).

Table 42. The expected probability of identity values among genotypes of random individuals (PI)

Marker	PI
MCW0104	3.17 x 10-03
ADL0293	1.83 x 10-05
ADL0317	1.12 x 10-07
MCW0029	7.38 x 10-10
MCW0330	5.29 x 10-12
MCW0087	3.93 x 10-14
MCW0127	3.82 x 10-16
MCW0145	3.83 x 10-18
ADL0304	3.93 x 10-20
LEI0094	4.18 x 10-22
MCW0123	4.96 x 10-24
GCT0016	7.61 x 10-26

Table 43. Probability of Exclusion for each Locus and for Increasing Combinations of the 12 Microsatellite markers

Marker	PE1*	PE2*
Marker01	63.522	46.045
Marker02	83.231	65.580
Marker03	95.217	84.611
Marker04	97.076	88.226
Marker05	98.483	91.847
Marker06	99.573	96.397
Marker07	99.836	97.983
Marker08	99.960	99.212
Marker09	99.979	99.447
Marker10	99.993	99.719
Marker11	99.997	99.838
Marker12	99.999	99.899

PE1* : When the other parent is known

PE2* : When genotype of one parent is missing

이러한 결과는 종계 집단이 개체식별 및 친자확인 marker로 12종의 MS marker가 충분한 정확도를 가졌음을 나타낸다. 검증을 통하여 분석 Kit가 토종 종계의 개량, 품종 및 개체식별, 유전적 다양성 연구 등에 활용 가능할 것으로 사료된다.

제 3 장 목표 달성도 및 관련분야 기여도

제 1절 연구개발 목표의 달성도

1. 정성적 목표 및 달성도

본 연구의 목표는 국내 토종닭 순계의 보존 및 육종관리 체계를 구축하여 민간 육종기업의 육종사업의 지속성을 확보하고자 하였다. 이를 위해 순계의 육종관리를 통해 수집된 생물정보의 축적과 활용을 위한 데이터베이스를 개발하여 기업의 육종사업 역량을 강화하고 과학적인 종계 개량이 추진되도록 기반을 조성하였다. 육종사업으로 관리된 순계를 활용하여 교배조합능력검정을 추진하고 이를 통해 기존 토종닭 대비 생산성이 개선된 신품종 토종닭 종계 및 실용계를 생산할 수 있는 최적교배조합 체계를 개발하였으며 개발 품종에 대하여 타 품종과 식별할 수 있는 분자표지를 개발 및 검증 체계를 구축하여 국내 고유 토종닭 유전자원의 권리확보와 개발된 품종의 원산지에 대한 소비자 신뢰성을 확보하여 본 연구를 통해 개발된 신품종 토종닭의 상업적 가치를 제고하였다. 또한 닭의 상업적 이용을 위한 육종단계별로 구성된 프로젝트 및 세부연구 과제 연계성을 유지하여 종자산업의 가치사슬에 따른 부가가치 창출을 위한 협업을 진행하였으며 고품질 토종닭 생산에 의한 산업 활성화를 추구하였음

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도 (%)
1차 년도	2017	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자 개발용 순계 계통별 산육 및 산란 능력 향상 ○ 검정 성적 DB 관리 체계 구축 ○ GPS 교배조합능력검정 시험에 의한 우수 종계 계군 선발 및 품종 식별마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 토종닭 보유 순계 계통 별 산육 및 산란능력 검정에 의한 선발, 교배 - 검정자료 DB 입력, 기초통계량 분석 및 자료관리 DB 관리 - 교배조합 검정을 통한 종계계군 선정 - 최소 MS 및 SNP 마커조합 이용 신품종 토종종자의 식별 마커조합 제공 	100
2차 년도	2018	<ul style="list-style-type: none"> ○ 능력검정 결과를 기초로 선발지수식 적용 육종가에 의한 선발 ○ 표현형·혈통정보 기반 순계, 원종계 선발 모형 설정 및 체계 구축 ○ 선정 GPS교배조합능력 검정 및 신규 조합 확대시험 및 인증을 위한 순계 유전자형 확보 	<ul style="list-style-type: none"> - 계통별 최적 육종체계 개발과 적용 - 교배체계의 유전적 고정 확인 및 현장 실증 - 산육성 대비 육질이 우수한 실용계 생산 교배체계 제시 - 신품종 토종종자 정확한 식별 및 품종 인증을 위한 PL 계통의 유전자형 확보 	100
3차 년도	2019	<ul style="list-style-type: none"> ○ 능력검정 결과를 토대로 이모색, 강건성 등 외모를 고려한 선발, 교배 ○ 순계, 원종계 해당 형질 관련 최적 선발모형설정 및 육종가 추정 피드백 ○ 신품종의 산업적 이용 다각화 및 유전자형 DB 구축 	<ul style="list-style-type: none"> - 세대별 선발과 교배를 통한 계통별 형질 고정 및 순수화 - 깃털 조만성 이용 성감별 계통 조성 - 산육성 및 육질특성 강화를 통한 목적별 실용계의 산업적 이용 다각화 - 신품종 토종닭 유전자형 DB 구축 	100

4차 년도	2020	<ul style="list-style-type: none"> ○ 개체 및 가계별 능력을 고려한 선발에 의한 배운표 작성에 의한 육종 ○ 주요경제형질에 대한 유의적인 SNP발굴 특징 종계 육성 ○ 우량 교배종 대량 생산용 깃털성감별 모계통조성 및 식별 마커 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 신품종 토종종계 개발을 위한 원종계 (GPS) 생산 및 공급 - 산육성 및 육질이 향상된 토종닭 실용계 생산체계 확립 - 균일도 향상 삼계 생산용 종계 개발 - 현장에서 선발 및 품종의 식별이 가능한 분자마커 Kit의 개발 	100
5차 년도	2021	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1단계 및 2단계 연구에서 확립된 교배 체계에 의한 GPS, PS 증식 ○ 신품종 개발종계의 생산 및 국내외 보급 체계 구축 ○ 육종 데이터 현장 적용 모바일 웹 어플리케이션 구현 	<ul style="list-style-type: none"> - 신품종 개발종계의 생산 및 국내외 보급체계 구축 - 육종 체계에 따른 국산 종계 및 실용계 (CC), 삼계 개발·보급 체계 확립 - 개발 종계 및 실용계의 인증기준 제시 - 현장에서 선발 및 품종의 식별 검증 시스템 확립 	100

2. 정량적 지표 및 달성도

구 분	상표		특허		논문		학술발표		분 자 마 커	우 량 계 통 육 성 선 발 증 식	국 내 매 출 (억 원)	국 내 보 급 (만 바 리)	영 농 기 술 정 보	정 책 제 안	기 술 이 전	유 통 채 널 구 축 수	홍 보	인 력 양 성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비 S CI	국 제	국 내										
최종목표	1	2	7	7	7	24				54		225	5	8	3	3	63	11
1차 년도	목표		1		1	5				12		30	1	1		1	15	1
	실적					5	6			12		30.94			1	1	7	4
2차 년도	목표		2	1	2	5				12		30	1	2		2	15	4
	실적		2		4	4				10		30.51	2	1		1	45	4
3차 년도	목표		1	2	1	4				10		40	1	1			9	2
	실적		1	2		5				10		29.37		1			29	4
4차 년도	목표	1	1	3	1	1	5			10		50	1	2	1		9	3
	실적	9		2	1	3	4			10		26.6		1			30	6
5차 년도	목표		1		3	2	5			10		70	1	2	2		15	1
	실적			2	1	1	5			11			3		2		16	
계	목표	1	2	7	7	7	24			54		225	5	8	3	3	63	11
	실적	8	7	7	4	13	24			53		117.4	5	3	3	2	127	18
달성율(%)	800	350	100	57	186	100				98		52	100	38	100	67	202	164

3. 목표 미달성 원인 및 차후대책

○ 상표 및 특허 등록

- 상표출원은 최종목표 1건 대비 8건을 출원하여 최종 7건을 등록 완료되었으며 참여기업의 개발품종 출시에 우선 활용될 수 있도록 권고할 계획임
- 특허등록은 출원된 특허 7건 중 4건이 등록되었으며 나머지 3건에 대한 등록 절차 및 조건 등 상황을 점검하여 최종 목표를 달성할 수 있도록 추진할 계획임

○ 국내보급

- 최근 침체된 토종닭 산업의 전반적인 여건상 단기간 내 보급 확대를 추진하기 어려운 상황임을 고려할 필요가 있으며 장기적으로 개발품종의 경쟁력 유지를 위한 순계의 관리 및 능력개량에 대한 기술지원 및 연구 추진과정에서 도출된 토종닭 마케팅 요소를 활용한 대외 홍보강화 등으로 산업 점유 30%를 지향하고자 함

제 2절 관련분야 기여도

1. 기술적 측면

가. 국내 토종닭 유전자원의(순계) 확보 및 육종관리기반 구축

○ (집단관리) 민간보유 토종닭 순계 10계통 계통 정립 및 산업화 계통 관리

- 명확한 혈통관리를 통한 계통 확립 근거를 추진하고 신품종개발에 활용

* 혈통정보에 의한 순계집단 관리로 7세대간('14~'20) 연간 근교계수 상승률 1% 미만

- 산업화 전략계통(5계통)을 중심으로 중점육종관리를 추진하고 사업 효율성 제고

- 혈통, 능력검정 자료로 유전능력평가 적용에 의한 매 세대 선발·교배를 추진

- 육종자료 관리 및 실시간 유전능력평가 적용으로 순계 개량 지속성 확보

○ (육종정보) 민간보유 토종닭의 통합육종관리를 위한 시스템 개발

- 개체, 혈통, 형질, 유전자형 정보의 데이터베이스를 기반으로 유전능력평가 및 SNP와 MS이용한 개체, 집단 식별 시스템 구축 ⇒ 과학적 종계 개량 가속화

- 데이터 관리 및 실시간 유전능력평가(rrBLUP) 기능 구현을 통한 정보 활용성 강화

나. 교배조합능력검정을 통한 신품종 토종닭 생산체계 확립 및 품종식별 분자표지 개발

○ (교배체계) 원종계(GPS)-종계(PS)-실용계(CC) 단계에 의한 명확한 산업화 체계 확립

- 생산성이 개선된 토종닭 실용계 생산 원종계(GPS) 및 종계(PS)교배조합 선정

* PS교배조합: 부계통 2종(체중 및 생존율 우수), 모계통 5종(산란능력, 사료이용성 및 체중 우수)

* CC교배조합: 생존율 체중, 사료효율이 우수한 2종의 최종 교배조합 선정

○ (신뢰성) SNP마커 및 MS마커 조합을 이용한 품종식별 기술로 상업적 가치 향상

- 최적 61개, 최소 36개 SNP마커조합을 이용한 신품종 토종 종자 인증 Kit 제작

- 기계학습 모델(8종)을 적용한 품종식별 정확도 평가 결과 99.9%

* 토착 유전자원의 보호 및 개체군의 원산지에 대한 소비자 신뢰성 향상

2. 산업적 측면

가. 생산능력이 개선된 신품종 토종닭 교배체계의 산업보급

○ 종계단계(PS) 및 실용단계(CC) 교배조합능력검정 추진 → 최종 교배체계 2종 선정

- 10주령 기준 기존 보급 토종닭 대비 체중 9.7% 증가, 사료효율 13% 개선

* 개발 토종닭을 삼계 및 육용계로 동시 활용 시 백세미와 비교하여 kg당 약 1.28배 소득 증대 효과

나. 유전정보(SNP) 기반 집단식별 검증체계 확립으로 개발품종의 신뢰성 확보

- 기존 토종닭과 시중에 유통되고 있는 육계와의 품종 구분이 가능하며 개발 토종닭의 특이적 유전자형 구성이 반영된 것으로 향후 데이터 축적으로 개선된 결과 도출 가능

다. 닭 깃털 조우성, 만우성 유전원리를 이용한 자가 성감별 병아리 생산

○ 자가성감별 토종닭 생산을 위한 원종계 계통 조성

- 깃털의 조·만우성 반성유전 양상에 따라 모계를 만우성으로, 부계를 조우성으로 조성하여 종계 및 실용계 병아리의 성을 판별

* 연간 20억원의 병아리 성감별 비용 절감 및 암수 분리 사육에 따른 생산성 향상 기대

- 교배체계의 모계이용 원종계에 대한 만우성 집단으로 분리 조성('21)

* PCR 및 검정교배로 식별된 만우성 암·수개체($Z^K Z^K \times Z^K W$)에 대한 기초집단 조성

제 4 장 연구결과의 활용 계획

1. 토종닭산업 경쟁력을 확보하고 개발 기술의 산업현장 보급 확대

- 가. (종자권리) 국산 토종닭 종계 개발로 국산종자의 권리 및 종자 교섭력 확보
 - 민간기업 보유 우량 소재계를 활용한 지속적인 신품종 개발 연구 수행 지원
 - 향후 축적되는 육종정보 수집 결과를 반영한 유전능력평가 모형의 개선 및 능력 개량 추진
- 나. (육종기술) 민간 육종기업의 기술 역량 향상으로 지속적인 신품종 개발 연구 수행
 - 닭의 육종구조 및 산업화 단계는 순계의 능력개량에서 시작되므로 순계의 우수한 유전 능력이 최종 실용계 단계에서 발현되도록 능력개량의 지속 추진을 위한 육종연구 기술지원 등 협력 체계를 유지
 - 능력개량에 필수적인 혈통 및 능력검정 정보의 축적과 이를 활용한 육종사업이 수행되도록 참여기업 및 신규 희망 기업(농가)을 대상으로 육종관리 시스템(Web DB)의 운용 숙련도를 높이기 위한 기술지원 추진
- 다. (경쟁력 확보) 명확한 생산체계에 의한 고품질 토종 가금산물 생산으로 최근 사회·인구 구조 변화에 따른 안전성, 신뢰성 및 품질 추구 소비요구에 대응
 - 기존 참여기업 보급 토종닭 종계 및 실용계를 개발된 신품종으로 전량 대체 보급('21)하고 시장점유율 30% 지향
 - 소비시장 요구 변화에 대응하기 위한 장기적인 품종개발 노력이 요구됨에 따라 참여기업 여건에 따라 보유 순계 자원을 대상으로 산업보급에 활용 가능한 신규 계통을 분리 조성을 추진할 수 있도록 기술지원
 - 기관 보유 재래종 토종닭의 능력개량을 통해 유전능력이 우수한 닭 자원을 민간에 이양하여 지속 가능한 육종사업을 추진방안 마련
- 라. (실용성 강화) 신품종 생산체계 적용된 종계의 생산방법, 실시간 유전능력평가 시스템 및 자가 깃털 성감별 기술 활용에 의한 암수 감별 기술의 보급으로 신품종 토종닭의 상업적 가치 향상

2. 신품종 토종닭의 우수성에 의한 및 시장 활성화

- 가. (생산성 개선) 최적의 생산능력을 가진 2종의 신품종 실용 토종닭 교배조합 선정
 - 신품종 토종닭의 삼계용은 전·후기 성장능력, 균일도, 사료효율 우수 조합 선정
 - 신품종 토종닭 삼계의 850g 도달일령: (기존) 35일 → (개선) 31일
 - 신품종 토종닭 육용계는 후기 성장능력 및 생존율이 우수한 조합 선정
 - 토종닭 육용계의 1.9kg 도달일령: (기존) 70일 → (개선) 65일
- 나. (소비 촉진) 마케팅 요소로 활용 가능한 품질 차별화 요소 발굴
 - GSP 신품종 삼계 및 육용계의 육질특성 및 다층적 관능평가 기반으로 시장친화형 경쟁력을 갖춘 품종으로의 마케팅에 활용
 - 백세미, 일반육계 대비 신품종 토종닭의 도체성적, 육질특성, 영양/기능 특성 우수성 홍보를 통한 토종닭 소비 촉진 기대
- 다. (부가가치) 토종닭 신품종의 현장 실증, 제품화 및 브랜드 마케팅 실행 연구 결과 연계
 - 닭 종자 산업의 가치사슬에 의한 신품종 토종닭의 부가가치 창출 협업
 - 유전자원 개발 및 육종 → 생산체계 확립 → 가공, 유통 및 산업화 과정의 산업적 가치 연결

붙임. 참고문헌

1. 강보석, 정일정, 이상진, 김상호, 오봉국, 최광수. 1997. 한국재래닭과 Rhode Island Red의 교잡에 의한 주요 경제형질의 잡종강세효과 추정. 1. 한국재래닭과 Rhode Island Red 교잡종의 부화 및 육성능력. 한국가금학회지. 24(3) : 117-126.
2. 손시환, 장인석, 안영숙, 문양수. 2015. 닭의 고밀도사양 스트레스가 품종 간 체내대사 유전자 발현에 미치는 영향. 한국가금학회지 42(1):51-59
3. 오봉국, 여정수, 이정구, 이문연. 1980. 산란계종의 잡종강세이용에 관한 연구. 한국가금학회지. 7(2) : 28-36.
4. 오봉국, 한재용, 손시환, 박태진. 1986. 산란계종의 잡종강세 이용을 위한 유전학적 기초연구와 우량교배조합 선발에 관한 연구. 한국가금학회지. 13(1) : 1-14.
5. 이명지, 허강녕, 최희철, 홍의철, 김종대. 2014. 새로운 계통 조성을 위한 한국 토종닭 교배조합의 능력 검정. 한국가금학회지. 41(1) : 39-44.
6. 정일정, 정선부, 연성흙. 1985. 백색코니쉬와 백색플리머드록 계통 간 교배단계별 경제형질에 대한 잡종강세 발현을 추정. 한국가금학회지. 12(2) : 75-82.
7. 조은정, 박지애, 최은식, 손시환. 2016. 토종 종계를 이용한 이면 교배조합 계통 간 스트레스 반응정도 비교 분석. 한국가금학회지 43(2):77-88
8. 최철환, 김학규, 장병귀, 유충현. 2006. 한국재래닭과 육용순종간의 교배계의 능력에 관한 연구. 제 23차 한국가금학회 정기총회 및 학술발표회. p. 116-117.
9. 최철환. 2002. 한국재래닭 계통간 교배에 의한 주요형질의 잡종강세 및 결합능력 추정. 충남대학교 석사학위논문.
10. 추효준. 2014. 한국토종닭 순계집단의 유전모수 추정 및 토종닭 생산을 위한 교배조합 연구. 경상대학교 박사학위논문.
11. 홍의철, 추효준, 김학규, 김종대, 허강녕, 이명지, 손보람, 서옥석, 최희철, 강보석. 2012. 산란전용 토종 실용계를 생산하기 위한 2원교배 종계의 육성 능력 검정. 한국가금학회지. 39(3) : 177-182.
1. Adebambo AO, Ikeobi CON, Ozoje MO, Oduguwa OO, Adebambo OA 2011 Combining abilities of growth traits among pure and crossbreed meat type chickens. Arch Zootec 60(232):953-963.
2. Bacon LD, Smith E, Crittenden LB, Havenstein GB 1988 Association of the slow feathering (*K*) and an endogenous viral (*ev21*) gene on the Z chromosome of chickens. Poult Sci 67(2):191-197.
3. Bang MH, Cho EJ, Cho CY, Sohn SH 2018 Study on the characteristics of feather developing pattern and morphology in early- and late-feathering Korean native chickens. Kor J Poult Sci. 45(3):155-165
4. Cha JB, Hong EC, Kim SH, Kim CD, Heo KN, Choo HJ, Oh KS, Kang BS 2016 Economic performance test of commercial chickens (CC) crossbred with parent stock (PS) of Korean Native Chicken (KNC). Korean J Poult Sci 43(4):207-212.
5. Choi CH 2002 Estimation of heterosis and combining abilities for important traits from strain

- crosses in Korean native chicken. M. D. Dissertation. Chungnam National University.
6. Choi ES, Bang MH, Kim KG, Kwon JH, Chung OY, Sohn SH 2017a Production performances and heterosis effects of Korean native chicken breed combinations by diallel crossing test. *Korean J Poult Sci* 44(2):123-134.
 7. Choi ES, Bang MH, Kim KG, Kwon JH, Chung OY, Sohn SH 2017b Estimation of combining ability of production traits from diallel crosses of Korean native chicken strains. *Korean J Poult Sci* 44(3):189-198.
 8. Dunnington EA, Siegel PB 1986 Sex-linked feathering alleles (*K*, *k+*) in chickens of diverse genetic backgrounds. 1. Body temperatures and body weights. *Poult Sci* 65(2):209-214.
 9. Durmus I, Goger H, Demirtas SE, Yurtogullari S 2010 Comparison of rapid and slow feathering egg layers with respect to egg production and hatchability parameters. *Asian J Anim Vet Adv* 5(1): 66-71.
 10. Fotsa JC, Mérat P, Bordas A 2001 Effect of the slow (*K*) or rapid (*k+*) feathering gene on body and feather growth and fatness according to ambient temperature in a Leghorn x brown egg type cross. *Genet Sel Evol* 33(6):659-670.
 11. Goger H, Demirtas SE, Yurtogullari S 2017 Determination effects of slow (*K*) and fast (*k+*) feathering gene on egg production and hatching traits in laying hens. *Asian J Anim Vet Adv* 12(5):247-253.
 12. Goto E, Nordskog AW 1959 Heterosis in poultry: 4. Estimation of combining ability variance from diallel crosses of inbred lines in the fowl. *Poult Sci* 38(6):1381-1388.
 13. Griffing B 1956 Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crosses. *Aust J Biol Sci* 9(4):463-493.
 14. Harris DL, Garwood VA, Lowe PC, Hester PY, Crittenden LB, Fadly AM 1984 Influence of sex-linked feathering phenotypes of parents and progeny upon lymphoid leukosis virus infection status and egg production. *Poult Sci* 63(3): 401-413.
 15. Havenstein GB, Toelle VD, Towner RH, Emsley A 1989 Effects of genetic strain, slow versus rapid-feathering maternal genotype and cage density on the performance of Single Comb White Leghorns. *Poult Sci* 68(5): 596-607.
 16. Iraqi F, Smith EJ 1994 Determination of the zygosity of *ev21-K* in late-feathering male White Leghorns using the polymerase chain reaction. *Poult Sci* 73(7):939-946.
 17. Jin S, Jayasena DD, Jo C, Lee JH 2017 The breeding history and commercial development of the Korean native chicken *World Poult Sci* 73(1):163-174.
 18. Kang BS, Kim HK, Kim CD, Heo KN, Choo HJ, HwangBo J, Suh OS, Hong EC 2012 Performance of growing period of two-crossbreed parent stock Korean native chickens for producing of Korean native commercial chickens. *Korean J Poult Sci* 39(1):71-76.
 19. Khosravinia H 2008 Effect of the slow (*K*) or rapid (*k+*) feathering gene on growth performance and skeletal dimensions of broiler chickens selected for cut up carcass value. *Res J Poult Sci* 2(1):9-14.

20. Kim KG, Cho EJ, Choi ES, Kwon JH, Jung HC, Sohn SH 2019 Comparison of production performances between early- and late-feathering chickens in parent stocks of Korean native chicken. *Kor J Poult Sci* 46(4):279-286.
21. Ledvinka Z, Zita L, Hubeny M, Tumova E, Tyller M, Dobrovolny P, Hruska M 2011 Effect of genotype, age of hens and K/k allele on eggshell quality. *Czech J Anim Sci* 56(5):242-249.
22. Ledvinka Z, Zita L, Tyller M, Dobrovolny P, Klesalova L, Tyllerova H 2014 Effect of genotype, feather growth-rate gene and the age of hens on the egg quality. *Bulgarian J Agric Sci* 20(6):1466-1471.
23. Lee KH, Kim HJ, Lee HJ, Kang MG, Jo CR. 2012. A study on components related to flavor and taste in commercial broiler and Korean native chicken meat. *Korean Journal of Food Preservation* 19:385-392. [in Korean]
24. Lee MJ, Heo KN, Choi HC, Hong EC, Kim CD 2014 The performance test in crossbreds of Korean native chickens for the establishment of new lines. *Korean J Poult Sci* 41 (1):39-44.
25. Lee MJ, Kim SH, Heo KN, Kim HK, Choi HC, Hong EC, Choo HJ, Kim CD 2013 The study on productivity of commercial chickens for crossbred Korean native chickens. *Korean J Poult Sci* 40(40):291-297.
26. Lowe PC, Garwood VA 1981 Independent effects of K and k⁺ alleles and maternal origin on mortality and performance of crossbred chickens. *Poult Sci* 60(6):1123-1126.
27. Lowe PC, Merkley JW 1986 Association of genotypes for rate of feathering in broilers with production and carcass composition traits: Effect of genotypes, sex, and diet on growth and feed conversion. *Poult Sci* 65(10):1853-1858.
28. Manjula P, Park HB, Yoo JH, Wickramasuriya S, Seo DW, Choi NR, Kim CD, Kang BS, Oh KS, Sohn SH, Heo JM, Lee JH 2016 Comparative study on growth patterns of 25 commercial strains of Korean Native Chicken. *Korean J Poult Sci* 43(1):1-14.
29. Merkley JW, Lowe PC 1988 Association of rate-of-feathering genotypes in broilers with production and carcass composition traits.: 2. Effect of genotypes and diet on processing traits and lipid deposition. *Poult Sci* 67(6):914-919.
30. Mincheva N, Lalev M, Oblakova M, Hristakieva P, Ivanova I 2012 Effect of feathering alleles (K/k⁺) on laying performance, hatchability parameters and some body measurements in two lines of white plymouth rock hens. *Biotechnol Anim Husb* 28(3): 405-414.
31. Nahashon SN, Bartlett J, Smith EJ 2004 Effect of the late-feathering or early-feathering genotypes on performance and carcass traits of broiler chickens. *Live Prod Sci* 91(1): 83-94.
32. Ohh BK, Han JY, Sohn SH, Park TJ 1986 Estimation of genetic variations and selection of superior lines from diallel crosses in layer chicken. *Korean J Poult Sci* 13(1):1-14.
33. O'Sullivan NP, Dunnington EA, Siegel PB 1991 Growth and carcass characteristics of early- and late-feathering broilers reared under different feeding. *Poult Sci* 70(6):1323-1332.
34. 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.
35. Park YA 2015 The specific evaluation report of Golden Seed Project. KISTEP. Page 1-147.

36. Prabuddha M, Park HB, Yoo J, Wickramasuriya S, Seo DW, Choi NR, Kim CD, Kang BS, Oh KS, Sohn SH, Heo JM, Lee JH 2016 Comparative study on growth patterns of 25 commercial strains of Korean native chicken. *Kor J Poult Sci.* 43(1):1-14.
37. Razuki WM, Al-Shaheen SA 2011 Use of diallel cross to estimate crossbreeding effects in laying chickens. *Int J Poult Sci* 10(3):197-204.
38. Shin TK, Wickramasuriya SS, Kim E, Cho HM, Heo JM, Yi Y 2017 Comparative study of growth performances of six different Korean native chicken crossbreeds from hatch to twelve weeks of age. *Korean J Agri Sci* 44(2):244-253.
39. Shull GH 1948 "What is "Heterosis"?". *Genetics* 33(5):439-446.
40. Smith EJ, Fadly AM 1994 Male-mediated venereal transmission of endogenous avian leukosis virus. *Poult Sci* 73(4):488-494.
41. Sohn SH, Choi ES, Kim KG, Park B, Choo HJ, Heo JM, Oh KS 2021 Development of a new synthetic Korean native chicken breed using the diallel cross-mating test. *Korean J Poult Sci* 48(2):69-80.
42. Sohn SH, Kim NY, Park DB, Song HR, Cho EJ, Choi SB, Heo KN, Choi HC 2013 Influence of early- and late-feathering phenotype on productive performance in the feather-sexing strains of Korean Native Chicken. *Kor J Poult Sci* 40(3):263-270.
43. Sohn SH, Park DB, Song HR, Cho EJ, Kang BS, Suh OS 2012 Genotype frequencies of the sex-linked feathering and their phenotypes in domestic chicken breeds for the establishment of auto-sexing strains. *J Anim Sci Tech* 54(4):1-10.
44. Somes RG 1970 The influence of the rate of feathering allele K^n on various quantitative traits in chickens. *Poult Sci* 49(5):1251-1256.
45. Somes RG Jr, Jakowski RM 1974 A survey of possible associations between morphologic traits and resistance to Marek's disease. *Poult Sci* 53(5):1675-1680.
46. Wearden S, Craig JV, Tindell D 1967 Components of specific combining ability estimated from strain and breed cross in chickens. *Poult Sci* 46(6):1398-1406.

연구개발보고서 초록

프로젝트명	(국문) 신품종 토종 종계 개발 및 육종 체계 구축				
	(영문) Development of a new Korean Native Chicken breed and establishment of breeding system				
프로젝트 연구기관	국립축산과학원 가금연구소	프로젝트연구 책임자	(소속) 국립축산과학원 가금연구소		
참여기업	(주)한협원종 (주)인실리코젠		(성명) 추효준		
총연구개발비 (5,690,400천원)	계	5,690,400천원	총 연구 기간	2017. 1. 1. ~ 2021. 12. 31.(5년)	
	정부출연 연구개발비	4,720,000천원	총 연 구 원 수	총 인원	303
	기업부담금	970,400천원		내부인원	249
	연구기관부담금			외부인원	54

○ 연구개발 목표 및 성과

- 토종닭 순계집단 보존관리 및 계통별 최적 육종체계 적용을 위한 육종모델 설정 및 web DB 구축
- * 생산성이 개선된 신품종 삼계(800g) 및 육용(1.9kg) 토종닭 생산 교배조합 2종 선정
- 최적 교배조합 검증을 통한 신품종 토종닭 및 삼계 생산용 토종종계 개발
- * 신품종 삼계(800g) 및 육용(1.9kg) 토종닭 생산 교배조합 2종 선정
- * 자가 깃털 성감별 기술 적용에 의한 토종닭 암·수 분리 사육 확대
- 신품종 토종종계의 개체 및 집단식별을 위한 마커 개발과 검증체계 구축
- * 신품종 토종닭 품종 식별이 가능한 최적, 최소 SNP마커 및 초위성체 마커 kit 개발
- 상표출원 9건, 특허출원 7건, 특허등록 4건, 기술이전 3건, 영농활용 5건, 논문 37건 게재

○ 연구내용 및 결과

- 토종닭 보유 순계 계통의 혈통확립 및 능력검정을 통한 육종기반 구축
- * 신품종 토종닭 생산 이용 부계 2계통의 체중 유전능력 개량 → 부화세대당 개량량 31.01~31.46g
- 표현형·혈통정보 기반 최적 선발·교배조합 모형 설정 및 육종 체계 구축
- * 생물정보 DB와 연동된 최적 선발·교배프로그램 제작 및 현장 활용 Web기반 DB 서비스 개발
- 토종닭 생산용 신품종 토종종계 개발 최적 교배조합체계 확립
- * 10주령 기준 기존 보급 토종닭 대비 체중 9.7% 증가 및 사료효율 13% 개선
- 신품종 토종 실용계 깃털 이용 성감별 계통 조성에 의한 토종닭의 암수 분리사육 확대
- 분자표지를 이용한 신품종 토종종계의 개체 및 집단 식별 마커 개발
- * SNP 및 MS마커 조합을 이용한 신품종 토종 종자 인증 Kit 제작

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 참여기업 보유 우량 소재계를 활용한 지속적인 신품종 개발 연구 및 육종사업 추진 기술지원
- 향후 축적되는 육종정보 수집 결과를 반영한 유전능력평가 모형의 개선 및 능력 개량 추진
- 명확한 생산체계에 의한 고품질 토종 가금산물 생산으로 최근 사회·인구 구조 변화에 따른 안전성, 신뢰성 및 품질 추구 소비요구에 대응 → 개발 신품종으로 대체 보급(21) 시장점유율 30%지향
- 신품종 생산체계 적용된 종계의 생산방법, 실시간 유전능력평가 시스템 및 자가 깃털 성감별 기술 활용에 의한 암수 감별 기술의 보급으로 신품종 토종닭의 상업적 가치 향상

자체평가보고서

사업단명	GSP중축사업단			과제번호	213010055CG200
프로젝트명	신품종 토종 종계 개발 및 육종 체계 구축				
프로젝트연구기관	국립축산과학원 가금연구소				
연구담당자	프로젝트 연구책임자	추효준			
	세부프로젝트 연구책임자	기관(부서)	국립축산과학원 (가금연구소)	성 명	추효준
		기관(부서)	(주)인실리코젠 (데이터사이언스센터)	성 명	김형용
		기관(부서)	경상국립대학교 (동물생명과학과)	성 명	손시환
		기관(부서)	충남대학교 (동물자원생명과학과)	성 명	허정민
		기관(부서)	충남대학교 (동물자원생명과학과)	성 명	이준헌
연구기간	총 기 간	2017.0 1. 1. ~ 2021. 12. 31.	당해 연도 기간	2021. 1. 1. ~ 2021. 12. 31	
연구비(천원)	총 규 모	5,690,400	당해 연도 규모	1,137,000	

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

- 당초계획 이상으로 진행
 계획대로 진행
 계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

- 예상외 성과 얻음
 어느 정도 얻음
 얻지 못함

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출액	중자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 및 리포트 보고서	인력 양성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록					
최종목표	1	2	7	7	7	24						3		11
연구기간 내 달성실적	9	7	7	4	13	24						3		18
달성율(%)	900	350	100	57	185	100						100		163

3. 연구개발 성과 세부 내용

3-1 기술적 성과

- 민간보유 토종닭 순계 10계통 계통 정립 및 산업화 계통 관리
 - 명확한 혈통관리를 통한 계통 확립 근거를 추진하고 신품종개발에 활용
 - 산업화 전략계통(5계통)을 중심으로 중점육종관리를 추진하고 사업 효율성 제고
 - 혈통, 능력검정 자료로 유전능력평가 적용에 의한 매 세대 선발·교배를 추진
 - 육종자료 관리 및 실시간 유전능력평가 적용으로 순계 개량 지속성 확보

3-2 과학적 성과

- 유전정보(SNP) 기반 집단식별 검증체계 확립으로 개발품종의 신뢰성 확보
 - 최적 61개, 최소 36개 SNP마커조합을 이용한 신품종 토종 종자 인증 Kit 제작
 - 기계학습 모델(8종)을 적용한 품종식별 정확도 평가 결과 99.9%
 - 기존 토종닭과 시중에 유통되고 있는 육계와의 품종 구분이 가능하며 개발 토종닭의 특이적 유전자형 구성이 반영된 것으로 향후 데이터 축적으로 개선된 결과 도출 가능

3-3 경제적 성과

- 신품종 토종닭의 삼계용은 전·후기 성장능력, 균일도, 사료효율 우수 조합 선정
 - 신품종 토종닭 삼계의 850g 도달일령: (기존) 35일 → (개선) 31일
- 신품종 토종닭 육용계는 후기 성장능력 및 생존율이 우수한 조합 선정
 - 토종닭 육용계의 1.9kg 도달일령: (기존) 70일 → (개선) 65일
- 마케팅 요소로 활용 가능한 품질 차별화 요소 발굴
 - GSP 신품종 삼계 및 육용계의 육질특성 및 다층적 관능평가 기반으로 시장친화형 경쟁력을 갖춘 품종으로의 마케팅에 활용
 - 백세미, 일반육계 대비 신품종 토종닭의 도체성적, 육질특성, 영양/기능 특성 우수성 홍보를 통한 토종닭 소비 촉진 기대

3-4 사회적 성과

- 국산 토종닭 종계 개발로 국산종자의 권리 및 종자 교섭력 확보
- 명확한 생산체계에 의한 고품질 토종 가금산물 생산으로 최근 사회·인구 구조 변화에 따른 안전성, 신뢰성 및 품질 추구 소비요구에 대응

3-5 인프라 성과

- 국내 토종닭 유전자원의(순계) 확보 및 육종관리기반 구축
- 민간보유 토종닭의 통합육종관리를 위한 시스템 개발을 통해 개체, 혈통, 형질, 유전자형 정보의 데이터베이스화
 - 데이터 관리 및 실시간 유전능력평가(rrBLUP) 기능 구현을 통한 정보 활용성 강화

4. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음 현재로서 불투명함 그렇지 않음

5. 경제적인 측면에서 종자산업의 수출증대와 수입대체에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음 현재로서 불투명함 그렇지 않음

6. 얻어진 성과와 발표상황

6-1 경제적 효과

- 기술료 등 수익 수 익 : 무상기술이전
- 기업 등에의 기술이전 기업명 : (주)한협원종
- 기술지도 등 기업명 : (주)한협원종

6-2 산업·지식재산권 등

- 국내출원/등록 출원 7건, 등록 4건
- 해외출원/등록 출원 건, 등록 건

6-3 논문게재·발표 등

- 국내 학술지 게재 24 건
- 해외 학술지 게재 13 건
- 국내 학·협회 발표 건
- 국내 세미나 발표 건
- 기 타 건

6-4 인력양성효과

- 석 사 명
- 박 사 명
- 기 타 명

6-5 수상 등

- 있다 상 명칭 및 일시 :
- 없다

6-6 매스컴 등의 PR

- 있다 127 건
- 없다

7. 연구개발 착수 이후 국내 다른 기관에서 유사한 기술이 개발되거나 또는 기술 도입함으로 연구의 필요성을 감소시킨 경우가 있습니까?

- 없다 약간 감소되었다 크게 감소되었다

○ 감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오.

8. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다 약간 조정필요 전반적인 조정필요

9. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

(※ 아래사항은 기업참여시 기업대표가 기록하십시오)

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족 보통 미흡

(근거 : 육종사업의 기반을 구축하고 이의 결과로 신품종 토종닭의 보급을 추진할 수 있게 되었음)
)

2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견

가. 연구 성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

나. 연구 성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?

가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?

- 충분 보통 불충분

나. 향후 계속 참여 의사는? (※중간·단계평가에 한함)

- 충분 고려 중 중단

다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는? (※중간·단계평가에 한함)

- 확대 동일 축소

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

- 즉시 기업화 가능 수년 내 기업화 가능 기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
프로젝트 책임자	국립축산과학원 가금연구소	농업연구사	추 효 준 (인)

연구성과 활용계획서 (2017~2021)

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	종축(종계)	
프로젝트명	신품종 토종 종계 개발 및 육종 체계 구축			
프로젝트 연구기관	국립축산과학원 가금연구소	프로젝트연구책임자	추효준	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	4,720,000천원	970,400천원		5,690,400천원
연구개발기간	2017. 1. 1. ~ 2021. 12. 31.(5년)			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 토종닭 순계집단 보존관리 및 계통별 육종체계 개발과 적용	<ul style="list-style-type: none"> - 토종닭 순계 10계통에 대한 국제사회 정보제공 (DAD-IS, FAO) 및 순계 혈통정보 구축에 따른 명확한 계통 정립 - 신품종 토종닭 교배체계 이용 부계 2계통의 체중 능력 개량(부화세대당 육종가 개량량 30.01g ~30.46g)
② 토종종계 최적 선발·교배 체계 육종 모델 설정	<ul style="list-style-type: none"> - 표현형, 혈통정보 기반 육종모형 설정 구축
③ 개체, 혈통, 형질, 유전형 자료 수집 DB화	<ul style="list-style-type: none"> - 수집 DB와 일반 자료 등록 가능한 웹 DB 구축
④ DB와 연동 활용 가능한 선발/교배 프로그램 제작	<ul style="list-style-type: none"> - 수집 DB와 연계한 실시간 유전능력평가 프로그램, 유전자기반 품종 구분 프로그램 구축, 현장 활용을 위한 모바일 웹앱 구현
⑤ 신품종 토종닭 생산용 최적 교배조합 검증을 통한 토종 종계 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 1.9kg 도달 일령 개선: (목표) 65일 → (개선) 61일 - 자가 깃털 성감별 기술이 적용된 신품종 토종닭 교배체계 확립
⑥ 신품종 토종삼계 생산용 최적 교배조합 검증을 통한 토종 종계 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 800g 도달 일령 개선: (목표) 35일 → (개선) 31일
⑦ 신품종 토종종계의 집단식별을 위한 SNP 마커 개발과 GSP 토종닭 검증체계 구축	<ul style="list-style-type: none"> - 최적의 61개 SNP 마커 조합으로 구성된 Kit 및 검증 시스템 구축 완료
⑧ 신품종 토종종계의 개체식별을 위한 MS 마커 개발과 GSP 토종닭 검증체계 구축	<ul style="list-style-type: none"> - 최적의 12개 MS 마커 조합으로 구성된 Kit 및 검증 시스템 구축 완료

3. 연구비 집행실적 (2017~2021)

구분	금액		계획금액	사용액	잔액	비고
	세부프로젝트명					
중계1	중계 1-1(토종닭 순계 집단 보본관리 및 육종)					
	중계 1-2(신품종 토종닭 육종모형 개발 및 통합관리체계 구축)					
	중계 1-3(신품종 토종닭 생산을 위한 교배조합 능력검정 시험 및 생산체계 확립)					
	중계 1-4(토종 삼계 종자 개발을 위한 교배조합 및 생산체계 확립)					
	중계 1-5(토종닭 개체 및 집단식별 분자표지 개발과 검증 체계 구축)					
총계						

4. 연구목표 대비 성과

구분	품종개발		특허		논문		분자마커	유전자원		국내 매출액	중자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표	1	2	7	7	7	24						3		11
최종실적	9		7	4	13	24						3		18
달성율(%)	900		100	57	186	100						100		164
1차년도	목표		1		1	5								1
	실적				5	6						1		4
	달성률				500	120								400
2차년도	목표		2	1	2	5								4
	실적		2		4	4								4
	달성률		100		200	80								100
3차년도	목표		1	2	1	4								2
	실적		1	2		5								4
	달성률		100	100		125								200
4차년도	목표	1	1	3	1	1	5					1		3
	실적	9		2	1	3	4							6
	달성률	900		66	100	300	80							200
5차년도	목표		1		3	2	5					2		1
	실적			2	1	1	5					2		
	달성률			33	50	100						100		

5. 핵심기술

구분	핵심기술 명
①	토종닭 순계를 이용한 종계의 생산방법
②	토종종계 최적 선발·교배 체계 구축을 위한 육종모형 개발
③	실시간 농축산물 육종가 및 유전모수 평가 시스템
④	유전자형 기반 품종 구분 프로그램
⑤	닭 깃털의 조만성을 식별하기 위한 프라이머, 프로브 및 이를 이용한 닭 깃털의 조만성 식별 방법
⑥	토종닭의 유전적 배경 또는 품종을 판별하기 위한 SNP마커 세트 및 이의 용도
⑦	재래닭 개체 식별용 초위성체 마커 및 이를 이용한 재래닭의 개체 식별 방법

6. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개발	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장으로 해결	정책 자료	기타
①의 기술				v		v	v	v		
②의 기술				v				v		
③의 기술				v		v	v		v	
④의 기술				v		v				
⑤의 기술				v			v	v		
⑥의 기술	v					v				
⑦의 기술		v				v	v			

7. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술 명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	○ 토종닭 순계자원을 이용한 신품종 토종닭 생산방법의 기술이전으로 기술실시 기업의 종자개발 및 생산 역량 강화
②의 기술	○ 기술실시 기업에서 직접 활용으로 순계의 능력 개량에 활용
③의 기술	○ 기술실시 기업에 프로그램 실행 이미지(virtualbox)를 제공하고 선발 및 교배에 활용할 수 있도록 지원
④의 기술	○ GSP 한협 토종닭의 품종 확인 필요시 충남대학교 유전자검사 결과와 함께 품종 확인 분석에 활용할 수 있으며 타 품종의 유전자 기반 식별에 활용할 수 있음
⑤의 기술	○ 신품종 자가성감별 토종 종계 개발로 토종닭의 암수 감별 사유 확대

⑥의 기술	○ 개체 및 집단식별이 가능한 마커 조합을 이용한 특허 확보로 종계산업의 선발 및 계통 조성 확립에 활용 ○ 신품종 토종종계의 검증 및 인증 시스템을 확립하여 소비자의 신뢰성 향상과 이를 이용한 수출 증대와 수입대체 효과 확보
⑦의 기술	○ 개체 및 집단식별이 가능한 마커 조합을 이용한 특허 확보로 종계산업의 선발 및 계통 조성 확립에 활용 ○ 신품종 토종종계의 검증 및 인증 시스템을 확립하여 소비자의 신뢰성 향상과 이를 이용한 수출 증대와 수입대체 효과 확보

8. 연구종료 후 성과창출 계획

구분	상표		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출액	종자 수출액	기술 이전	마케팅 전략 보고서	인력 양성
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록					
최종목표	1	2	7	7	7	24						3		11
연구기간 내 달성실적	9		7	4	13	24						3		18
연구종료 후 성과창 출 계획		2		3										

9. 연구결과의 기술이전 조건

핵심기술 명	토종닭 순계를 이용한 종계의 생산방법		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	1개월	실용화예상시기	2022. 3.
기술이전 시 선행조건	신품종 토종닭 생산체계 활용 토종닭 순계의 육종관리		

핵심기술 명	실시간 농축산물 육종가 및 유전모수 평가 시스템		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	1개월	실용화예상시기	2021. 12
기술이전 시 선행조건	- 실시 기업 보유 토종닭 순계의 혈통 및 능력검정 정보 수집 - 시스템 운영용 장비 도입		

핵심기술 명	닭 깃털의 조만성을 식별하기 위한 프라이머, 프로브 및 이를 이용한 닭 깃털의 조만성 식별 방법		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input checked="" type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	즉시	실용화예상시기	2022. 3.
기술이전 시 선행조건	- 조성된 만우성 원종계 계통의 유지 및 생산체계 활용		

핵심기술 명	초위성체 유전자를 이용한 의한 계육의 원산지 추적 및 개체식별 방법		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	880천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input checked="" type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	즉시	실용화예상시기	2018. 10.
기술이전 시 선행조건			

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부, 농촌진흥청에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 연구개발사업 신품종 토종 종계 개발 및 육종체계 구축 과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부, 농촌진흥청(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 연구개발사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.