

반송(*Pinus densiflora* for. *multicaulis*)의 몇 가지 同位酵素의 遺傳變異^{1*}

黃在禹² · 李錫雨³

Genetic Variation of Several Isoenzymes in *Pinus densiflora* for. *multicaulis*^{1*}

Jae Woo Hwang² and Seok Woo Lee³

要 約

반송의 유전변이를 조사하기 위해 전국에서 선발한 31개체에 대한 배유조직을 이용하여 4개 동위효소에 대한 전기영동을 실시하였으며, 분석된 결과를 소나무와 비교하였다. 분석 결과 최소 7개의 유전자좌(GDH-A, GOT-B, GOT-C, IDH-A, LAP-A, LAP-B)가 다형성을 나타냈으며, 이들 유전자좌에서 관측된 대립유전자 수는 2-4개였다.

본 연구에서 조사된 유전자좌에서는 소나무와 반송을 구별할 수 있는 標識因子를 발견할 수 없었으며, 각 유전자좌별 대립유전자 빈도 분포 역시 소나무와 반송이 거의 동일하였다. 반송의 99% 수준에서의 다형적 유전자좌의 비율, 유전자좌당 대립유전자수, 이형접합율의 관측치와 기대치는 각각 85.7, 2.3개, 0.165와 0.186%로 소나무에 비해서 유전변이는 적은 것으로 나타났다.

ABSTRACT

Isozyme variations in 4 enzyme systems in *Pinus densiflora* for. *multicaulis* in 31 individual trees collected throughout the country were studied by starch gel electrophoresis using haploid megagametophyte tissue to compare with those of *Pinus densiflora*. A minimum of 7 loci were found to code for isozymes of the enzyme systems. No variation was found at locus GOT-A; at the remaining 6 variable loci (GDH-A, GOT-B, GOT-C, IDH-A, LAP-A, LAP-B) and 2 to 4 alleles were identified. We could not find any marker alleles to distinguish *Pinus densiflora* for. *multicaulis* from *Pinus densiflora* at the isozymes studied here. Allele frequency distributions at each loci were almost all the same as those of *P. densiflora*.

The percentage of polymorphic loci(99% level), the number of alleles per locus, the observed and expected heterozygosities were 85.7, 2.3, 0.165 and 0.186%, respectively. The level of genetic diversity in *Pinus densiflora* for. *multicaulis* seemed to be less than that of *P. densiflora*.

Key words : isozymes, genetic variation, *Pinus densiflora* for. *multicaulis*

¹ 接受 1996年 3月 5日 Received on March 5, 1996

² 嶺南大學校 自然資源大學 山林資源學科 College of Natural Resources, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea.

³ 山林廳 林木育種研究所 Forest Genetics Institute, Suwon, Korea.

* 이 연구는 92년도 韓國科學財團 연구비지원에 의한 결과임.

序 論

소나무는 한국과 일본의 全域에 분포하고 있으며 만주의 동쪽지역에도 분포하고 있는데(Mirov, 1967) 오랫동안 우리 나라의 林業에 있어서 중요한 위치를 차지해 왔다. 이 수종에는 몇 가지의 品種이 존재하는데 그 중에 하부에서 다수의 樹幹을 가지는 반송은 그 특이한 外部形態 때문에 觀賞의 가치는 基本種인 소나무보다 우위를 점하고 있다. 이 반송의 形態의 特性이나 遺傳의 特性 면에서의 연구가 요구되고 있으나 지금까지 별로 연구된 바가 없다. 형태적 특성에 있어서는 제한된 재료를 가지고 침엽, 구과 및 종자 등에 대해 극히 적은 연구(Hwang, 1988; Wheeler 등, 1982)가 이루어지고 있으나, 동위효소 분석 등 생화학적, 분자생물학적 기법에 의한 遺傳變異 研究는 전무한 실정이다.

최근 分子生物學의 발달로 인해 임목의 遺傳的 構造를 비교적 정확히 추정할 수 있게 되었으며 그 중 電氣泳動法에 의한 임목에 있어서의 연구는 同位酵素 分析法로 集團내 및 집단간 변이 분석연구가 진행되고 있다. 임목은 他殖을 주로 하고, 생육기간이 길며 대면적에 분포하고 있기 때문에 다른 植物群에 비해 더 많은 유전적 변이를 보유하고 있음이 보고되고 있으며(Hamrick와 Godt, 1989), 이미 오래 전부터 地理的 品種이나 産地의 개념이 정립되어 있다. 이러한 사실은 林木集團이 오랫동안 진화과정을 통해서 서로 다른 환경 하에서 적응하고 있다는 것을 의미하는 것으로 이들의 유전적 구조를 정확히 추정하는 일은 여러가지 育種 計劃에 필요한 가장 기본적인 것이다.

集團의 遺傳的 構造를 추정하는 일과 임목 육종계획의 응용을 위해서는 가능한 한 많은 동위효소 遺傳子座의 확인이 필수적인데 이는 각 동위효소 종류에 대한 유전 양식의 정확한 규명을 통해서 해결할 수 있다. 침엽수 종자의 배유조직은 父系의 유전인자가 개입되지 않은 母樹의 遺傳因子만을 지닌 半數體이며, 동위효소 분석을 통해 관찰되는 표현형은 일반적으로 공우성이기 때문에 mendel의 분리비를 가정함에 있어서 많은 잇점이 있다.

전술한 바와 같이 반송은 소나무의 특이한 품

종으로 형태적 특성변이와 더불어 유전적 변이 연구가 요구되는데 여기에서는 종자를 이용한 반송의 몇가지 동위효소의 유전변이와 기본종 소나무와의 차이점을 비교함은 물론 본 수종의 개량을 위한 기초 자료를 제공하는데 본 연구의 목적이 있다.

材料 및 方法

1. 材料選定

遺傳的 變異를 추정하기 위하여 전국에서 선정된 31개체를 대상으로 하였다(Table 1).

2. 研究方法

전형적인 반송은 自然生으로 나타나있는 것을 선별하기는 극히 어려우므로 집단을 대상으로 할 수는 없고 다수의 개체목으로부터 유전변이 양을 추정하였다. 同位酵素의 分析을 위하여 개체당 발아 초기의 종자로부터 胚乳組織을 추출, 균질화 시킨후 그 액을 paper wick에 묻혀 12.5% 감자전분 gel에 삼입하였다. 電氣泳動은 Poulik (1957) system을 약간 개조한 불연속과 연속완충용액(Tris Citrate buffer system)을 이용하여 5℃에서 수행하였다(Table 2). 전기영동을 마친 젤은 여러 개의 층으로 수평절단하여 각 동위효소별로 15분간의 전처리 등을 마친 후 棕色液을 이용하여 암상태 37℃에서 반응시켰다. 전기영동과 관련된 상세한 실험방법, 동위효소 별 棕色液 등은 Kim와 Lee(1992)의 방법을 따랐다. 분석된 4개 동위효소의 명칭은 Table 3에 제시되어 있다.

3. 資料分析

각 遺傳子座에서의 개체별 遺傳子型 頻度를 토대로 對立遺傳子 頻度, 多型的 遺傳子座의 比率(P), 遺傳子座 당 平均 對立遺傳子 數(A/L), 平均 異型 接合率(H) 등을 구했다. 이상의 모든 분석은 BIOSYS-1 computer program(Swoffod와 Selander, 1989)을 이용하여 수행하였으며, 소나무 天然集團이 가지는 유전변이(Kim과 Lee, 1992; Kim과 Lee, 1995)와 비교 분석하였다.

Table 1. Locations of sample trees tested.

Tree No.	Location
1	Jikdongri, Soheolmyon, Pocheungun, Kyonggi (Kwangnung Arboretum)
2	"
3	"
4	"
5	Omokcheondong, Suweonsi, Kyonggi (Inst. For. Genet.)
6	"
7	Woelkokri, Dongmyon, Chunseonggun, Kangwon
8	Kyo-2-Dong, Kangroungsi, Kangwon
9	Ryuchunri, Bukmyon, Chongsongun, Kangwon
10	Sooheri, Sangmomyon, Jungwongun, Chungbuk (Cent. Breed. Sta.)
11	Dukmyongdong, Yooseonggu, Taejeon (Chungnam Exp. For. Sta.)
12	Okcheonmyon, Cheonweongun, Chungnam (Independence Hall
13	"
14	Taedong, Kyeongsansi, Kyungbuk (Yeungnam Univ. Campus)
15	Baebandong, Kyongjusi, Kyungbuk (Kyungbuk Exp. For. Sta.)
16	"
17	"
18	Naenammyon, Kyongjugun, Kyungbuk (Waryong-Sa)
19	Yangbukmyon, Kyongjugun, Kyungbuk (Kirim-Sa)
20	Waesongri, Sinanmyon, Sanchunggun, Kyungnam
21	Kajwadong, Jinjusi, Kyungnam (Kyungsang Univ. Campus)
22	"
23	Sinandong, Jinjusi, Kyungnam (Changmi Nursery)
24	"
25	"
26	Waesongri, Sinanmyon, Sanchunggun, Kyungnam
27	Samgongri, Seolcheonmyon, Mujugun, Chunbuk
28	Masanmyon, Kuryegun, Chunnam (Hwa-Um temple)
29	"
30	"
31	"

Table 2. Buffer systems used for electrophoresis

System	Gel	buffer	Electrode	buffer
B Formulation	Tris citrate	[pH 8.7]	Sodium borate	[pH 8.2]
	H ₂ O (D.W.)	1,000ml	H ₂ O (D.W.)	1,000ml
	Tris	0.076M	Boric acid	0.299M
	Citric acid	0.0068M	Sodium hydroxide	0.063M
Procedure	Use as is		Use as is	
C Formulation	Tris citrate	[pH 7.0]	Same as gel buffer	
	H ₂ O (D.W.)	1,000ml		
	Tris	0.07M	Same as gel buffer	
	Citric acid	0.021M		
Procedure	To use, 9 : 1 dilution	(D.W. : buffer)	Use full strength	

Table 3. Enzymes assayed, their abbreviations, Enzyme Commission(EC) designations, and number of loci scored.

Enzyme	Abbreviation	E.C. designation	No. of loci scored
1. Glutamate dehydrogenase	GDH	1.4.1.2	1
2. Glutamate - oxaloacetate transaminase	GOT	2.6.1.1	3
3. Isocitric dehydrogenase	IDH	1.1.1.42	1
4. Luecine aminopeptidase	LAP	3.4.11.1	2

enzyme	GDH		GOT			IDH	LAP	
loci	A	A	B	C	A	A	B	
↑		—	—			—		
↑			—	—		—	—	
↑	—				—			
	—			—	—			
				—	—			
				—	—			
alleles	1 2	1	1 2 3	1 2	1 2	1 2 3	1 2	

(n: null allele)

Fig. 1. Schematic diagram of electrophoretic phenotypes for 7 loci in *Pinus densiflora* for. *multicaulis*.

結果 및 考察

1. 동위효소별 유전양식

유전변이 추정에 이용된 4가지 동위효소별 유전양식을 살펴보면 Fig. 1과 같다. 각 유전자좌는 移動速度에 따라 A, B, C 순으로 명명하였고 유전자좌의 對立遺傳子 역시 같은 요령으로 1, 2, 3 등으로 명명하였다.

1) Glutamate dehydrogenase(GDH)

보통 1개의 유전자좌에 의해 지배되는 6량체(hexamer)로 알려진 효소(Weeden과 Wendel, 1989)로, 반송의 경우 2개의 대립유전자(A₁, A₂)를 지닌 하나의 유전자좌(GDH-A)에 의해서 지배되는 것으로 추정되었다. 이 결과는 Kim과 Lee (1992)가 소나무에서 추정된 바와 동일한 유전양식을 갖는 것으로 나타났다. 잣나무 역시 하나의 유전자좌에 두개의 대립유전자가 있는 것으로 보고되었으며(Kim 등, 1994) 소나무와 같은 이엽송인 해송 역시 동일한 결과를 보였다(Lee, 1994).

2) Glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT)

보통 3-4개의 유전자에 의해 지배되는 것으로 알려진 효소(Weeden와 Wendel, 1989)로, 반송의 경우 3개의 遺傳子座(GOT-A, GOT-B, GOT-C)에 의해 지배되는 것으로 추정되는데, A지역에서는 변이가 나타나지 않았으며 B지역에서는 3개의 대립유전자, C지역에서는 2개의 대립유전

자가 관측되었다. 유전자좌 GOT-C에서는 두개의 밴드가 하나의 대립유전자인 것처럼 나타났는데, 이는 많은 침엽수류에서 보고되고 있다(Huang 등, 1994; Hussendörfer 등, 1995). 소나무 잣나무, 해송 역시 3개의 유전자좌에 의해 지배되는 것으로 보고된 바 있다(Feret 등, 1971; Kim과 Lee, 1992).

3) Isocitric dehydrogenase(IDH)

일반적으로 하나의 유전자좌에 지배되는 이량체로 알려진 효소로, 반송 역시 하나의 遺傳子座(IDH-A)에 두 개의 대립유전자가 관측되었다. 소나무 역시 하나의 유전자좌에 두개의 대립유전자가 있는 것으로 보고 되었으며 잣나무는 하나의 유전자좌에 3개의 대립유전자, 해송은 하나의 유전자좌에 하나의 대립유전자에 의해 지배되는 것으로 보고되었다(Feret 등, 1971; Kim과 Lee, 1992). 한편, 전나무속의 일부 수종은 두 개의 유전자좌가 있는 것으로 보고되었다(Hussendörfer 등, 1995).

4) Leucine aminopeptidase(LAP)

2개의 遺傳子座(LAP-A, LAP-B)가 관측되었으며 유전자좌 LAP-A에서는 null allele을 포함한 4개의 對立遺傳子가, 유전자좌 LAP-B에서는 2개의 대립유전자가 관측되었다. 소나무 역시 2개의 유전자좌가 있는 것으로 보고 되었는데(Kim과 Lee, 1992) 반송과는 달리 LAP-B 유전자좌의 경우 3개의 대립유전자가 관측되었다.

Table 4. Allele frequencies at 7 loci in *Pinus densiflora* for. *multicaulis*

	GDH-A	GOT-A	GOT-B	GOT-C	IDH-A	LAP-A	LAP-B
1	0.964	1.000	0.135	0.018	0.845	0.759	0.846
2	0.036		0.019	0.155	0.155	0.190	0.154
3			0.846			0.017	
null						0.034	

Table 5. Genetic variability at 7 loci of *Pinus densiflora* for. *multicaulis*.
(Numbers in parentheses are standard error)

Mean sample size per locus	Mean no. of alleles per locus	Percentage of loci polymorphic*	Mean heterozygosity	
			Observed	Expected**
27.7	2.3	85.7	.165	.186
(.5)	(.4)		(.057)	(.056)

* A locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed .99
 ** Unbiased estimate(Nei, 1978)

잣나무와 해송 역시 2개의 유전자좌에 의해서 지배되는 것으로 보고되고 있으며 그 외 많은 소나무류와 전나무류 역시 2개의 유전자좌에 의해서 지배되는 것으로 보고되고 있다(Huang 등, 1994; Hussendörfer 등, 1995).

2. 對立遺傳子 頻度 分布

관측된 각 同位酵素별 유전자좌의 對立遺傳子 頻도는 Table 4에 나타나 있다. GDH-A의 경우 1번 대립유전자가 主 對立遺傳子(0.964)로 나타났는데 소나무 역시 1번 대립유전자가 주 대립유전자인 것으로 보고되었다(Feret 등, 1971; Kim과 Lee, 1992). GOT-A에서는 變異가 없었으며 소나무의 경우, 보다 陽極으로 이동한 대립유전자가 나타났는데 주 대립유전자는 반송에서 관측된 band와 일치하는 것으로 보고되었다. GOT-B 遺傳子座에서는 모두 3개의 대립유전자가 발견되었으며, 3번 대립유전자가 主 對立遺傳子(0.846)인 것으로 나타났다. 소나무 역시 3번 대립유전자가 주 대립유전자인 것으로 보고되었다. GOT-C 遺傳子座에서는 2개의 대립유전자가 관측되었으며 2번 대립유전자가 주 대립유전자(0.982)로 나타났다. 소나무 역시 동일한 대립유전자가 주 대립유전자인 것으로 보고되었으며, 좀 더 陰極 쪽으로 이동한 대립유전자를 추가로 가지고 있는 것으로 보고 되었다. IDH-A 遺傳子座 역시 소나무와 동일한 결과를 나타냈는데, 2개의 대립유전자가 관측되었으며 1번 대립유전자가 주 대립유전자(0.845)인 것으로 나타났다. LAP-A 遺傳子座에서는 null type을 포함한 4개의 대립유전자가 관측되었으며 1번 대립유전자가

주 대립유전자(0.759)인 것으로 나타났으며 소나무도 동일한 결과를 갖는 것으로 보고되었다. LAP-B 遺傳子座에서는 2개의 대립유전자좌가 관측되었는데 1번 대립유전자가 주 대립유전자(0.846)인 것으로 나타났다. 소나무 역시 동일한 band가 주 대립유전자인 것으로 나타났는데, 보다 陽極으로 이동한 대립유전자를 하나 더 가지고 있는 것으로 보고되었다.

비록 본 연구에서 조사된 반송의 개체수가 충분치는 않으나 지금까지의 결과를 살펴보면 반송의 경우 조사된 모든 同位酵素에서 소나무에서는 관측되지 않는 標識因子(marker allele)를 발견할 수 없었으며, 소나무에 비해 관측되어진 대립유전자의 수는 적은 것으로 나타났다. 이는 반송이 소나무의 한 품종(forma)임을 생각할 때, 예상되는 결과이나 앞으로 보다 정밀한 조사가 따라야 할 것으로 사려된다. 즉 보다 많은 개체수를 대상으로 조사가 이루어져야 할 것이다.

3. 遺傳的 多樣性

반송의 遺傳的 多樣性을 추정한 결과(Table 5), 95% 수준에서 관측된 多型的 유전자좌의 비율(P)은 57.1%였으며, 99% 수준에서는 85.7%인 것으로 나타났다. 16개 동위효소 23개 유전자좌로부터 추진된 소나무 天然集團의 경우 80.2%(99%)인 것으로 보고되어(Kim과 Lee, 1995), 반송의 경우 좀더 높은 수치를 갖는 것으로 나타났다. 다른 소나무속 수종의 경우 곱솔은 71.3%(Kim과 Lee, 1995), 잣나무 69.0%(Kim 등, 1994), ponderosa pine은 68.4%(O'Malley 등, 1979), 리기다소나무 76.2%(Guries와 Ledig,

1982), *contorta* 소나무는 68%(Wheeler와 Guries, 1982) 등으로 같은 소나무屬 일지라도 수종에 따라 다양한 값을 보이는 것으로 나타났는데, 반송과 소나무의 경우 다른 수종에 비하여 다소 높은 수치를 나타냈다.

유전자좌 당 평균 대립유전자수는(A/L) 2.3개로 소나무의 2.4개와 유사한 결과를 보였으며 (Kim과 Lee, 1995) 해송과 잣나무의 경우 각각 2.2개인 것으로 보고된 바 있다(Kim과 Lee, 1995; Kim 등, 1994).

平均 異型接合率의 기대치(H_e)는 0.186이었으며, 관측치(H_o)는 0.165인 것으로 나타났다. 이는 소나무 집단의 0.262(H_e)와 0.258(H_o)보다는 적은 것으로 나타났다. 해송의 경우 0.212(H_e)와 0.214(H_o), 잣나무의 경우 0.208(H_e)과 0.200(H_o)인 것으로 보고되었다(Kim과 Lee, 1995; Kim 등, 1994).

이상의 결과에서 볼 때, 조사된 반송의 개체수 및 분석된 同位酵素의 수가 적기 때문에 정확한 비교는 할 수 없으나 반송의 遺傳的인 形質과 소나무의 유전적 형질 간에는 큰 차이가 없는 것으로 추정되었다. 즉 반송의 경우 형태적으로는 일반 소나무와 그 차이가 명확하나 生化學的 標識子인 동위효소 수준에서는 아직까지 그 차이를 발견할 수 없었다. 이는 조사되어진 동위효소가 반송의 외형적 특성과 연관되어 있지 않은 일부 효소로 국한되었기 때문에 나타난 결과라고 가정해 볼 수 있으나 이의 검정을 위해서는 보다 세밀한 조사가 수행되어야 할 것으로 사려된다. 즉 개체수 및 동위효소 수를 더욱 늘리고 보다 많은 多型的 遺傳子座를 찾아내 그들 간의 聯關關係를 조사하는 한편, 교배실험을 통하여 반송의 多幹性的 유전양식을 추정하고 동위효소 標識자와 이들 간의 연관관계를 조사해야 할 것이다.

반송의 遺傳變異量은 소나무나 한국에 자생하는 일반 소나무속의 다른 수종에 비해서 많지 않은 것으로 조사되었는데, 본 연구에서 조사된 4개 동위효소 가운데 GDH, GOT, IDH는 primary metabolism에 관여하는 Group-I 효소들(Bermann, 1991)로 이들은 일반적으로 secondary metabolism에 관여하는 Group-II 효소들에 비해 변이가 적다. 결국 본 조사에서 분석된 동위효소가 주로 Group-I 효소들로 편의되어 상대적인 유전변이가 적게 나온 것으로 추정해 볼 수 있으나 이 역

시 보다 많은 개체와 동위효소를 분석해 봄으로써 정확한 추정을 할 수 있을 것이다.

引用文獻

1. Bergmann, F. 1991. Isozyme gene markers. In: G. Müller-Starch and M. Ziehe (eds). Genetic variation in European populations of forest trees. pp.67-78. J.D. Sauerländers Verlag, Frankfurt am Main.
2. Feret, P.P. and G.P. Stairs. 1971. Peroxidase inheritance in Siberian elm. Forest Sci. 17: 472-475.
3. Guries, R.P. and F.T. Ledig. 1982. Genetic diversity and population structure in pitch pine(*Pinus rigida* Mill.). Evolution 36: 387-402.
4. Hamrick, J.L. and M.J.W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plant species. In: Brown, A.H.D., Clegg, M.T., Kahler, A.L. and Weir, B.S.(eds). Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources, Sinauer, Sunderland, Mass. pp.43-63.
5. Huang, Q.Q., N. Tomaru, L.H. Wang and K. Ohba. 1994. Genetic control of isozyme variation in masson pine, *Pinus massoniana* Lamb. Silvae Genet. 43: 285-292.
6. Hussendörfer, E., M. Konnert and F. Bergmann. 1995. Inheritance and linkage of isozyme variants of silver fir(*Abies alba* Mill.). Forest Genetics 2: 29-40.
7. Hwang, J.W. 1988. Studies on variation of some characteristics in *Pinus densiflora* f. *multicaulis* Uyeki. The Res. Rep. Rural Develop. Admin. 31: 441-452.
8. Kim, Z.S. and S.W. Lee. 1992. Genetic structure on natural populations of *Pinus densiflora* in Kangwon-Kyungbuk region. Kor. Jour. of Breeding 24: 48-60.
9. Kim, Z.S., S.W. Lee, J.H. Lim, J.W. Hwang and K.W. Kwon. 1994. Genetic diversity and structure of natural populations of *Pinus koraiensis*(Sieb. et Zucc.) in Korea. Forest Genetics 1: 41-49.

10. Kim, Z.S. and S.W. Lee. 1995. Genetic diversity of three native *Pinus* species in Korea. In: Ph Baradat, W.T. Adams & G. Miilleer-Starch (eds). Population genetic conservation of forest trees. pp.211-218. SPB Academic Publishing, Amsterdam, The Netherlands.
11. Lee, S.W. 1994. Genetic diversity and structure of natural populations of *Pinus thunbergii* in Korea. Ph. D. thesis. Korea University.
12. Mirov, N.T. 1967. The Genus *Pinus*. The Ronald Press Company, New York.
13. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
14. O'Malley, D.M., F.W. Allendorf and G.M. Blake. 1979. Inheritance of isozyme variation and heterozygosity in *Pinus ponderosa*. *Biochem. Genet.* 17: 233-250.
15. Poulik, M.D. 1957. Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature* 180: 144-147.
16. Swofford, D.L. and R.B. Selander. 1989. BIOSYS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1. 7. Illinois Natural History Survey.
17. Weeden, N.F. and J.F. Wendel. 1989. Genetics of plant isozymes. In: D.E. Soltis and P.S. Soltis (eds). *Isozymes in Plant Biology*. pp.46-72. Dioscorides Press, Portland, Oregon.
18. Wheeler, N.C. and R.P. Guries. 1982. Population structure, genetic diversity, and morphological variation in *Pinus contorta* Dougl. *Can. J. For. Res.* 12: 595-605.