

Research Article

A study on conservation value evaluation of native black goat using Microsatellite (MS) marker information

Ho Chan Kang¹, Eun Ho Kim¹, Cheol Hyun Myung¹, Ji Yeong Kim¹, Sang Hyun Song², Dae Yong Yang³, Chang Wan Sun³, Hyun Tae Lim^{1,4,*}

¹Department of animal science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

²College of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang national University, Jinju 52828, Korea

³Korea Institute for Animal Product Quality Evaluation, Sejong 30100, Korea

⁴Institutue of Agriculture and Life Science, Gyongsang National University, Jinju 52828, Korea

*Corresponding author: Tel: 82)055-772-1945, E-mail: s_htim@gnu.ac.kr

Abstract

This research was conducted to present the possibility of utilization as basic data and future genetic resources for planning for breeding and breeding direction planning for the preservation of the Gyeongsang National University (GNU) line through genetic diversity, genetic structure and character analysis of GNU line black goats, by using Microsatellite (MS) marker. A total of 247 Korean native black goats of four lines were used (Dang-jin; DJ : 68, Jang-su; JS : 80, Tong-yeong; TY : 71, GNU : 30), and a basic statistical analysis confirmed values suitable for the study. In addition, as a result of F_{IS} analysis, it is thought that line differentiation is occurring in the case of the GNU line because it is farther away from 0 (-0.110), which is the standard of Hardy-Weinberg equilibrium, in a negative direction than other goat lines. Also, through Factor Correspondence Anlysis (FCA) and STRUCTURE analysis, it has been determined that the GNU line displays a different genetic structure compared to other native black goat lines, indicating that there has been no genetic exchange or admixture. Therefore, in this study, it is judged that the GNU line is valuable as a future genetic resource and can be used as basic data for maintenance and conservation through planned breeding considering inbreeding rate.

Key words: Genetic diversity, Genetic Structure, Microsatellite marker, Korean native black goat

Introduction

염소(*Capra hircus*)는 세계적으로 분포하고 있는 가축화된 품종으로, 개발도상국에서는 경제적으로 중요한 역할을 한다(Adriana et al., 2010). 환경에 대한 적응성, 거친 사료의 대한 기호성, 질병 저항성이 우수하기 때문에 척박한 환경에서의 생존율이 높다(Serrano et al., 2009). 또한, 염소는 가축화된 반추동물 중 소형종에 속하며, 긴 세대에 걸쳐 가축화 되어왔고 다양한 목적으로 사육되고 있다(Khan, 2008). 전신 흑색 또는 흑갈색의 특징을 보이는 재래흑염소는 소비자의 선호도 변화에 의해 약용에서 식용으로 소비의 전환이 이루어지고 있어 염소육의 소비량은 증가하고있다(Kim et al., 2010; Suh et al., 2012; Lee et al., 2019). 농림축산검역본부는 2022년 염소육의 수입량은 3,432,939.5kg, 국내 도축 염소육은 1,855,710kg, 총 5,288,649.5kg으로 조사하였다. 2019년 기준 대비 약 47% 증가하였다. 영양학적으로 흑염소육 지방함량은 3.7%로 우육(우둔 4.5%, 등심 11.3%), 돈육(뒷다리 19.9%, 등심 16.5%)에 비해 저지방 육류이며, 콜레스테롤 수치는 약 36 mg/100g으로 우육(약 67 mg/100g), 돈육(55mg/100g)보다 낮고 미네랄 함량은 양, 소, 돼지, 닭보다 높은 수준이었다(Barbara. 1990; Kim et al., 2005). 이는 흑염소육이 주요 축종의 대체제로 활용가능성을 보여준다. 농림축산식품부 농업경영체 등록정보 조회 서비스(AGRIX, <http://uni.agrix.go.kr/>)에 따르면, 국내 염소 사육 규모는 2016년 398,487두에서 2022년 529,957두로 사육 규모는

점차 증가하고 있는 추세이지만, 1990년대부터 육용종 염소들이 농가에 도입되고 육량의 증가를 위한 육종 방향 설정으로 무분별한 교배가 지속되어 고유의 능력을 지닌 재래흑염소 혈통의 개체들이 급감하였으며, 고유의 특성을 잃는 위기를 직면하였다(Chung, 2002; Lee et al., 2019). 생물학적 시스템의 근본적인 특징인 변이는 종, 품종 또는 유전자 손실과 같은 많은 요인들로 인해 현저하게 감소된다. 따라서 유전적 자원 보존은 점점 더 중요한 문제로써 제기되고 있다 (Tefiel et al., 2018).

Microsatellite (MS) marker는 높은 수준의 다형성, 전반적인 계통에 걸쳐 무작위적인 분포 및 중립적인 선발을 지닌 유전적 다양성 분석을 위한 중요하고 효과적인 방법이며(Ligda et al., 2009), 다른 유전적 marker 보다 높은 다형성 덕분에 식별력이 충분한 marker 이다(Groenen et al., 1998).

따라서, 본 연구는 MS marker를 활용하여, 경상국립대학교 계통 재래흑염소의 유전적 다양성, 유전적 구조 및 특성 분석을 통해 경상국립대학교 계통의 보존을 위한 계획 교배와 육종 방향 계획수립의 기초 자료 및 미래 유전자원으로써 활용 가능성을 제시하고자 수행되었다.

Materials and method

공시 동물

경상국립대학교 부속동물농장에서 사육되어진 재래흑염소 당진 계통 66두, 장수 계통 80두, 통영 계통 71두와 경상국립대학교 계통 30두의 혈액을 제공받았으며, genomic DNA (gDNA)는 Sucrose-Proteinase K법을 활용하여 추출하였다(Birren et al., 1997).

MS marker 선발 및 Multiplex PCR

본 연구에 사용된 MS marker는 Lee 등(2020)이 고안한 11개의 marker set을 활용하였다. 11개의 marker set의 정보를 확보하기 위해 multiplex PCR을 touchdown 방식으로 수행하였으며, template DNA 100 ng/μl을 2 μl, 11개의 MS marker가 포함된 primer mixture 8.25 μl, 10 × buffer 3 μl, dNTP 10 mM을 2.5 μl, HotStart Taq 1.25 Unit (Genetbio, Korea)에 증류수 8 μl, 최종 부피 25 μl로 조성하였다. Multiplex PCR은 95 °C에서 15분간 Denaturation을 실시하였으며, Annealing 과정은 94 °C에서 60초, 60 °C에서 75초, 72 °C에서 60초를 10회 반복, 94 °C에서 60초, 59 °C에서 75초, 72 °C에서 60초를 10회 반복하였다. 마지막으로 94 °C에서 60초, 58 °C에서 75초, 72 °C에서 60초를 25회 반복하고, 65 °C에서 30분간 Elongation 과정을 거쳐 8 °C에서 PCR 반응을 종료하였다. PCR 산물은 ABI-3730xl 자동염기서열 분석장치(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 전기영동을 수행하였으며, Genemapper version 5 (Applied Biosystems, USA) 프로그램을 통해 크기와 표식자의 종류별로 분류하여, Microsoft Excel (Microsoft, USA)로 취합하였다.

통계 및 재래흑염소 경상국립대학교 계통의 특성 분석

Microsoft Excel에 취합한 자료를 활용하여, 본 연구에 사용된 marker들의 allele frequency 및 분포, 관측 heterozygosity (H_{Obs}), 기대 heterozygosity (H_{Exp})와 Polymorphism Information Content (PIC) 등의 다형성지수를 포함한 기초 분석은 CERVUS Ver. 3.0.7 (Marshall et al., 1998) 프로그램으로 수행하였다. 또한 대립 유전자의 분포 분석의 수행하기 위한 입력 자료 형태의 변환은 Microsatellite Analyzer (MSA) Ver. 4.05 (Diergänger and Schlotterer, 2003) 프로그램을 활용하였다. 또한, 개체와 집단간의 유전적 고정 정도를 파악하기 위해, Weir와 Hill (2002)가 제시한 F -statistic (F_{IS})의 추정값은 FSTAT Ver. 2.9.4 (Goudet, 2001)에서 가공된 정보를 GENEPOP Ver. 4.7.3 (Raymond and Rousset, 1995) 프로그램을 이용하여 추정하였다. F -statistic 추정값의 유의성 검정은 Goudet (2001)의 방법으로 permutation test가 수행되었으며, 계산된 확률값(P)은 type I error를 줄이기 위하여 Bonferroni 보정을 적용하였다. 경상국립대학교 계통과 재래흑염소 타 계통간의 유연관계 분석을 위해 각 marker별 대립유전자 빈도를 이용한 요인대응분석(Factorial correspondence Analysis; FCA)은 Genetix version 4.05 (Belkhir et al., 2004) 프로그램을 활용하였다. 집단 구조의 분석은 STRUCTURE Ver. 2.3.4 (Pritchard et al., 2000; Falush et al., 2003, 2007; Hubisz et al., 2009)를 활용하여, Bayesian 접근법의 군집 기술로 분석하였다. 구

조 분석은 군집 수 (Cluster number; $K = 2 \sim 10$), burn-in 20,000회, Markov chain Monte Carlo (MCMC) 100,000회를 수행하였으며, 각 K 는 20회 반복하였고 independent allele frequencies와 admixture model을 사용하였다. Evanno의 방법(Evanno et al., 2005)은 자료의 로그 확률 변화율을 기반으로 ΔK 를 사용해 최적의 K 를 확인하기 위해 사용되며, 최적의 K 는 STRUCTURE HARVESTER (Earl and Vonholdt, 2012)를 활용하여 설정하였다.

Results and discussion

MS marker set을 활용한 기초통계 분석

11개 MS marker set을 이용하여 분석한 재래흑염소 4계통에 대한 H_{Obs} , H_{Exp} 와 PIC , F_{IS} 등의 평균 기초 통계량을 Table 1에 제시하였다. 또한, 재래흑염소 4 계통의 기초통계결과는 Table 2에 제시하였으며, 각 계통의 marker별 기초통계결과는 각 Table 3, 4, 5, 6에 제시하였다. 경상국립대학교 계통의 평균 기초 통계량은 대립유전자의 분포, H_{Obs} , H_{Exp} , PIC 와 F_{IS} 값이 각 2.64, 0.482, 0.435, 0.354, -0.110으로 타 계통에 비해 상대적으로 낮은 것으로 확인되었다. 이는 Frankham (1996)가 보고한 내용에 따르면 집단 크기의 감소가 유전적 변이(유전적 다양성, heterozygosity, 대립유전자 수, 다형성 비율 등)를 감소시킨다고 하였고, 따라서, 실험에 사용된 개체 수가 장수 80두, 당진 66두, 통영 71두에 비해 경상국립대학교 계통은 30두로 개체수의 차이로 인한 결과로 사료된다. Botstein 등(1980)이 발표한 내용에 따르면, $H_{Exp} > 0.6$, $PIC > 0.5$ 이상인 marker는 높은 다형성을 가지기 때문에 활용하기에 효율적인 marker로 분류되고, $0.5 > PIC > 0.25$ 범주의 marker는 연구에 활용하기 적합한 marker로 분류된다. 그리고 Takezaki와 Nei (1996)은 $0.8 > H_{Exp} > 0.3$ 인 marker를 활용할 경우 유전적 다양성을 분석하기에 적합하다고 보고하였으며, 관측 및 기대 heterozygosity의 수치가 1에 가까울 경우 높은 다양성을 가진다. 따라서, 경상국립대학교 계통의 marker 별 H_{Exp} 값이 0.670 (INRA011) ~ 0.297 (BM302), PIC 값은 0.616 (INRA011) ~ 0.272 (BM302)로 확인되었으며, 이러한 수치는 연구에 활용하기 적합한 수치로 판단된다. 그러나, 경상국립대학교 계통에서 P19DYA marker의 대립유전자가 단일 유전자형으로 확인되는데, 이는 유전적 부동으로 인한 marker의 분포와 빈도가 고정된 것으로 간주할 수 있지만, 향후 계획 교배로 인한 개체수의 증가 후 추가적인 실험을 진행하여, 정확한 대립유전자의 분포와 빈도를 확인할 필요가 있을 것이라 생각된다. Hedrick (2000)이 보고한 내용에 따르면, F_{IS} 값이 음의 값일 때 이형접합체의 과잉 분포가 진행되고 있다고 하였으며, 경상국립대학교 계통(-0.110)의 경우 다른 재래흑염소 계통보다 Hardy-Weinberg 평형의 기준이 되는 0에서 음의 방향으로 떨어져 있어 개체간 유전적 다양성이 유지되고 있다고 생각된다.

Table 1. Total basic statistics for a Korean native black goat using 11 MS marker

Marker	No. of Animal	No. of Allele	H_{Obs}	H_{Exp}	PIC	F_{IS}
BM4621	242	6	0.698	0.724	0.693	0.003
BM1329	246	6	0.565	0.618	0.560	-0.022
INRA011	245	10	0.784	0.816	0.789	-0.063
BM2830	244	5	0.582	0.648	0.600	0.032
BM6526	247	6	0.692	0.718	0.678	-0.038
SRCRSP8	245	9	0.641	0.802	0.774	0.019
MAF065	246	6	0.573	0.655	0.599	0.064
SRCRSP5	245	7	0.522	0.612	0.575	0.047
CSRD247	243	6	0.687	0.681	0.630	-0.076
BM302	246	6	0.524	0.546	0.462	-0.085
P19DYA	243	8	0.477	0.507	0.473	-0.048
Mean	247	6.818	0.613	0.666	0.621	-0.015

Table 2. Average basic statistics for a Korean native black goat

line	No. of Animal	No. of Allele	H_{Obs}	H_{Exp}	PIC	F_{IS}
^w GNU	30	2.64	0.482	0.435	0.354	-0.110
^j JS	80	5.64	0.632	0.621	0.566	-0.016
^d DJ	66	4.82	0.618	0.619	0.554	0.026
^t TY	71	5.00	0.646	0.601	0.550	-0.029

^wGNU : Gyeongsang National University line^jJS : Jang-su line^dDJ : Dang-jin line^tTY : Tong-yeong line**Table 3.** Basic statistics for a Korean native black goat Gyeongsang National University line

Marker	No. of Animal	No. of Allele	H_{Obs}	H_{Exp}	PIC	F_{IS}
BM4621	30	3	0.600	0.533	0.440	-0.127
BM1329	30	2	0.500	0.508	0.375	0.016
INRA011	30	5	0.800	0.670	0.616	-0.198
BM2830	30	2	0.367	0.508	0.375	0.282
BM6526	30	3	0.533	0.472	0.419	-0.132
SRCRSP8	30	2	0.667	0.472	0.357	-0.422
MAF065	30	2	0.367	0.345	0.282	-0.063
SRCRSP5	30	3	0.500	0.474	0.372	-0.056
CSR247	30	3	0.633	0.501	0.387	-0.270
BM302	30	3	0.333	0.297	0.272	-0.126
P19DYA	30	1	-	-	-	-
Mean	30	2.64	0.482	0.435	0.354	-0.110

Table 4. Basic statistics for a Korean native black goat Jang-su line

Marker	No. of Animal	No. of Allele	H_{Obs}	H_{Exp}	PIC	F_{IS}
BM4621	79	6	0.684	0.682	0.639	0.022
BM1329	80	5	0.613	0.680	0.617	0.100
INRA011	80	7	0.775	0.734	0.680	-0.057
BM2830	80	3	0.513	0.468	0.406	-0.095
BM6526	80	5	0.763	0.710	0.663	-0.075
SRCRSP8	80	7	0.650	0.697	0.647	0.068
MAF065	80	5	0.575	0.611	0.550	0.059
SRCRSP5	80	6	0.600	0.584	0.532	-0.027
CSR247	79	6	0.810	0.756	0.710	-0.051
BM302	80	5	0.488	0.482	0.387	-0.011
P19DYA	80	7	0.475	0.427	0.399	-0.114
Mean	80	5.64	0.632	0.621	0.566	-0.016

Table 5. Basic statistics for a Korean native black goat Dang-jin line

Marker	No. of Animal	No. of Allele	H_{Obs}	H_{Exp}	PIC	F_{IS}
BM4621	64	4	0.781	0.739	0.683	-0.005
BM1329	66	4	0.348	0.319	0.298	-0.093
INRA011	65	8	0.831	0.790	0.751	-0.028
BM2830	65	4	0.631	0.688	0.62	0.111
BM6526	66	5	0.591	0.631	0.554	0.064
SRCRSP8	65	5	0.369	0.496	0.410	0.290
MAF065	65	4	0.569	0.631	0.556	0.128
SRCRSP5	65	4	0.615	0.716	0.655	0.165
CSR247	65	6	0.677	0.609	0.524	-0.075
BM302	66	5	0.652	0.535	0.466	-0.219
P19DYA	64	4	0.734	0.655	0.576	-0.056
Mean	66	4.82	0.618	0.619	0.554	0.026

Table 6. Basic statistics for a Korean native black goat Tong-yeong line

Marker	No. of Animal	No. of Allele	H_{Obs}	H_{Exp}	PIC	F_{IS}
BM4621	69	6	0.681	0.665	0.620	0.031
BM1329	70	4	0.743	0.627	0.568	-0.150
INRA011	70	7	0.743	0.685	0.627	-0.056
BM2830	69	5	0.710	0.657	0.593	-0.022
BM6526	71	5	0.775	0.734	0.685	-0.055
SRCRSP8	70	6	0.871	0.787	0.747	-0.084
MAF065	71	4	0.662	0.688	0.626	0.038
SRCRSP5	70	6	0.357	0.339	0.321	0.015
CSR247	69	5	0.580	0.513	0.453	-0.045
BM302	70	4	0.529	0.495	0.439	-0.024
P19DYA	69	3	0.449	0.418	0.371	0.029
Mean	71	5.00	0.646	0.601	0.550	-0.029

재래흑염소 경상국립대학교 계통 특성 분석

11개의 MS marker의 유전자형을 활용한 개체 별 FCA 분석 결과를 Fig. 1에 제시하였으며, 제1분산치는 13.94%, 제2분산치 7.44%, 제3분산치는 4.90%로 총 26.28%로 확인되었다. 또한, 재래흑염소 4개 계통은 각 계통 별로 군집화 되는 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 당진, 통영 계통의 특정 개체가 독립적인 위치로 확인되는 것은 11개의 MS marker를 활용하여 데이터의 변환을 수행하기 때문에 개체가 가지는 allele 값이 계통의 보편적 allele 값과 차이로 인한 것으로 판단된다. 요인 별 분산치를 통해 경상국립대학교 계통은 지리적으로 인접한 계통인 통영과 장수 계통과 밀접한 것으로 확인할 수 있었으며, 이러한 현상은 과거 개체의 이주 및 인공수정 등의 유전자 흐름을 통해 유전적으로 인접한 것으로 판단된다. Bayesian 접근법을 활용한 haplotype 분포의 유전적 추론과 다양한 군집 수를 포함하는 개체군의 구조를 위한 구조 분석 결과는 Fig. 2에 제시하였으며, 최적 군집 수(K)의 설정은 Table 7에 제시하였다. 구조 분석은 집단의 정보를 사전에 사용하지 않고, $K = 2 \sim 6$ 의 값을 고정하여, 자료의 로그 우도(Ln likelihood) 값을 비교하기 위해 사용되었다. Evanno의 방법(2005)에 따른 구조 분석 결과, 최적의 군집 수는 ΔK 의 수치상 4개가 최적인 것으로 확인되었으며($K = 4$), 각 계통의 유전적 구조가 다른 것을 확인할 수 있었다. $K = 2$ 와 $K = 3$ 에서 각 장수, 통영, 경상국립대학교 계통, 통영과 경상국립대학교 계통의 유전적 구조가 유사한 것으로 나타났다. 하지만, 최적의 $K = 4$ 에서 유전적 구조가 다른 것을 확인하였으며,

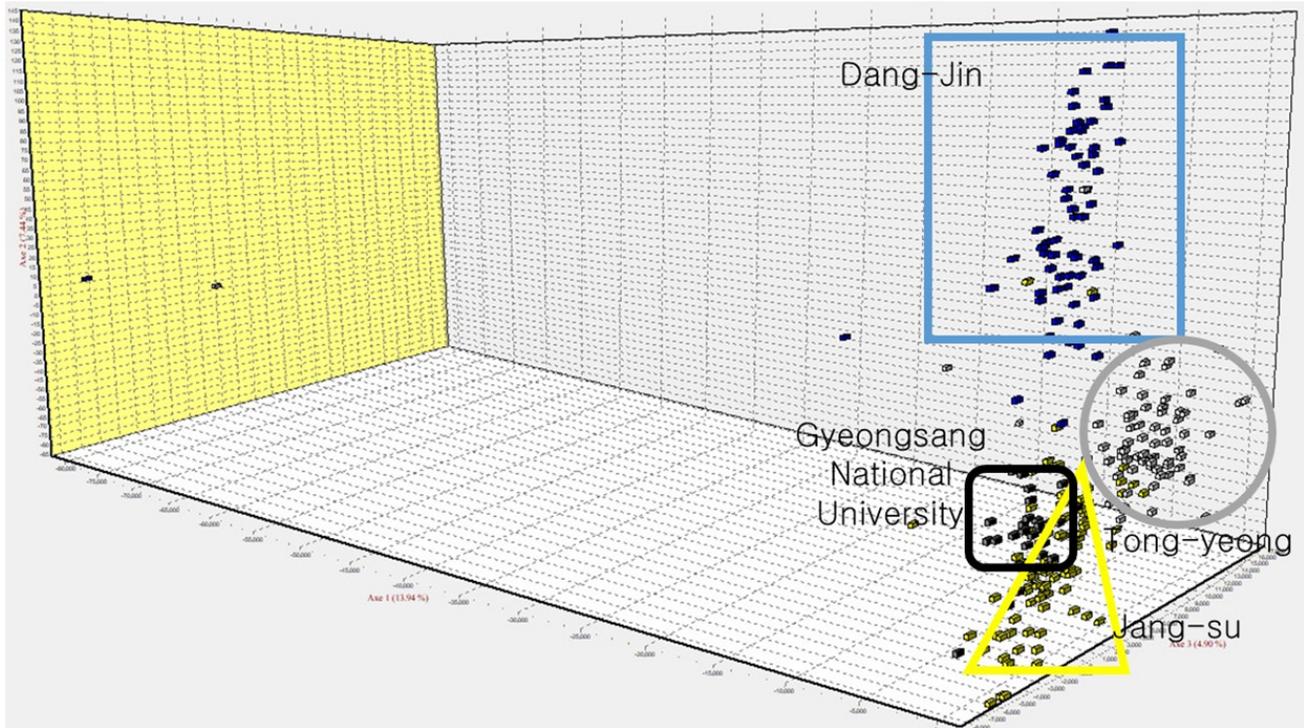


Fig. 1. Results of FCA analysis. This plot shows a tendency to cluster by each line.

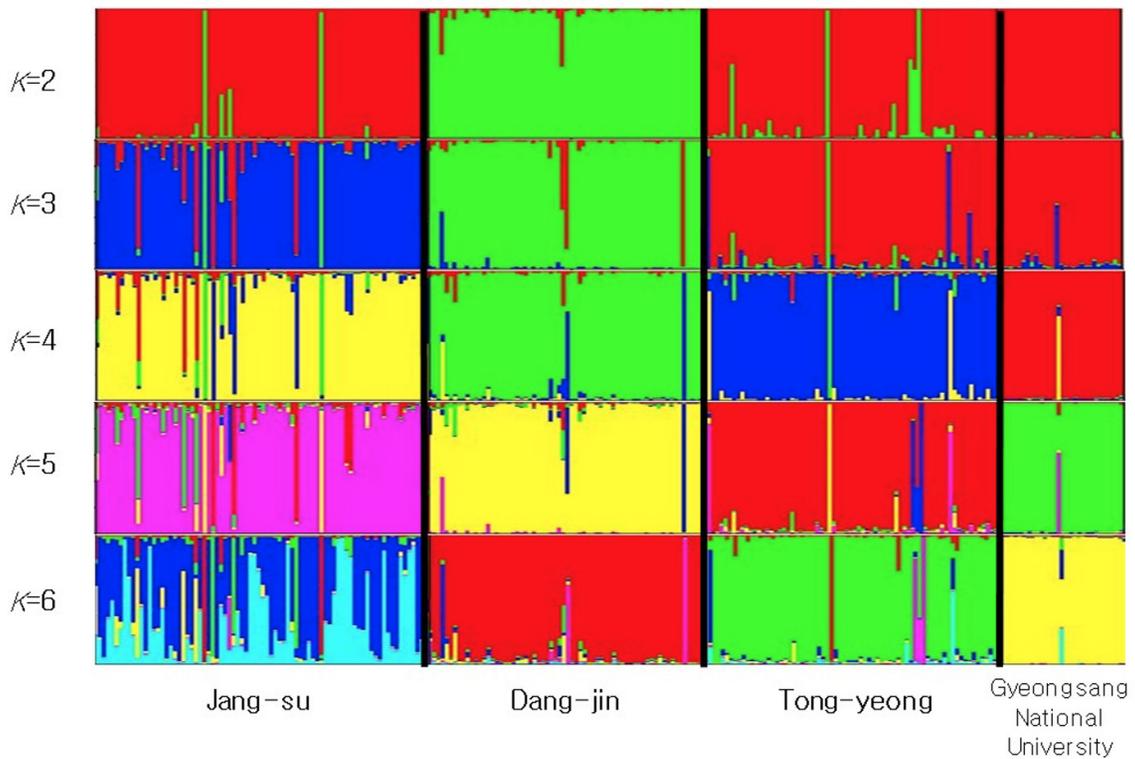


Fig. 2. This is result of the analysis of the STRUCTURE 2.3.4 program. The optimal value of K is 4, and each line shows an independent genetic structure..

Table 7. Estimated posterior probabilities [$\ln \Pr(X|K)$] for $K = 2 \sim 6$ of inferred clusters (K) and ΔK statistic

K (Cluster Number)	Replicate	Mean $\ln P(K)$	ΔK
2	20	-6904.0450	-
3	20	-6539.8000	1.570348
4	20	-6218.9750	28.233235
5	20	-6087.7300	11.452982
6	20	-6015.7000	1.770594

이는 과거의 재래흑염소는 유전적 교류가 존재했으나, 재래흑염소 계대, 지역 및 지리적인 환경이나 특성의 차이로 유전자의 교류 및 유전적 혼합이 일어나지 않은 것으로 판단된다. 추가적으로 FCA 결과와 STRUCTURE 분석 결과, FCA는 개체의 유전적 상관관계를 반영하였고 STRUCTURE는 집단 및 개체의 유전적 구조 차이를 비교 한 것으로 각 분석의 통계 모델 차이로 인한 결과로 사료된다.

따라서, 본 연구는 재래 흑염소 경상국립대학교 계통에 대한 장수, 당진, 통영 계통과의 유전적 다양성, 구조 및 특성에 대하여 비교분석을 실시하였다. 본 연구의 결과에 따라, 근친도등이 고려된 계획 교배를 통해 유지 및 보존을 할 필요성이 있다고 판단되며, 본 연구의 결과는 재래흑염소 경상국립대학교 계통이 미래 유전자원 유지 및 보존 계획 수립에 사용할 수 있는 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

Conclusion

재래흑염소 경상국립대학교 계통의 재래종으로써 가치를 확인하기 위하여, 국내 타 재래흑염소 3 계통과 비교 분석을 실시하였다. 11개의 MS marker의 유전자형 분석을 통해 계통 간의 비교를 수행하였으며, 기초 통계에 대한 수치들은 타 계통에 비해 상대적으로 낮았지만, 연구에 활용하기에는 적합한 수치를 나타냈다. 또한, 요인 대응 분석과 구조 분석을 통해 경상국립대학교 계통은 타 재래흑염소 계통과의 유전적 구조가 달라 유전자의 교류 및 유전적 혼합이 발생하지 않은 것으로 판단된다. 따라서, 경상국립대학교 계통은 재래종의 보존, 보호를 유지해야하는 계통으로 식별할 수 있으며, 본 연구에서 제공한 결과를 바탕으로 계획 교배 및 사양 관리를 통한 재래종으로의 유지와 보존을 위한 계획 수립 및 육종 방안을 마련할 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

Acknowledgements

Cooperative research program for agriculture science and technology development (Project PJ016710022023) from the Korean Rural Development Administration.

References

- Adrana MA, Guimaraes SEF, Pereira CS, Lopes PS, Rodrigues MT and Machado TMM. 2010. Paternity in Brazilian goat with DNA microsatellites. R. Bras. Zootec. 39: 1011-1014.
- Barbara AA. 1990. Composition of foods; Beef products. Nutrition Monitoring Division, US Department of Agriculture.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. and Bonhomme, F. 2004. GENETIX ver. 4.05, logiciel sous Windows TM pour la genetique des POPulations. Laboratoire Genome, populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Universite de Montpellier II. Montpellier. France.
- Chung ER. 2002. Identification of Korean native goat meat using amplified fragment length polymorphism (AFLP) DNA markers. Kor. Food Sci. Anim. Resour. 22, 301-309.

- Dieringer D and Schlatterer C. 2003. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol. Ecol. Notes.* 3: 167-169.
- Earl DA and Von-Holdt BM. 2012. Structure Harvester: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources.* 4: 359-361.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics.* 164: 1567-1587.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol. Ecol. Notes.* 7: 574-578.
- Frankham R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wild life. *Conservation Biology.* 10: 1500-1508.
- Goudet J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Accessed in <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> on 14 August 2005
- Groenen MA, Crooijmans RP, Veenendaal A, Cheng HH, Siwek M and van der Poel JJ. 1998. A comprehensive microsatellite linkage map of the chicken genome. *Genomics.* 49: 265-274.
- Hedrick PW. 2000. *Genetics of population.* Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, Mass. 34-47. (Book)
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK. 2009. Inference weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* 9: 1322-1332.
- Khan BB. 2008. *Health and Husbandry of Dairy Animals.* TM Pringers, Faisalabad, Pakistan.
- Kim YB, Jeon GH, Lee NH, Yang SY, Mon BY and Jang AR. 2005. Nutritional quality of black goat meat. *Proceedings of the Korean Society for Food Science of Animal Resources Conference.* 103-106.
- Kranis A, Gheyas AA, Boschiero C, Turner F, Yu L, Smith S, Talbot R, Pirani A, Brew F, Kaiser P, Hocking PM, Fife M, Salmon N, Fulton J, Strom TM, Haberer G, Weigend S, Preisinger R, Gholami M, Qanbari S, Simianer H, Watson KA, Woolliams HA and Burt DW. 2013. Development of a high density 600K SNP genotyping array for chicken. *BMS Genomics.* 14: 59.
- Lee SH, Lee J, Jeon D, Lee SS, Kim S, Kim KW. 2019. Morphological characteristics and growth performance of Korean native black goats. *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.* 20, 149-155.
- Ligda C, Altarayah J, Georgoudis A and Consortium E. 2009. Genetic analysis of Greek sheep breeds using microsatellite markers for setting conservation priorities. *Small Ruminant Res.* 83: 42-48.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton JM. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7:639-655.
- Pritchard JK, Stephens M and Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155: 945-959.
- Ramos AM, Crooijmans RPMA, Affara NA, Amaral AJ, Archibald AL, Beaver JE, Bendixen C, Churcher C, Clark R, Dehais P, Hansen MS, Hedegaard J, Hu ZL, Kerstens HH, Law AS, Megens HJ, Millan D, Nonneman DJ, Rohrer GA, Rothschild MF, Smith TPL, Schnabel RD, Van Tassel CP, Taylor JF, Wiedmann RT, Schook LB and Croenen MAM. 2009. Design of a high density SNP genotyping assay in the pig using SNPs identified and characterized by next generation sequencing technology. *Plos One.* 4: e6524.
- Raymond M, Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86:248-249.
- Serrano M, Calvo JH, Martinez M, Marcos-Carcavilla A, Cuevas J, Gonzalez C, Jurado JJ and de Tejada PD. 2009. Microsatellite based genetic diversity and population structure of the endangered Spanish Guadarrama goat breed. *BMC Gene.* 10.
- Stothard P, Choi JW, Basu U, Sumner-Thmsom JM, Meng Y, Liao X and Moore SS. 2011. Whole genome resequencing of black Angus and Holstein cattle for SNP and CNV discovery. *BMC Genomics.* 12: 559.
- Tefel H, Ata N, Chahbar M, Benyarou M, Fantazi K, Yilmaz O, Cemal I, Karaca O, Boudoouma D and Gaouar SBS. 2018. Genetic characterization of four Algerian goat breeds assessed by microsatellite markers. *Small Ruminant Research.* 160: 65-71.
- Weir BS, Hill WG. 2002. Estimating F-statistics. *Annual Review of Genetics* 36:721-750.