

Isoperoxidase 變異型에 의한 소나무 Clone 鑑別*1

朴 龍 求*2 崔 定 錫*2

Use of Zymography for Identification of the Same Clone in a Clone Bank of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.*1

Young-Goo Park*2 and Jung Suk Choi*2

Using of zymography for identification of same clone of *Pinus densiflora*, the two year old needle leaves of 48 ramets including 8 clones(6 ramets per clone) were collected in the clone bank which has been established on the near campus of Institute of Forest Genetics, Suwon, in 1962. All 8 bands are named from cathod to anode, G, H, K, M, N, Q, S and Y. Only CB-1 clone shows all bands, while KW-3 clone reveals only 5 bands. Other 6 clones were found 7 bands but the occurred frequencies of those bands are variable among those clones.

Though the grafting stock are used various individuals grown seed propagation of *P. densiflora*, moreover, three stocks have been different species and that one has been *P. rigida* and two individuals have been *P. koraiensis*, the zymograms of the ramets belonging to the same clone reveals the identified patterns. The results show that the stocks for grafting have not been affected on the isoperoxidase patterns of their scions in *P. densiflora*.

Among 48 ramets of 8 clones, 4 ramets are found the different isoperoxidase patterns from that of the remained rametes within same clone. Thus, it is concluded that zymography is useful for testing genuineness of the grafted clones of *P. densiflora*.

生物體가 가지고 있는 同位酵素는 그것을 支配하고 있는 遺傳子型에 의해 여러가지 酵素型을 나타낸다. 그러므로 소나무 clone 保存園과 같이 接木法에 의해 榮養繁殖된 경우에는 만약 臺木이 接穗의 同位酵素型에 直接的인 影響을 미치지 않는다면 同位酵素를 利用하므로써 어떤 制限된 範圍內에서는 鑑別이 可能할 것이다. 本 研究는 上記 可能性을 確實히 알아내기 위하여 各 個體마다 產地가 다른 소나무 秀型木候補木에서 接木法에 의해 造成된 clone 保存園의 clone 中 8個 clone의 48個 ramet에 對한 過酸化同位酵素型을 調査研究하였다.

8 clone 中 같은 酵素型을 나타낸 것은 忠北3號(CB-3)와 京畿 1號(KK-1)였으나 이들도 平均活性度에는 差異가 난다. 같은 clone 內의 ramet 間 酵素型은 같이 나타나서 臺木이 接穗의 酵素型에 直接的인 影響을 미치지 않음을 보여 주었다. 48個 ramet 中 4個 ramet가 같은 clone 內의 다른 ramet와는 그 酵素型이 달랐다. 이상의 結果 소나무 接木 clone을 過酸化同位酵素를 利用하여 鑑別할 수 있음을 示唆하였다.

緒 論

林木이나 果樹에 있어서 接木法이나 挿木法의 開發로 因하여 榮養體繁殖이 많이 이루어지고 있다. 이러한 榮養體는 그 特性이 꼭 같아 區別이 되고 있으나 그 中에는 이러한 形態의 區別이 困難하거나 이런 特性 가운데 가장 重要한 꽃이나 열매등이 달리기 까지는 相當한 時間이 걸리는 것도 있다.

最近 生體內의 同位酵素를 區別해 보는 zymography의 方法에 依해서 Miyazaki(1969) 등은 杉나무의 한 clone 鑑別을 isoperoxidase를 利用하여 밝히었으며 Rasmuson(1971) 등은 esterase 同位酵素를 利用하여 歐洲 赤松의 各 產地別로 選拔造成된 소나무 接木 clone에 對한 鑑別을 하였다.

이러한 同位酵素方法을 利用하는 것 보다 앞서 Sakai(1970) 등은 杉나무 天然林內에서 몇가지 形態의 特性

*1 韓國林學會 學術研究發表會 (73.2.17.)에서 發表함. Received March 10, 1973

*2 林木育種研究所, Institute of Forest Genetics, Suwon

을 調査하여 clone 繁殖과 種子繁殖을 區別하는 clone 指數를 만들었다. 그러나 이러한 統計處理를 하기 위해서는 많은 特徵을 調査해야 하며 또 復雜한 計算過程을 거쳐야 한다. 同位酵素에 의한 方法은 比較的 간단하여 生體葉에서 抽出한 體液을 澱粉질 電氣泳動法에 의하여 展開시켜 呈色溶液으로 呈色시킨뒤 酵素型의 類似性을 判定하는 組織化學的 方法에 의한 것이다(朴, 1972^a).

本 研究는 赤松 clone bank 에 植栽된 같은 clone 內의 ramet 間의 酵素型에 變異가 없으며 서로 다른 臺木이 接穗의 酵素型에 影響을 미치는지에 대해 調査한 結果이다.

材料 및 方法

全國에서 秀型木候補木으로 選拔 指定된 赤松에서 接穗를 採取하여 各 clone 當 1수개씩의 接木苗를 養成 1962年度 當 研究所 構內에 植栽하는 clone bank 에서 忠南 1, 2, 3 號 江原 2, 3, 4 와 5號 京畿 1號의 8個 clone 에 對하여 各 clone 마다 6個 ramet 를 選定 2年生 針葉을 採取實驗하였다.

clone 과 ramet 數 그리고 이 ramet 의 接木시 사용한 臺木의 種類는 表 1과 같다.

臺木은 一般種子에서 養成된 赤松이 大部分 使用되 었으나 忠北 3號의 3번째 ramet 는 리기다, 江原 2號中 第1 ramet 와 第 2 ramet 의 臺木은 잣나무가 使用되었 다. 各 clone 마다 6個 ramet 씩 총 48個體의 同位酵素

Table 1. Number of investigated plus trees and the sort of stocks

Name of plus tree	The number of investigated ramets	Species of stocks
충북 1 (CB-1)	6	<i>P. densiflora</i>
충북 2 (CB-2)	6	<i>P. densiflora</i>
충북 3 (CB-3)	6	<i>P. densiflora</i> and <i>P. rigida</i> (3)*
경기 1 (KK-1)	6	<i>P. densiflora</i>
강원 2 (KW-2)	6	<i>P. koraiensis</i> (1, 2)** and <i>P. densiflora</i>
강원 3 (KW-3)	6	<i>P. densiflora</i>
강원 4 (KW-4)	6	<i>P. densiflora</i>
강원 5 (KW-5)	6	<i>P. densiflora</i>

* 3th ramet of CB-3 have been grafted on *P. rigida*;

** First and second ramet of KW-2 have been grafted on *P. koriensis*.

型을 分析實驗하였다. 選定된 ramet 는 樹高中間部位에서 약 20cm가량의 가지를 採取하여 곧 電氣泳動에 使用하였다.

電氣泳動方法은 朴(1972^a)이 使用한 方法과 비슷하나 泳動에 使用한 電氣量은 10分間 5v/cm 다음 약 140分間은 marker 로 使用한 BPB(Bromophenol Blue)가 原點에서 +方向으로 10cm 곳에 到達할때까지 7.5v/cm의 直流電氣를 通해 주었다.

結 果

사진 1, 2, 3 과 4 는 試驗한 各 clone 의 ramet 別 過酸

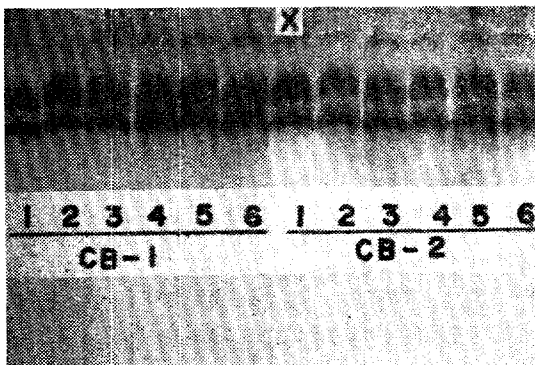


사진 1. 충북 1호와 충북 2호의 효소형.

K밴드가 충북 1호에서는 나타나지만 충북 2호에서는 나타나지 않음. 충북2호의 제1번 ramet 는 나머지 5 ramet와 다른형을 나타냄. X표는 異狀型을 表示함.

Photo 1. The zymograms of isoperoxidase bands of 6 ramets per Chungbuk plus tree No. 1 and No. 2. K band appeared on the zymograms of all 6 ramets of Chungbuk No. 1, while the 5 ramets of Chungbuk No. 2 plus tree without the band except the first ramet. The 1st ramet of Chungbuk No. 2 is not same pattern of the remain 5 ramets.

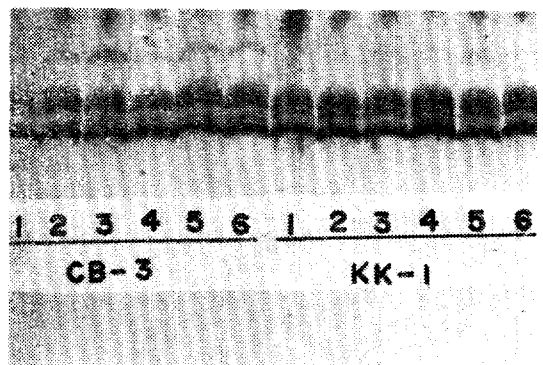


사진 2. 충북 3호와 경기 1호의 효소형.

충북 3호와 경기 1호는 S밴드가 나타나지 않으나 충북 3호의 K밴드는 다른 clone 의 K밴드보다 活性이 낮다.

Photo 2. The zymograms of isoperoxidase bands of 6 ramets of Chungbuk No. 3 and of Kyunggi No. 1 plus tree respectively. The S band is not appeared on the zymogram of both clones. K band of the Chungbuk No. 3 show lower activities than others.

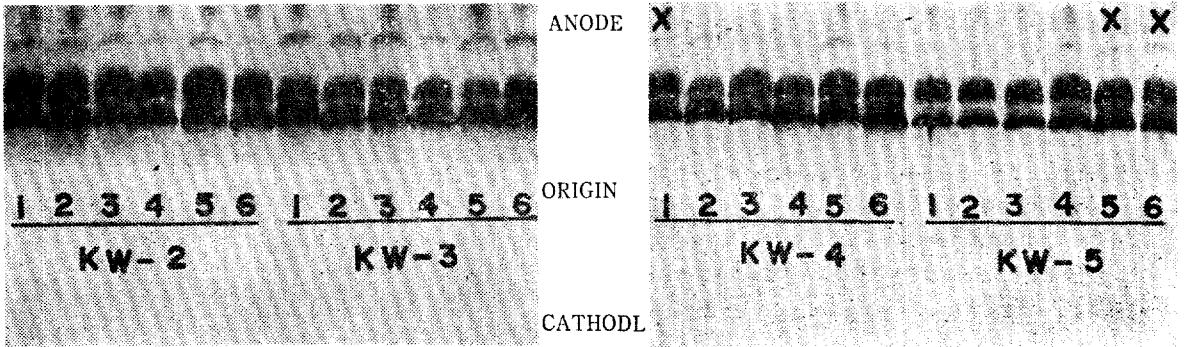


사진 3. 강원 2호와 강원 3호의 효소형.

강원 2호나 강원 3호 어느 것이나 K 밴드가 나타나지 아니하며 강원 3호에는 M 밴드와 S 밴드가 출현치 아니함. 각 clone 의 ramet 에는 異狀型은 없음.

Photo 3. The zymograms of isoperoxidase bands of Kangwon No. 2 and No. 3 plus tree. K band is not appeared on the Kangwon No. 3 plus tree do not show M and S bands on their zymograms. Within ramets are same patterns.

化同位酵素型이다.

그림 1에는 이들 각 clone 의 酵素型을 그려놓은 것이다. 陰極쪽에서 陽極쪽으로 G, H, K, M, N, Q, S, Y의 「밴드」 이름을 붙였다. 陰極쪽에 나타난 「밴드」는 한 ramet 도 없었다. 어느 clone 의 ramet 에서나 나타난 「밴드」는 G, Q, Y의 세개 「밴드」였으며 H, K, M, N, S의 5개 「밴드」는 각 clone 의 ramet 間 出現頻度 뿐만 아니라 活性化에서도 큰 差異를 보인다. 活性化는 相對的活性化로써 가장 높은 活性化를 5, 가장 낮은 活性化를 1로 5段階로 區分하여 表示하였다. 各 clone 別로 보면 가장 많은 「밴드」를 가지고 있는것이 忠北 1號(CB-1)로 G, H, K, M, N, Q, S, Y의 8개 「밴드」全部를 나타내며 가장 적은 「밴드」를 가지고 있는것은 江原 3號(KW-3)로 G, H, N, Q, Y로 5개 「밴드」뿐이고 나머지 6개 clone 은 7개의 「밴드」를 가지고 있으나 出現하고 있는 「밴드」種類는 clone 마다 다르다.

사진 1에는 忠北 1號(CB-1)와 忠北 2號(CB-2)의 酵素型으로 K 「밴드」 出現에 差異를 나타내고 있다. 忠北 1號(CB-1) clone 의 6개 ramet 에서는 K 「밴드」가 全部 出現하여 平均活性化 3을 나타내나 忠北 2號(CB-2) 에서는 K 「밴드」가 第一番 ramet 에서는 出現하나 나머지 5개 ramet 에서는 出現치 아니한다. 忠北 2號(CB-2)의 第一番 ramet 는 忠北 1號(CB-1)의 6개 ramet 와 같은 酵素型을 나타내고 있다.

사진 2에는 忠北 3號(CB-3)와 京畿 1號(KK-1)의 各 6개 ramet 의 酵素型을 나타낸 것인데 兩 clone 의 ramet

사진 4. 강원 4호와 강원 5호의 효소형.

강원 4호에서는 H, 강원 5호는 K 밴드가 출현치 않음 강원 4호중 2번째 ramet 는 나머지 5개 ramet 와 효소형이 다르며 강원 5호 ramet 중 5번과 6번 ramet 는 K 밴드가 출현하여 나머지 4개의 ramet 와 다른 효소형을 나타냄.

Photo 4. The zymograms of isoperoxidase bands of Kangwon No. 4 and No. 5 plus tree. The distinguishable difference of Kangwon No. 4 from No. 5 is to be the H and K bands or not. Among 6 ramets of Kangwon No. 4, 2nd ramet show the different enzyme pattern from the 5 remainder and 5th and 6th ramet of Kangwon No. 5 plus tree have not the same enzyme pattern of the 3 other ramets of the clone.

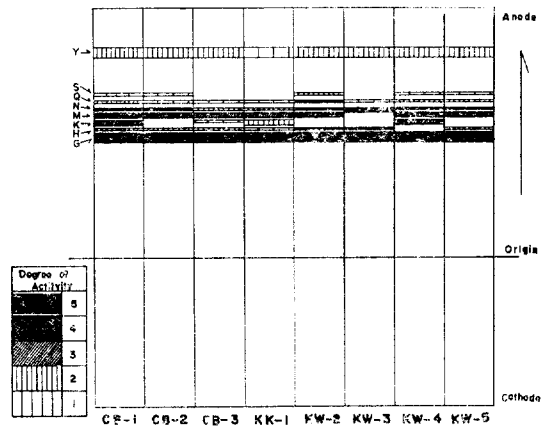


Fig. 1. The zymogram of isoperoxidase bands of 8 clones.

에 S 「밴드」가 出現하지 않고 있으나 忠北 3號(CB-3)에 K 「밴드」는 「밴드」幅이 1/2밖에 되지않고 平均活性化도 1로써 매우 낮다. 그러나 이들 clone 內의 6개 ramet 間에는 異狀 ramet 는 나타나지 않았다.

사진 3에는 江原 2號(KW-2)와 江原 3號(KW-3)의 各 6개 ramet 의 酵素型이다.

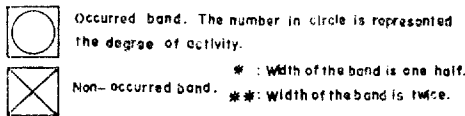
江原 2號(KW-2)는 K 「밴드」만이 出現하고 있지 않으나 江原 3號(KW-3)의 ramet 間에는 K, M, S 「밴드」가

出現하지 않고 N「밴드」는 「밴드」幅이 다른 clone의 ramet에 나타난 것보다 2배에 遡하고 있다. 그러나 같은 clone內의 ramet間에는 酵素型的 變異가 나타나지 않았다.

사진 4에는 江原 4號(KW-4)와 江原 5號(KW-5)의 酵素型인데 江原 4號(KW-4)는 H「밴드」 江原5號(KW-5)에서는 K「밴드」가 出現하지 않는다. 그러나 江原 4號(KW-4)의 第 2 ramet에는 H「밴드」가 出現하고 S「밴드」는 出現하지 않아 다른 5個 ramet와는 그 酵素型이 다르며 江原 5號(KW-5)의 6個 ramet 중 第 5와 6, 2個 ramet는 K「밴드」가 相當히 높은 活性度로써 나타나서 나머지 4個의 ramet의 酵素型과는 區別되고 있다. 表 2에는 이들 clone의 酵素型과 平均活性度를 나타낸 것이다.

Table 2. Band patterns and activities of occurred bands on the zymograms of 8 clones

Clone Bands	CB 1	CB 2	CB 3	KK 1	KW 2	KW 3	KW 4	KW 5
G	5	5	5	5	5	5	5	5
H	2	2	2	1	3	3	X	2
K	3	X	1/2	2	X	X	3	X
M	3	3	3	3	3	X	4	4
N	3	3	2	2	3	4/2	3	3
Q	2	1	1	1	3	1	2	2
S	1	1	X	X	2	X	1	1
Y	2	2	2	1	2	2	2	2
Mean of Activity	2.6	2.3	2.2	2.1	3.0	3.8	2.9	2.6



數値는 活性度를 나타내며 忠北 3號(CB-3)의 K「밴드」는 「밴드」幅이 다른 clone의 「밴드」의 1/2이며 江原 3號(KW-3)의 N「밴드」幅은 다른 clone 「밴드」의 2배에 達한다. 平均活性度間에는 有意差가 나타난 clone은 없다.

出現頻度만 보면 忠北 2號(CB-2)와 江原2號(KW-2) 그리고 江原5號(KW-5)는 K「밴드」가 나타나지 않고 나머지 7個「밴드」가 出現하고 있어서 酵素型에는 變異가 없으나 各 出現 「밴드」間 活性度에는 變異가 나타난다. 忠北 3號(CB-3)와 京畿 1號(KK-1)는 酵素型은 같으나

K「밴드」의 幅에 變異가 나타나고 있다.

clone內에 變異가 나타나고 있는 ramet를 가지고 있는 것은 忠北 2號(CB-2)에 1個, 江原4號(KW-4)에 1個, 江原 5號(KW-5)에 2個로 全體 48個體중 4個 ramet에 達한다.

考察 및 結論

林木育種分野에 있어서 clone을 鑑別할 수 있다는 것은 여러가지로 重要한 意味를 가지고 있다. clone繁殖와 種子繁殖을 같이 하고있는 天然林內에서의 clone繁殖量을 計算해내므로써 天然集團內의 遺傳變異를 究明할 수 있으며 挿木이나 接木法에 의해 增殖하고 있는 林木의 品種眞僞를 區別해 내는데도 큰 役割을 할 수 있을 것이다.

序論에서도 言及한바와 같이 Sakai(1970) 등은 種子繁殖와 榮養繁殖을 함께하고 있는 杉나무 天然林內에서 그 遺傳變異를 推定하기 위해 clone 鑑別을 試圖하였다. 葉長, 葉彎曲, 葉角, 葉密度 등 數個의 外部形態를 調査하여 各 調査特徵間에 相關係數를 計算하여 鑑別指數를 만들어 任意 天然林內의 clone 分析을 하였다. 同位酵素를 利用한 clone 鑑別法은 1969年 宮崎와 酒井가 杉나무 「雲通」 clone 鑑別에 使用한것이 林木에서는 그 始初이다. 한 個體에서 榮養繁殖시켜 여러 地域에 植栽된 54 ramet에서 外形의으로 「雲通」와 다른 形態를 나타내고 있는것은 7個體였는데 同位酵素에서 다른 型을 나타낸 것은 9個體로서 54個體중 9個體는 「雲通」 clone이 아닌 것으로 밝혀졌다. 그러나 이들은 clone 鑑別에 同位酵素를 使用하는데 있어서 注意해야만 할 點을 提示했는데 即 1) 같은 clone 이라고 主張되는 것이 그 clone인지 아닌지는 높은 確率로써 調査할 수 있으나 2) 任意의 試料 속에서 골라낸 個體가 어떤 特定 clone에 解當하는지는 同位酵素만으로 區別할 수 없다는 점이다. 挿木繁殖한 clone은 같은 遺傳子를 가진 同一個體이나 接木에 의해 번식된 clone은 臺木이 接穗의 同位酵素型에 影響을 미치는지에 대한 研究도 있으며 이들 酵素型에 의해 clone間의 ramet를 鑑別하는데 使用한 報告도 있다.

Rasmuson et al.(1971)은 歐洲赤松에서 地域이 다른 곳에서 生育하는 16個 母樹에서 接木에 의해 繁殖植栽된 3個所에서 各 2個 ramet씩 총 96個 標本을 채취해 esterase 酵素型的 變異를 調査한 結果에 의해 接穗의 同位酵素型에 臺木의 影響은 없었으며 다른 clone內에 酵素型的 變異도 없어서 96個 ramet 중 88個 ramet가 같은 clone으로 鑑別되어 平均 0.92의 確率을 나타냈다.

接木에 있어서 臺木이 接穗에 미치는 影響에 關하여는 두가지 相反된 見解가 있다. Allen(1967)은 生長速度가 서로 다른 소나무의 세가지 樹種 즉 *P. elliotii*, *P. teada* 와 *P. echinata* 의 뿌리와 接穗의 數個組합을 接木比較하므로써 뿌리部分이 生長이 빠른것은 接穗가 生長이 느린것이라고 하더라도 統計的 有意差는 나타나지 않았으나 比較個體보다 生長이 빠르게 나타나므로 臺木이 接穗에 相當히 큰 影響을 미치고 있다고 報告했으며 Hatton(1931)은 clone 繁殖시킨 사과나무 接木에 있어서 臺木의 影響으로 因하여 接穗의 形質도 臺木과 같은 群으로 나눌 수 있다고 報告했다. 이에 反하여 Lockard 와 Gunwald(1970)은 완두콩의 短幹性과 長幹性에 대한 接木 實施하여 그들의 臺木과 接穗間의 影響을 觀察하였는바 生長에 影響을 크게 미치는 gibberellic acid 는 接穗와 臺木間에 큰 影響이 없으며 接穗의 生長은 接穗內의 gibberellic acid 量에 左右된다고 報告했다.

本 論文에서는 같은 clone 이라도 臺木이 다르며 그중 3個體는 種이 다른 臺木으로써 接木을 實施한 것이었으나 같은 clone 의 接穗의 過酸化同位酵素型은 變異가 없었으며 臺木이 接穗의 過酸化同位酵素型에 影響을 미치지 않음은 後者의 結果와 같다. 前者의 結果는 臺木이 接穗에 相當한 影響을 미치고 있다고 報告하고 있으나 그 影響은 臺木의 物質代謝에 依해서 나타난 特徵이 大部分이다. 이들은 그 特徵이 얼마나 높은 遺傳力을 가지고 있는지에 對해서는 言及을 하지 않고 있다. 酵素變異가 遺傳變異에 따라 일어난다는 것은 이미 보고된바(Park, 1972^b) 臺木이 달라도 酵素變異가 일어나지 않음은 臺木이 接穗에 遺傳的인 面에는 直接的인 影響이 없음을 나타내고 있는지도 모른다. Rasmuson *et al.*(1971) 역시 esterase 同位酵素型이 臺木이 달라도 차이가 없음을 報告하고 있음은 本 論文과 같은 結果이다.

全體 48個體중 4個 ramet 가 酵素型이 다르게 나타나 推率은 0.92인데 이것은 Miyazaki 와 Sakai(1969)는 54個중 9個 ramet 로 0.83, Rasmuson 과 Rudin(1971)은 96個중 8個 ramet 로 0.92 에 비해 비슷한 變異個體가 나타난 것이다. 이 變異個體는 酵素型에 對한 突然變異 때문이라고 推定할지도 모른다. 그러나 Squillace *et al.*(1963)는 *Pinus elliotii* 의 白子個體의 突然變異率은 1/2,000에 達하였으나 이것은 Dobzhansky(1951)의 突然變異率 1/100,000보다 훨씬 높다. *P. elliotii* 의 白子個體에 대한 實際上的 突然變異率은 이보다 낮으며 이렇게 높게 나타난 것은 雜種接合子에 대한 自然選擇 때문일지 모른다고 結論지었다. 그러므로 本 論文에서 酵素型變異가 體細胞 突然變異 때문이라고 말할수는 없

다. 차라리 이런 變異는 clone 保存園을 造成하는 過程에서 일어나는 誤差 即 接穗의 採取, 運送, 接木過程, 床替, 移植過程等 많은 作業過程에서 일어날지도 모르는 偶發的誤差 때문인지도 모른다. 그러나 이러한 同位酵素型의 變異에 대한 뒷바침을 하기 위하여 보다 많은 特徵等을 各 異狀 ramet 에 대해 調查比較해볼 必要가 있으나 우선 그 眞偽가 判明될때까지 이들 ramet 를 그들이 屬해 있는 clone으로써 交配試驗 등 一切의 試驗에서 使用하는 것을 排除해야 할 것이다.

活性도는 다르나 酵素型이 같은 clone 은 8 clone 中에서 2個 clone 으로 높은 頻度를 나타내고 있기 때문에 어떤 clone 에 屬해 있다고하는 個體에 대한 眞偽는 區別할 수 있어도 任意 集團內에 있는 어떤 個體의 酵素型이 任意的 個體와 같다고 해서 酵素型이 같은 個體와 같은 遺傳的構造를 가졌다고는 할 수 없다(Miyazaki and Sakai 1969). 이것이 同位酵素를 利用하여 clone 을 鑑別할 때에 가장 注意해야 할 點이라는 것은 앞에서 言及한 바와 같다.

소나무 接木 clone 에 있어서 接穗의 過酸化同位酵素型은 臺木에 影響을 받지 않고 同一個體의 소나무에 있어서 各 部位와 發育段階에 따른 過酸化同位酵素變異가 研究結果 報告되었는데 10年生 以上の 소나무에 있어서 1年生 葉에서는 같은 個體일지라도 發育段階에 따라 變異가 많으나 2年生 葉 이상에서는 同一個體內의 酵素型이 같고 樹高部位에 따른 變異도 없다고 했으며(朴, 1972^b) 같은 clone 內의 ramet 間에는 變異가 없기 때문에 過酸化同位酵素를 利用하여 소나무 接木 clone 을 鑑別할 수 있었다.

引 用 文 獻

1. Allen, R.M. 1967. Influence of the root system on height growth of three southern pines. Forest Science 13(3) : 235-257.
2. Hatton, R.G. 1931. The influence of vegetatively raised rootstocks upon the apples with special reference to the parts played by the stem and root portions in affecting the scion. J. of Horticultural Science : 265-277.
3. Lockard, R.G. and Gunwald, C. 1970. Grafting and gibberellin effects on the growth of tall and dwarf peas. Plant Physiol. 45 : 160-162.
4. Miyazaki, Y. and Sakai, K.I. 1969. Use of zymography for identification of a in *Cryptomeria japonica* D. Don. J. Jap. For. Soc. 51(9) : 235-239.

5. 朴龍求, 1972^a. 삼나무천연림 내의 동위효소 다형화에 의한 유전자 이동. 임목육종연구소 연구보고제9호 : 77-85.
6. 朴龍求, 1972^b. 소나무發育過程에 따른 過酸化同位酵素型的 變異. 韓國育種學會誌 4(1) : 15-22.
7. Rasumuson, B. and Rudin, D. 1971. Variations in esterase zymogram patterns in needles of *Pinus silvestris* from provenances in northern Sweden. *Silvae Genetica* 20(1-2) : 39-41.
8. Sakai, K.I., Hayashi, S. and Tomita, K. 1970. Clone analysis and genetical study of quantitative characters in a natural forest of *Cryptomeria japonica*. *Silvae Genetica* 19(4) : 124-128.
9. Sakai, K.I. and Park, Y.G. 1971. Genetic studies in natural populations of forest trees. III. Genetic differentiation within a forest of *Cryptomeria japonica*. *Theoretical and Applied Genetics* 41 : 13-17.
10. Squillace, A.E. and Kraus, J.F. 1963. The degree of natural selfing in slash pine as estimated from albino frequencies. *Silvae Genetica* 12(2) : 46-50.