

同位酵素分析에 의한 테다소나무(*Pinus taeda* L.) 클론의 識別¹

柳長發² · 羅千洙³

Identification of Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.) Clones through Isozyme Analysis.¹

Jang Bal Ryu² · Chun Soo Na³

要 約

테다소나무의 45 클론의 胚乳組織을 水平式 澱粉겔로 電氣泳動시켰다. 泳動후 다섯 種類(GOT, SDH, PGM, MDH, AP)의 同位酵素의 活性을 調査한 결과 11개 遺傳子座에서 각각 두개 혹은 세개의 對立遺傳子가 存在하는 것으로 밝혀졌다. 상기 遺傳子座중 열개의 遺傳子座의 遺傳子型을 비교하여 45 클론 모두를 識別할 수 있었다.

ABSTRACT

Megagametophyte tissues from seeds of 45 loblolly pine clones were subjected to horizontal starch-gel electrophoresis. The resulting gels were tested for activity of five enzyme systems (GOT, SDH, PGM, MDH, and AP). Isozymes observed were under control of 11 loci. All 45 clones could be identified with unique genotypes at above 10 loci.

Key words: isozyme, loblolly pine, clone identification.

緒 論

林木이 長期性 植物이라는 점은 林木育種의 어려움으로 흔히 지적되지만, 동시에 林木의 育種을 용이하게 해주는 長點이 되기도 한다. 왜냐하면 育種材料로 일단 확보된 材料는 長期間 利用이 可能하며, 無性繁殖에 依해 클론으로 半永久的으로 이용되면서 몇십 년만에 닥친 異狀氣候, 돌발 病害蟲 등의 영

향도 쉽게 결정될 수 있기 때문이다.

長期間 育種材料로 쓰일 林木 혹은 클론의 識別 혹은 그들에 대한 情報을 아는 것은 매우 중요하다. 挿木苗로 造林되고 있는 포플러類나, 接木苗로 栽培되는 밤나무等 有實樹는 물론, 接木苗로 造成된 clonal seed orchard에 있어서도 클론식별은 매우 필요하다.

지금까지 클론의 식별은 대개 外部 形態的, 解剖

¹ 接受 8月 10日 Received on August 10, 1987

² 大邱大 農大 林學科 Dept. Forestry, Coll. Agriculture, Taegu University

³ 山林廳 林木育種研究所 Institute of Forest Genetics

學的, 生理的 또는 生化學的으로 하고 있으나, 클론의 數가 많거나, 上記 特性들의 研究가 미비하거나 혹은 클론간의 差異가 적을 때에는, 클론의 식별이 용이하지 않다. 왜냐하면 林木의 형태적, 해부학적 형질들은 환경에 따라 변이가 심하기 때문이다. 특히 採種園을 造成할 때라든지, 遺傳的 變異가 넓은 母集團을 형성해야 될 育種의 初期段階에서는 클론식별이 더욱 중요하다.

그런데 電氣泳動法(electrophoresis)을 이용한 同位酵素(isozyme) 分析은 클론식별에 용이하게 사용될 수 있다^{5,8,16)}. 同位酵素는 遺傳子의 직접적인 환경에 따른 변이가 거의 없으므로 林木의 遺傳的 變異가 그대로 同位酵素의 變異로 나타나며(遺傳子의 變異중 一部分이 同位酵素의 變異로 나타난다) 비교적 간단한 설비로 짧은 기간에 많은 個體를 分析할 수 있기 때문이다.

특히 針葉樹의 경우는 同位酵素分析으로 遺傳子型의 추정이 용이하여, 遺傳子型의 差異에 依한 클론식별이 쉽게 될 수 있다. 왜냐하면 針葉樹의 胚乳組織은 母樹에서 온 半數體(1n) 조직이므로, 동위효소 분석결과 band 型이 단순하고, 어떤 遺傳子座에서 同型接合體인 것은 그 個體에서 채취된 種子의 모든 胚乳가 한 位置의 band 가 나타나는데 그 分離化가 1:1로 나타나기 때문이다.

同位酵素分析에 의한 클론식별은 同位酵素 研究의 初期부터 시작되었는데 Miyazaki 와 Sakai¹³⁾가 杉나무의 한 클론을 Peroxidase 로 감별한 것을 시작으로, 소나무¹⁷⁾, 스트로브갓나무⁷⁾, 대왕송⁶⁾ 등의 針葉樹와 참오동나무¹¹⁾ 등의 활엽수로 樹種도 다양해지고 分析 利用되는 同位酵素의 종류도 점차 많아지고 있다.

태다소나무는 美國 東部地域의 가장 중요한 木材 資源樹種이나, 추위에 약하여 우리나라에서는 南部 一部地域에서만 좋은 生長을 보인다^{14,15)}. 한편 이 樹種은 우리나라에서 중요한 조림수종인 리기다소나무×태다소나무¹⁰⁾ 雜種소나무의 花粉樹로서 그 중요성이 매우 높다.

태다소나무는 美國 東南部에서 매우 중요한 수종으로 이에 대한 육종이 집중적으로 이루어지고 있고 또한 이 樹種에 관한 同位酵素의 研究도 활발하다. Allozyme 의 研究²⁾, 遺傳子 相關⁴⁾, 雜種率추정을 위한 標識遺傳子로서의 利用¹⁾, 地域的 變異⁹⁾ 등과 아울러 採種園에서의 클론간 變異 및 自配率추정³⁾에 대한 研究도 있다.

同位酵素분석 결과를 클론식별에 實用化하기 위해서는 가능한한 많은 種類의 同位酵素와 많은 遺傳子座의 遺傳樣式을 밝혀두는 것이 필요하다. 더우기 앞으로 育種材料로 계속 使用될 材料의 遺傳的 構成을 밝혀두는 것은 매우 중요하므로 本 研究를 遂行하였다.

材料 및 方法

本 實驗의 材料는 全羅南道 光陽군 옥동면 추산리의 서울대학교 남부연습림에 있는 25年生 내외의 태다소나무 45 본이다. 이 나무들은 林木育種研究所에서 리기다소나무와의 雜種種子를 生産하기 위하여 조성한 것이며, 種子는 美國의 Texas, Delaware, Georgia 州 등에서 수입한 것이다.¹⁵⁾

母樹別로 채취된 種子를 沙레에서 發芽시켜 幼根이 0.5~1.0cm 정도 자란 種子의 胚乳조직을 종류수 한방울을 떨어뜨려 유리봉으로 잘 갈은 후 그 液을 흡수지(12×4mm, Toyo 50)에 흡수시켜 電氣泳動시켰다. 同位酵素 Glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT: EC 2.6.1.1), Shikimate dehydrogenase (SDH: EC 1.1.1.25) 및 Phosphoglucomutase (PGM: EC 2.7.5.1)는 Ryu 와 Na²⁰⁾의 方法으로, Malate dehydrogenase (MDH: EC 1.1.1.37)는 Ryu¹⁹⁾의 方法, Acid phosphatase (AP: EC 3.1.3.2)는 Eckert 등⁷⁾의 方法으로 泳動, 염색시켰다.

遺傳子座別 同型 혹은 異型接合體 여부를 판정하기 위하여 1개체당 여섯개의 胚乳를 分析하였다. 異型接合體로 판정된 遺傳子座別로 세 본을 선정하여 본당 40~72粒의 胚乳를 분석하여 1:1의 分離比를 χ^2 -檢定으로 確認하였다.

각 클론별로 밝혀진 遺傳子座別 遺傳子型을 비교하여 클론식별의 가능성을 검토하였다. 調査된 遺傳子座를 통하여 다른 어느 클론과도 똑같은 遺傳子型이 아닐때는 그 클론을 식별할 수 있는 것으로 판정하였다.

結果 및 考察

1. 各 同位酵素의 band 관찰, 遺傳子座와 allele (對立遺傳子)의 推定

1. GOT

세 개의 遺傳子座가 확인되었으며, 陽極쪽에서부터 GOT 1, GOT 2, GOT 3 遺傳子座로 명명하였다(그림 1, 2). GOT 1에서 염색이 가장 진하였고 GOT 2에서 가장 약하였으며, 세 개의 遺傳子座 모두 두 개씩의 allele이 있는 것으로 나타났다.

그런데 GOT 1의 allele B의 위치와 GOT 2의

allele A의 위치가 같고 GOT 2의 두 allele이 염색이 약하게 되었으므로, 두 遺傳子座間 allele의 식별이 용이치 않았으나 클론 2의 band pattern으로 보아 각기 다른 遺傳子座에 속한 allele들이라는 것이 관명되었다. 즉 調査된 45본중에서 클론 2가 유일하게 GOT 1에서 AA 同型接合體이며 동시에 G-

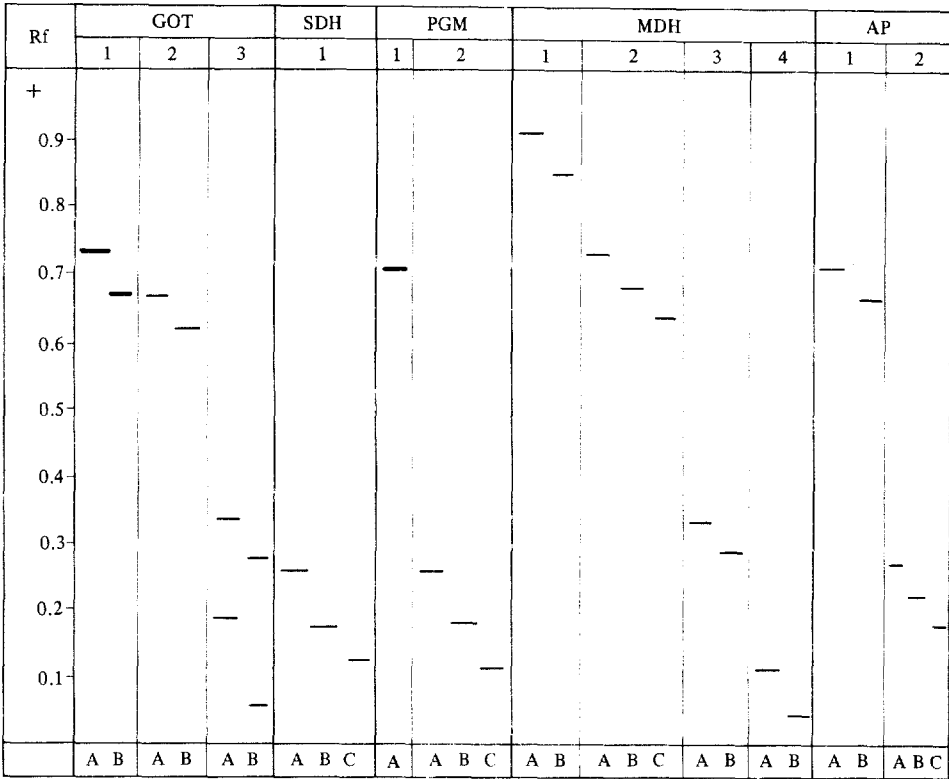


Fig. 1. Megagametophyte (1n) banding patterns and their allelic designations for 12 allozyme loci in loblolly pine.

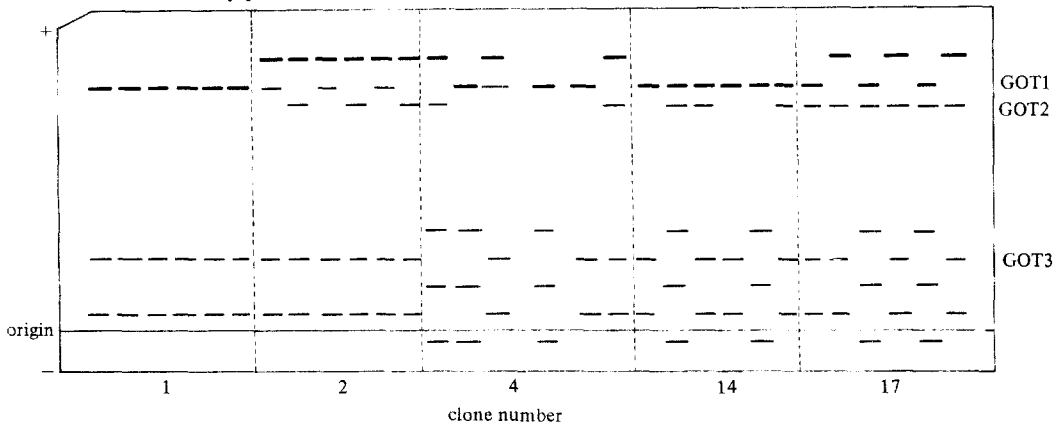


Fig. 2. Allozyme patterns of the three GOT loci from five clones. Clone 1 is homozygote at all three loci: the fastest one band is read as homozygote at GOT1 and GOT2.

OT 2에서 AB異型接合體였으므로 GOT 1의 allele B와 GOT 2의 allele A가 같은 위치에서 염색되는 것이 확인되었다. 그러므로 클론 1의 가장 陽極의 band 하나는 GOT 1의 BB同型接合體임과 동시에 GOT 2의 AA同型接合體임을 나타내는 것으로 해석할 수 있다. 따라서 GOT 2에서 클론 4와 14는 AB異型接合體, 클론 14는 BB同型接合體로 판독된다.

만일 클론 2가 없었다면, GOT 2의 판독은 포기되거나(사실 클론 2가 분석될 때까지 GOT 2의 解析은 불가능하였으므로 몇 클론은 GOT 2의 遺傳子型이 기록되지 못하였고, 따라서 클론식별에 이 遺傳子座의 遺傳子型은 이용되지 못하였다), 약하게 염색되는 하나의 allele과 酵素의 작용을 잃었거나 매우 약하여 band가 나타나지 않는 null allele로 해석될 수 밖에 없었다. 그러나 만일 null allele이라고 가정하게 되면 클론 4의 세번째 胚乳의 解析이 궁색해져서, 胚乳조직에 胚조직이 섞여 들어갔다거나, 實驗中 液의 液이 묻었다거나 등의 실험착오 혹은 염색제의 중부 등으로 해석하여야 될 것이다.

GOT 3의 allele A는 陽極쪽에 두개의 band, 陰극쪽에 한개의 band로(이 band는 電氣泳動의 시간을 연장시키면 陽極쪽으로 이동되었다) 함께 세개의 band를 보였다. 그러나 allele A의 양극쪽의 두개의 band들의 위치가 allele B의 두개의 band위치와 다르므로 양극쪽의 gel만 염색하여도 판독은 쉽게 되었다.

本 研究에서처럼 GOT 3의 二重 혹은 三重 band에 대한 보고도 더러 있다^{2,7,19}). 테다소나무의 三重 band allele은 Adams와 Joly에 의하여 이미 증명된 바 있으며²⁾ 本 研究에서도 이들 3개 band가 동시에 나타나지 않는 개체가 확인되지 않았으므로 遺傳子座의 한 allele로 판독하는 것이 무난하다고 생각된다.

이외에도 針葉樹의 GOT에 대해서 세개의 遺傳子座가 보고된 예는 더러 있으며^{1,19)}, 두개의 遺傳子座가 보고된 예도 많이 있었다. GOT가 몇개의 遺傳子座에서 生産되는지는 궁극적으로 GOT의 아미노산 배열과 이 酵素를 만드는 DNA의 염기배열이 밝혀져야 확실해질 것이다. 현재 두개 혹은 세개로 보고되는 것은 分析材料 및 전기영동 조건에 따라서 두개 혹은 세개의 遺傳子座가 있는 것으로 나타났다고 보아야 할 것이다.

2. SDH

단 한개의 遺傳子座에 세개의 allele이 있는 것으로 판독되었으며(그림 1), 클론간 變異는 매우 심하였다. 林木에서의 이 同位酵素에 대한 分析은 몇 樹種에 制限되어 있으나^{12,19,20)}, 모두 한 遺傳子座에서 세개의 allele이 보고되어, 樹種內 變異는 높으나 樹種間 變異는 매우 낮은 것으로 생각된다.

3. PGM

이 同位酵素에서는 그림 1에서 보는 바와 같이 두개의 遺傳子座가 추정되었다. 陽極쪽으로 더 많이 移動되고 염색이 진하게 된 band(PGM 1)는 變異가 없었고, PGM 2에서는 세개의 allele이 추정되었다(그림 1). PGM 2에서는 同型接合體의 염색농도가 異型接合體의 염색농도의 약 배가 되어 판독이 편리하였다.

林木에서는 특히 針葉樹의 PGM 同位酵素 分析에 대한 보고가 많은 편이다. 本 實驗과 비슷한 結果가 몇 저자들에 의하여 보고되었으며^{19,20)}, 테다소나무에서는 두개의 遺傳子座에서 두개씩의 allele이 있는 것으로 발표되었다^{2,3)}. 한개의 遺傳子座에 allele의 數에 차이가 있는 것은 實驗材料 및 實驗方法的의 差異에서도 생길 수 있다고 생각된다.

4. MDH

MDH에서는 네개의 遺傳子座에 아홉개의 allele이 있는 것으로 추정되었다. 陽極쪽에서부터 遺傳子座를 MDH 1, MDH 2, MDH 3, MDH 4로 정하면 MDH 2에서만 세개의 allele이 있었고 나머지는 모두 두개씩의 allele이 있었다(그림 1). MDH 1에서는 단 한개체가 異型接合體로 발견되어 그 變異가 작았고 MDH 3에서는 變異가 매우 컸다.

林木에 있어서의 MDH 同位酵素에 대한 報告는 적은 편이다. 테다소나무에서는 1~2개의 遺傳子座에 1~2개의 allele이 있는 것으로 보고되었다^{2,3)}. MDH는 Krebs's cycle에 관여하는 酵素로 세로질-MDH, 미토콘드리아-MDH 및 microbody-MDH로 기원도 다르고 기능도 다소 다른 酵素가 섞여 있으므로²¹⁾ 遺傳分析이 용이하지 않은 同位酵素다. 그러므로 앞으로 기원별 MDH를 분리 분석할 수 있다면 더욱 명확한 결과가 나올 것이다.

5. AP

AP에서는 두개의 遺傳子座가 추정되었는데, AP

1에서는 두개의 allele, AP 2에서는 세개의 allele 이 추정되었다(그림 1). 두 遺傳子座 모두 變異는 큰 편이었다. AP 도 林木에서 많이 報告된 酵素로써 테다소나무에서는 두개의 遺傳子座에 AP 1에서도 變異는 있으나 遺傳分析이 어려웠고 AP 2에서는 세개의 allele 이 있다고 보고되었다³⁾.

II. 推定된 allele 의 分離化 檢定

各 遺傳子座에서 異型接合體로 측정된 클론중 세 본씨의 胚乳를 본당 40~72립씩 분석하여 χ^2 -檢定을 한 결과는 표 1과 같다. 전체적으로 보면 대부분이 1:1의 分離化 기대치와 통계적 有意性이 없게 분리되었다. 그러나 PGM 2에서 세 클론 공히 AB 異型接合體의 경우 allele A가 적고 allele B가 많게 관찰되었다. 異型接合體의 경우 두 allele의 1:1의 分離化에 대한 통계적 有意性이 있었다는 보고는 다른 논문에서도 볼 수 있다^{2,7)}. 통계적 有意性이 있다고 하여 同一 遺傳子座의 allele로 추정하는 것이 틀렸다고는 할 수 없다. 즉 어느 allele에 대하여 불리한 選擇이 減數分裂時, 減數分裂後 種子生産때까지, 혹은 種子의 發芽時에 작용됨으로써 분리비가 1:1로 되지 않을 수도 있고, 표본오차로 인해 분리비가 1:1이 아닐 경우가 생길 수 있기 때문이다⁷⁾.

III. 遺傳子型 比較에 의한 클론 識別

공시재료 45 클론의 遺傳子座別 遺傳子型은 표 2와 같다. GOT 2의 遺傳子型은 밝혀지지 않은 클론들이 있어서 생략하였다. 각 클론의 遺傳子型을 比較한 결과 45 클론 모두 識別이 可能하였다.

이 결과는 조사된 遺傳子座 수와 allele의 수를 볼 때 예상된 결과이다. 왜냐하면 理論적으로 한개의 遺傳子座에 n개의 allele이 존재할 때 가능한 遺傳子型의 수는 $n(n+1)/2$ 이므로, GOT 1, GOT 3 등 두개의 allele이 있는 경우 세가지의 遺傳子型이 있고, SDH PGM2 등 세개의 allele이 있는 경우 여섯가지의 遺傳子型이 있다. 그러므로 理論적으로는 각 遺傳子座의 遺傳子型 수를 모두 곱하여 약 950,000개의 ($3 \times 3 \times 6 \times 6 \times 3 \times 6 \times 3 \times 3 \times 6$) 遺傳子型 조합이 생기므로 이 숫자만큼의 클론식별이 가능하기 때문이다. 그러나 現實적으로는 각 遺傳子座에서 allele의 頻度가 다르고 따라서 遺傳子型의 빈도도 다르므로, 나타나는 遺傳子型의 조합도

훨씬 적어서, 識別할 수 있는 클론의 수도 줄어든다.

어떤 특정클론을 確認하기 위해서 다섯종류 同位酵素 모두를 분석할 필요는 없다. 예를 들면 클론 2는 GOT 1에서 有一하게 AA 同型接合體이고, 클론 31은 PGM 2에서 有一하게 AA 同型接合體이므로, 이들 클론은 그 두가지 同位酵素의 분석만으로 確認될 수 있다. 일반적으로 異型接合率이 높은 클론의 識別이 용이한데 그 이유는 band의 수가 많기 때문이다. 그러나 調査된 열개의 遺傳子座에서 모두 同型接合體인 클론 8과 클론 22도 識別이 가능한데, MDH 3에서 클론 8은 BB 同型接合體인 반면 클론 22는 AA 同型接合體이기 때문이다.

同位酵素 분석에 의한 클론 識別의 예는 많은 편이다. Miyazaki와 Sakai¹³⁾는 杉나무의 한 클론을 Peroxidase로, Park과 Choi¹⁷⁾는 소나무 여덟 클론을 역시 Peroxidase로, Rasmuson과 Rudin¹⁸⁾은 歐洲赤松 16개 클론을 Esterase로, Lee¹¹⁾는 여덟 클론의 참오동나무를 다섯종류의 同位酵素로 識別하였다. 그러나 이상의 實驗들은 명확한 遺傳子座와 allele의 확인없이 band의 수와 위치의 차이만으로 식별한 것이다.

그후 同位酵素 분석의 발달로 각 同位酵素別로 遺傳子座와 allele의 確認을 거쳐 클론 識別이 더욱 명확하게 이루어졌다. Eckert 등⁷⁾은 스트로브갓나무의 아홉종류 同位酵素를 분석하여 35 클론중 33 클론의 識別을 하였고, Duba⁶⁾는 대왕송의 13개 同位酵素로 68분종 62본의 識別을 하였으며, Adams와 Joly³⁾는 여덟종류의 同位酵素로 50 클론중 47 클론의 識別이 가능하다고 하였다.

林學 특히 林木育種에 있어서 클론을 識別하는 것은 중요하다. 挿木苗로 造林되고 있는 포플러類나, 接木苗로 조림되는 밤나무 등 有實樹는 클론에 따라 生理的, 栽培의 특성이 크게 다르므로 클론 識別의 필요가 생긴다. 이때 形態的 識別이 어려우면 同位酵素에 의한 識別이 용이하게 이용될 수 있을 것이다. 針葉樹의 많은 클론으로 採種園을 조성할 경우에는 同位酵素에 의한 클론식별 혹은 確認의 필요성이 더욱 커질 것이다. 針葉樹는 아직 形態的 生理的 특성의 研究가 미약하고 많은 숫자의 클론을 취급하다보면 섞일 위험도 높기 때문이다. 이럴 경우 同位酵素는 클론식별에 매우 유용하게 쓰일 것이다.

同位酵素에 의한 클론 識別에도 短點은 있다. 예를 들면 고시하고자 하는 어떤 클론의 同位酵素 분석

Table 1. Observed allozyme segregation in megagametophytes of heterozygous mother trees and χ^2 -test for 1:1 ratio

Enzyme locus	Seed tree No.	Total seeds	Observed No.			χ^2	Probability
			A	B	C		
GOT1	5	62	30	32		.06	
	13	46	22	24		.09	
	43	66	27	39		2.18	
GOT2	2	72	28	44		3.56	
	21	65	40	25		3.46	
	29	55	20	35		4.09	<.05
GOT3	4	43	18	25		1.14	
	33	60	32	28		.27	
	44	52	36	16		7.69	<.01
SDH	2	68	36	32		.24	
	3	72	34	38		.22	
	7	66	36	30		.55	
	9	50		20	30	2.00	
	15	55		35	20	4.09	<.05
PGM2	4	66	18	48		13.64	<.01
	23	39	13	26		17.33	<.01
	33	63	24	39		36.57	<.01
	29	40		20	20	.00	
	35	56		40	16	10.29	<.01
MDH1	34	40	24	16		1.60	
MDH2	13	64	36	28		1.00	
	33	56	24	32		1.14	
	44	60	28		32	.27	
MDH3	24	54	24	26		.08	
	33	52	25	27		.08	
MDH4	2	49	31	18		3.45	
	20	68	36	32		.24	
	34	40	16	24		1.60	
AP1	4	60	33	27		.60	
	5	60	30	30		.00	
AP2	26	50	25	25		.00	
	28	50	25	25		.00	
	24	48		22	26	.37	
	25	62		34	28	.29	
	33	54		29	25	.15	

결과를 표 2와 比較하여 「어느 클론은 아니다」라는 것은 확실히 밝힐 수 있으나, 遺傳子型이 같다고 하여 「반드시 그 클론이다」라고는 할 수 없기 때문이다. 즉 第3의 다른 클론이 우연히 조사된 동위효

소에 대한 遺傳子型이 같을 수 있기 때문이다. 그러나 이러한 위험은 조사하는 同位酵素의 수를 늘림으로써 훨씬 감소시킬 수 있을 것이다.

Table 2. Genotypes of all 45 loblolly pine clones.

Clone	COT1		GOT3 ^a		SDH			PGM2			MDH1			MDH2			MDH3		MDH4		AP1		AP2		
	A	B	A	B	A	B	C	A	B	C	A	B	A	B	C	A	B	A	B	A	B	A	B	C	
1		I		I						I						I	I			I	I			I	
2	I			I	I	I				I			I	I		I	I	I			I			I	I
3		I		I	I	I				I			I	I		I	I	I			I			I	I
4	I	I	I	I				I	I			I	I			I	I	I			I	I			I
5	I	I	I	I						I			I	I			I	I			I	I			I
6		I		I			I			I			I	I			I	I			I				I
7		I		I	I	I				I			I	I			I				I				I
8		I		I						I			I	I			I	I			I				I
9	I	I		I			I			I			I	I			I	I			I	I			I
10		I	I	I						I			I	I			I				I	I			I
11		I	I	I	I	I				I			I	I			I				I	I			I
12	I	I		I						I			I	I			I		I						I
13	I	I	I	I						I			I	I			I	I			I				I
14	I	I	I	I				I	I				I	I			I	I			I	I			I
15	I	I		I			I	I		I			I	I			I				I				I
16	I	I		I	I					I			I	I			I	I			I	I			I
17	I	I	I	I	I	I				I			I	I			I	I			I	I			I
18		I		I						I			I	I			I	I			I	I			I
19		I		I	I	I				I		I	I			I	I			I					I
20		I		I	I	I				I			I	I			I	I		I	I				I
21		I	I	I						I			I	I			I	I			I	I			I
22		I		I						I			I	I			I				I				I
23	I	I		I					I	I			I	I			I	I			I	I			I
24	I	I	I	I						I			I	I			I				I	I			I
25	I	I		I						I			I	I			I				I				I
26		I	I	I						I			I	I			I	I			I	I			I
27		I		I	I					I			I	I			I	I			I	I			I
28		I	I	I	I	I				I			I	I			I	I			I	I			I
29		I		I			I			I			I	I			I	I		I					I
30		I		I				I	I				I	I			I				I	I			I
31		I	I	I					I				I		I		I	I			I				I
32		I		I						I			I	I			I	I			I	I			I
33		I	I	I					I	I			I	I			I	I			I	I			I
34	I	I		I						I		I	I			I	I		I		I	I			I
35		I	I	I						I			I	I			I	I			I	I			I
36	I	I	I	I			I			I			I	I			I	I			I				I
37		I		I	I	I				I			I	I			I	I			I				I
38	I	I		I	I					I			I	I			I	I			I	I			I
39		I		I	I	I				I		I	I				I	I			I	I			I
40		I		I	I	I			I				I	I			I	I			I	I			I
41		I	I	I	I	I				I			I	I			I	I			I	I			I
42		I		I	I	I				I			I	I			I	I			I	I			I
43	I	I		I	I	I				I			I	I			I	I			I	I			I
44		I	I	I	I					I			I	I			I	I			I	I			I
45	I	I		I						I			I	I			I	I			I	I			I

a: Allele A and B at this locus are of 2 bands and 3 bands respectively.
However, only one band of each allele was shown for simplicity.

REFERENCES

1. Adams, W. T. and S. Coutinho. 1977. Isozyme genetic markers useful for studies of the *Pinus rigida* x *P. taeda* hybrid, Proc. North Eastern For. Tree Imp. Conf. 25: 1-13.
2. _____ and R. J. Joly. 1980 a. Genetics of allozyme variants in loblolly pine. J. Heredity 71:33-40.
3. _____. 1980 b. Allozyme studies in loblolly pine seed orchards: clonal variation and frequency of progeny due to self-fertilization. Silvae Genetica 29: 1-4.
4. _____. 1980 C. Linkage relationships among twelve allozyme loci in loblolly pine. J. Heredity 71: 199-202.
5. Conkle, M. T. and W. T. Adams. 1977. Use of isozyme techniques in forest genetics research. Proc. North Eastern For. Tree Imp. Conf. 25: 219-226.
6. Duba, S. E. 1985. Polymorphic isoenzymes from megagametophytes and pollen of longleaf pine: characterization, inheritance, and use in analysis of genetic variation and genotype verification. Proc. Southern For. Tree Imp. Conf. 18: 88-98.
7. Eckert, R. T., R. J. Joly and D. B. Neale. 1981. Genetics of isozyme variants and linkage relationships among allozyme loci in 35 eastern white pine clones. Can. J. For. Res. 11: 573-579.
8. Feret, P. P. and F. Bergmann. 1976. Gel electrophoresis of proteins and enzymes. In Modern Methods in Forest Genetics. (ed. Miksche, J.P.) Springer-Verlag, 49-77.
9. Florence, L. Z. and G. Rink. 1980. Geographic patterns of allozymic variation in loblolly pine. Proc. Southern For. Tree Imp. Conf. 15:33-41.
10. Hyun, S. K. and K. Y. Ahn. 1959. Mass production of pitch-loblolly hybrid pine (x *Pinus rigida*) seed. Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea 1: 1-24.
11. Lee, S. K. 1983. Studies on the effects of culture media and plant hormones on tissue culture of *Paulownia tomentosa* Steud. Ph. D. thesis, Seoul National Univ. 43p.
12. Linhart, Y. B., M. L. Davis, and J. B. Mitton. 1981. Genetic control of allozymes of shikimate dehydrogenase in ponderosa pine. Biochemical Genetics 19:641-646.
13. Miyazaki, Y. and K. I. Sakai. 1969. Use of zymography for identification of a clone in *Cryptomeria japonica* D. DON. J. Jap. For. Soc. 51:235-239.
14. Park, M. H. 1984. Open-pollinated progeny test of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) growing in Gwang Yang plantation. MS. thesis. Seoul National Univ. 38p.
15. Park, M. G. 1965. Growth of *Pinus taeda* Linn. in Kwang-yang district. J. Korean For. Soc. 4: 46-53.
16. Park, Y. G. 1979. Forest genetics of isozymes. J. Korean For. Soc. 43: 74-86.
17. _____ and S. Choi. 1973. Use of zymography for identification of the same clone in a clone bank of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. J. Korean For. Soc. 18: 17-22.
18. Rasmuson, B. and D. Rudin. 1971. Variations in esterase zymogram patterns in needles of *Pinus silvestris* from provenances in northern Sweden. Silvae Genetica 20: 39-41.
19. Ryu, J. B. 1982. Genetic structure of *Pinus strobus* L. based on foliar isozymes from 27 provenances. Ph. D. thesis, University of New Hampshire. 133p.
20. _____ and C. S. Na. 1983. Isozyme analysis with foliage of four pine species. Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea 19: 15-19.
21. Ting, I. P., I. Fuhr, R. Curry and W. C. Zechoche. 1975. Malate dehydrogenase isozymes in plants: preparation, properties, and biological significance. In Isozymes II, Physiological Function (ed. Markert, C. L.) 369-384.