

한국내 조릿대의 교배계에 대한 유전학적 연구

허만규* · 노광수¹

동의대학교 분자생물학과, ¹계명대학교 생물학과

Received December 6, 2004 / Accepted January 12, 2005

Genetic Study of Mating System of *Sasa borealis* in Korea. Man Kyu Huh* and Kwang Soo Roh¹. Department of Molecular Biology, Donggeui University, Busan 614-714, Korea, ¹Department of Biology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea - *Sasa borealis* Makino is distributed in East Asia such as Korea, Fushun in China, and Japan. Especially the species is only found in the high altitude (above 600 m) at mountain of cold regions including The Korean Peninsula. The level of genetic diversity and population structure of this species was surveyed using starch gel electrophoresis at putative five enzyme loci from three natural populations in Korea. Results from twelve loci indicated that genetic diversity was low. In addition, analysis of fixation indices revealed a substantial heterozygosity deficiency in some populations and loci. The reasons for the deficit of heterozygosity may be partly considered inbreeding, small population sizes, and mating of demes. *S. borealis* can reproduce extensively by producing rhizomes and potentially by sexually produced seeds. Rhizomes are generally long, prostrate stems rooting at the nodes.

Key words – Breeding system, genetic diversity, *Sasa borealis*

화본과의 조릿대(*Sasa borealis* Makino)는 우리나라를 비롯한 일본, 사할린, 만주 등 고산지대에 분포하고, 다년생이며 근경은 여러 가닥으로 분지하며 줄기는 목질성이다. 조릿대의 엽초는 떨어지지 않고, 잎은 피침형으로 밑은 둥근형이고 가장자리는 거칠고 강모를 가지고 있다.

조릿대는 굽힘성이 일반 대나무보다 뛰어나 예전에는 죽 세공 재료로 소형 마구니, 쌀을 일거나 찜개나 들깨에서 들같은 이물질을 골라낼 때 이용하는 조리를 만드는데 쓰인다. 그런데 무분별한 채취로 유효집단이 감소하여 세대를 거듭하면서 집단이 협소해져 결국 군락이 소멸되는 등 집단 보존이 요구되나 이에 관한 연구는 거의 없다. 특히 경상남도 함안군 여항산의 경우는 지리산 군락의 1/50에 지나지 않을 만큼 사람이 근접하기 쉬운 곳으로 군락은 훼손이 심각하다. 현재 조릿대는 고산지대에 일부 산재하고 있으며 지리산이나 소백산 등 고산지대에 유효집단을 가진 큰 군락이 국한되어 분포한다.

식물 집단 유전학에서 교배계에 관한 연구는 집단의 크기, 구조 형성에 대한 근간을 제공한다[14]. 또한 교배계(mating system)는 식물집단의 유전구조와 진화적 능력을 결정하는 중요한 인자 중 하나이다[16]. 식물에서 타가수분율의 산출은 형태적 특징만으로도 가능하지만, isozyme법에 의한 유전적 분석은 형태형질의 판별에 따른 인위적 오류를 배제할 수 있어 타당도를 높일 수 있고 보다 효과적으로 정량화할 수 있다[6,14]. Allard[2]는 교배형태를 (1)자가수분, (2)타가수분, (3)인접 개체간 교배로 나눈 바 있으며, Brown[4]는 이를

보다 세분화하였다. 즉 (1)자가수분 우세(타가수분율이 0.1이하), (2)타가수분 우세(자가수분이 0.5이하), (3)혼합(자가수분+타가수분), (4)아포믹시스, (5)반수체 자가융합의 다섯 가지 모델로 구분하였다. 한편, 이런 교배 양식은 유전적 다양도와 상관성이 있으며[12], 공간과 시간에 따라 약간의 가변성이 존재하고 있음이 밝혀지고 있다[14].

교배계는 다양하며 여러 가지 요인들에 의해 약간씩 달라지기도 한다. 즉 교배계에 관여하는 해마다의 차이[17], 수분 매개자에 따른 영향[1], 집단의 크기와 밀도[5] 등 여러 요인들이 교배계에 관한 생물학적 지식의 축적에 기여하고 있다. 조릿대는 고산에 위치하므로 집단이 격리되어 있고 개체 밀도가 제한적이다. 따라서 유효 집단 크기에 이르지 못한 집단들은 결국 inbreeding 압력을 받을 것이다. 본 연구는 조릿대가 어떤 교배계를 갖고 있으며 집단크기가 작은 일부 집단에서는 inbreeding 압력에 직면하고 있는지를 조사하고자 하였다.

본 연구의 목적은 첫째, 좁은 분포를 보이는 조릿대에 대한 유전적, 생태적 특성이 거의 알려져 있지 않은 상태이므로 이들 특성에 대한 자료를 제공하고, 둘째, 생태적 제한된 분포가 교배계에 어떠한 영향을 미치며 조사한 집단의 교배율이 동일한지 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

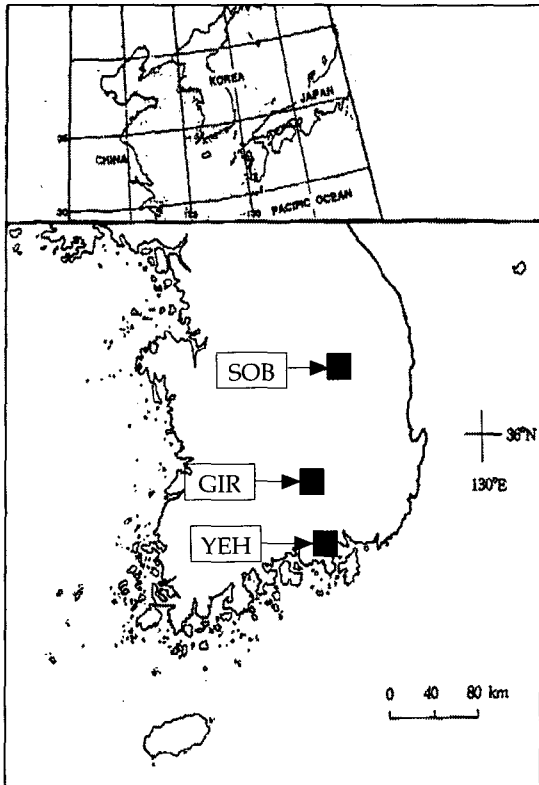
채집

조릿대(*S. borealis*)는 2002년 2월부터 2003년 8월까지 자생지에서 약 120개체를 3지역의 자생지에서 채집하였다(Fig. 1). 조릿대는 주로 영양번식에 의존하여 개체수를 늘리고 세대를 이어가므로 동일모체에서 파생된 라메트(ramet) 및 genet

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-1529, Fax : +82-51-890-1521

E-mail : mkhuh@deu.ac.kr



SOB: Mt. Sobaek, Youngpung-gun, Gyeongsangbuk-do (820 m).
 GIR: Mt. Giri, Sancheong-gun, Gyeongsangnam-do (1200 m).
 YEH: Mt. Yehang, Haman-gun, Gyeongsangnam-do (680 m).

Fig. 1. Collection localities for three populations of *Sasa borealis* as source for isozyme analysis.

를 배제하기 위해 적어도 10 m 이상 이격하여 채집하였다. 잎이 부착된 줄기의 약 20 cm조각을 저온 상태가 유지되도록 얼음주머니로 처리하여 이송하였으며, 2차 대사물의 침적을 위해 3~4일간 저온(4°C) 보관 후 실험에 사용하였다.

전기영동

각 개체에서 잎 0.5 g를 취하여 phosphate-polyvinylpyrrolidone 추출액 0.05 ml를 가하여 막자로 균질화시켰다[15]. 이것을 거즈로 비용해성 물질을 제거한 다음, 여과지에 흡수시켜 11.0~12.0% 전분 겔에 삽입하였다.

겔 제조 및 buffer시스템은 Soltis 등[19]과 Mitton 등[15]의 방법을 밴드의 강도에 따라 약간 변형하여 사용하였다. Tris-HCl buffer system에서는 약 6시간(100 V), morpholine citrate buffer system에서는 약 4시간(280 V) 전기영동 시킨 후 얇게 절단하여 효소로 염색하였다. 효소는 Peroxidase (PER, EC 1.11.1.7), 6-Phosphogluconic dehydrogenase (6PGD, EC 1.1.1.44), Malate dehydrogenase (MDH, EC 1.1.1.37), Fluorescent esterase (FE, EC 3.1.1.2), 그리고 Phosphoglucomutase (PGM, EC 2.7.5.1)이다.

각 효소시스템에서 추정되는 유전자좌위(locus)를 양극 쪽으로 보다 빠르게 이동하는 밴드 zone에 "1", 그 다음에 "2" 등으로 표시하였으며 각 유전자좌위당 대립유전자(allele)를 역시 같은 방법으로 "a", "b" 등으로 표시하였다. 복수의 대립 유전자가 공존하고 있을 때 가장 낮은 대립유전자의 빈도가 적어도 0.01 이상이면 "polymorphic", 그렇지 않을 경우, 즉 0.01을 넘는 것이 한 개밖에 없을 경우 "monomorphic"으로 규정하였으며, 그 밖에 유전적 해석은 Weeden과 Wendel [21]의 견해를 따랐다.

데이터 분석

Wright의 F -통계값으로 inbreeding 계수를 H_o/H_e 에 의거하여 산출하였다[22]. H_o 는 관찰된 이형접합체이며, H_e 는 예상된 이형접합체로서 $H_e = 1 - \sum P_i^2$ 이다(P_i 는 i 번째 대립유전자 빈도).

Multilocus mixed mating program (MLT)은 Ritland와 Jain[18]의 혼합 교배 모델에 입각하여 single locus (t_s)와 multilocus (t_m)를 산출했다. 이 모델은 (1)교배는 임의로 이루어지는 이계교배이거나 self-fertilization이고(타가수분율을 t 로 표시하면 자가수분율은 $S=1-t$), (2)타가수분의 확률은 모체 유전자형에 독립적이며, (3)타가수분을 하는 화분의 대립유전자 빈도는 동형접합성이고, (4)selection은 수분 또는 수정할 때 발생하지 않으며, (5)서로 다른 유전자좌위에서의 대립유전자는 독립적으로 분리될 것 등을 가정한다[13,14]. MLT로 Brown과 Allard[4]의 방법에 따라 개체의 타가수분율(t_m)을 평가했다. 평형상태에서 예상된 inbreeding 계수(F_e)는 Fyfe와 Bailey[10]의 산출식 $F_e = (1 - t_m)/(1 + t_m)$ 에 따랐다. 교배계에서 타가수분율(t)은 Falconer[8] 방법에 의거했다. 즉, $F_e = (1 - t)/(1 + t)$ 로 교배계가 평형에 도달하면 $F_e = F_{IS}$ 로 사용하였다.

결 과

FE를 비롯한 5개 효소시스템으로 분석한 결과, 각 효소당 많은 대립유전자좌위를 나타낸다. 전체 12개 대립유전자좌위(locus) 중 5개 대립유전자좌위($Fe-1$, $Per-2$, $Mdh-3$, $Pgm-2$, $6Pgd$)는 적어도 한 집단 이상에서 다형현상(polymorphism)을 나타내었다. 반면에 나머지 7 loci ($Fe-2$, $Per-1$, $Per-3$, $Per-4$, $Mdh-1$, $Mdh-2$, $Pgm-1$)는 monomorphism을 나타내었다. 이들 monomorphism을 나타내는 7 loci는 타가수분율 분석에는 기여하지 못하므로 데이터 처리에서 제외시켰다.

집단 당 전체 대립 유전자수는 세 집단이 모두 20 alleles를 보유하여 같았다. 다만 빈도에 있어서는 각 locus당 집단 간 차이를 나타내었다.

관찰된 이형접합체빈도는 $Mdh-3$ 에서 0.222로 가장 낮은 반면, $6Pgd$ 에서는 0.476로 2배 이상 높았으며 유의한 차이를

나타내었다(t -test, $p < 0.05$). 그러나 집단간 차이는 비록 여항산 집단이 낮지만 유의성은 없었다(Table 1).

예상된 이형접합체빈도는 관찰된 이형접합체빈도와 유사하였다. 즉, *Mdh-3*에서 0.332로 가장 낮은 반면, *6Pgd*에서는 0.545로 높았지만 다섯 대립유전자좌위간 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$). 그러나 집단간 차이는 *Fe-1* locus에서 다른 집단(소백산 집단=0.611, 지리산 집단=0.583)에 비해 여항산 집단이 낮았으며(0.290) 유의성을 나타내었다($p < 0.05$)(Table 2). 조릿대는 타가수분율이 부분적으로 이루어지므로 예상된 이형접합체빈도는 관찰된 이형접합체빈도보다 전반적으로 높았다.

조릿대 집단 분석에 유효한 대립유전자좌위는 1.499~2.225로 나타났다(Table 3). *Mdh-3* locus에서 유효한 대립유전자좌위가 가장 낮게 나타났다. 반면 *6Pgd* locus에서는 높게 나타났다. 집단별 비교에서는 소백산 집단과 지리산 집단이 높았고 여항산 집단이 낮은 그룹에 속하였다. 전반적으로 낮게 나타났다.

5개의 다형현상을 나타내는 대립유전자좌위당 Wright의 inbreeding계수는 각 locus 차이가 있지만 0.522~0.873으로 나타난다(Table 4). *6Pgd*에서 특이적으로 0.873으로 높게 나타났으며 이는 *Pgm* locus에 의한 값보다 약 40%이상 높다. 타가수분율은 전체 평균으로 *6Pgd*에서 0.124로 가장 낮았고,

*Pgm-2*에서 0.476으로 가장 높았다(Table 5). 이는 대부분 타가수분보다는 자가수분과 유사한 inbreeding이 높게 형성되고 있음을 시사한다. 전체적으로 유·무성생식에 의한 혼합 교배방식을 나타내지만 무성생식이 유성생식보다 더 우세하였다.

하디-바인베르그 평형에 있는지 chi-square 검증에서 *Fe-1* locus만 제외하고 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 6). 여항산 집단을 제외한 지리산 집단과 소백산 집단만 데이터 처리하면 하디-바인베르그 평형에 만족하였다.

고 찰

조릿대가 특정 고산 식생대 지역에 분포하는지에 대한 연구는 없지만 그 근거로서 ①유사한 다른 종의 교잡에 의한 파생, ②광범위하게 분포하는 종에서 최근 종분화로 인한 파생, ③비교적 최근에 병목현상으로 종분화, ④빙하기 이후의 피난처로서 종분화 등을 열거할 수 있다. 본 연구 결과에 의하면 유사종의 교잡에 의한 파생은 배제된다. 왜냐하면 생태적 및 형태적으로 다른 대나무속과 매우 다르기 때문이다. 예를 들면 대부분 대나무는 난대성 종으로 열대나 아열대 또는 온대의 남쪽에 분포하는데 비해 조릿대는 한대에 근접한 지역에도 분포한다. 우리나라에서 조릿대만 고산성인 반면

Table 1. Observed heterozygosity frequencies at five polymorphic loci in three Korean populations of *Sasa borealis*

Pop.	Locus				
	<i>Fe-1</i>	<i>Per-2</i>	<i>Mdh-3</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>6Pgd</i>
SOB	0.4138	0.3030	0.2667	0.1875	0.4600
GIR	0.3448	0.3750	0.2333	0.2875	0.5158
YEH	0.1801	0.2991	0.1667	0.2857	0.4500
Mean	0.3129	0.3257	0.2222	0.2530	0.4762

Table 2. Expected heterozygosity frequencies at five polymorphic loci in three Korean populations of *S. borealis*

Pop.	Locus				
	<i>Fe-1</i>	<i>Per-2</i>	<i>Mdh-3</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>6Pgd</i>
SOB	0.6153	0.4224	0.3200	0.4875	0.5478
GIR	0.5832	0.4297	0.3750	0.5172	0.6043
YEH	0.2901	0.4959	0.2994	0.4490	0.4838
Mean	0.4962	0.4493	0.3315	0.4846	0.5453

Table 3. Effective number of allele at five polymorphic loci in three Korean populations of *S. borealis*

Pop.	Locus				
	<i>Fe-1</i>	<i>Per-2</i>	<i>Mdh-3</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>6Pgd</i>
SOB	2.5997	1.7313	1.4706	1.9176	2.2114
GIR	2.3994	1.7534	1.6000	2.0713	2.5269
YEH	1.4087	1.9836	1.4274	1.8148	1.9370
Mean	2.1359	1.8228	1.4993	1.9346	2.2251

Table 4. Wright's inbreeding coefficient at five polymorphic loci in three Korean populations of *S. borealis*

Pop.	Locus				
	<i>Fe-1</i>	<i>Per-2</i>	<i>Mdh-3</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>6Pgd</i>
SOB	0.6725	0.7173	0.8334	0.3846	0.8397
GIR	0.5112	0.8727	0.6221	0.5559	0.8535
YEH	0.6208	0.6031	0.5568	0.6403	0.9301
Mean	0.6306	0.7249	0.6703	0.5221	0.8733

Table 5. Outcrossing rate for three populations of *S. borealis* by multilocus mixed mating program (MLT)

Pop.	Population				
	<i>Fe-1</i>	<i>Per-2</i>	<i>Mdh-3</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>6Pgd</i>
SOB	0.3275	0.2827	0.1666	0.6154	0.1603
GIR	0.4088	0.1273	0.3779	0.4476	0.1240
YEH	0.3792	0.3969	0.4432	0.3637	0.0699
Mean	0.3718	0.2689	0.3292	0.4756	0.1240

Table 6. Chi-square for allele frequencies of *S. borealis*.

Locus	Value	df	p
<i>Fe-1</i>	10.6158	4	$p < 0.05$
<i>Per-2</i>	3.9541	2	$p > 0.05$
<i>Mdh-3</i>	0.8673	2	$p > 0.05$
<i>Pgm-2</i>	2.0361	4	$p > 0.05$
<i>6Pgd</i>	5.1971	4	$p > 0.05$

다른 대나무류는 거의 평지나 야산에 분포한다. 다른 종에 비해 조릿대는 건조지역에 분포한다. 또한 대나무는 거의 교목에 근접할 만큼 수고가 큰 반면 조릿대는 1 m 내외이다. 따라서 다른 대나무와 격리되어 있다. 한편, 병목현상과 피난처로서의 종분화 현상은 개연성이 있다. 따라서 빙하기 이전에 대륙이 연결되었을 시기에 한국으로 이동되었는지의 여부가 불분명하긴 하지만, 국내 분포종에서 최근에 진화했다는 근거는 거의 없다.

조릿대의 Ritland and Jain[18]에 의한 타가수분율은 31.4%로 나타났다. 이는 식물 교배계 중 mixed mating model로 간주할 수 있다[3,13]. 본 연구 결과 12개 대립유전자좌위에서 타가수분율은 monomorphic locus를 제외하고는 모두 48% 이하이다. 이것은 전형적인 혼합교배계의 범위내에 있다. 특히 좁은 지역에 분포하고 있는 종은 자가수분과 집단내 교배, 소집단, 격리된 집단, 배우자수의 감소, 유전적 변이 감소, 유전적 부동의 증가, 식물의 fitness의 감소를 보인다[7]. 따라서 inbreeding의 압력이 증가하고 돌연변이가 유발될 때 환경조절에 적응하는 potential은 감소하게 된다. 조릿대의 경우 종자와 화분 분산에 대한 특별한 기작이 없어 종자의 이동이나 화분분산이 어렵지만 집단내 교배를 통한 자손의 fitness를 증가시키고 집단을 영위한다. 이런 것을 "intrinsic coadaptation"이라 한다[9].

많은 집단과 locus에서 이형접합자의 결핍은 대부분의 대립 유전자좌위가 Hardy-Weinberg 평형상태에 있으나 동형접합자가 많음을 나타내므로 Wahlund효과가 있음을 시사한다.

한편 조릿대는 영양번식의 능력이 있다. 영양번식을 통한 모체와 동일한 유전자형을 가진 자손을 형성하므로 영양번식은 조릿대가 낮은 다양도를 갖는 한 요인으로 작용한다. 그럼에도 불구하고 타가수분율은 31.4%로 나타났으며 집단마다 타가수분율의 차이가 있다. 이는 수분매개자의 역할에 의해 타가수분율이 좌우되고, 수분매개자의 활동이 적을 때 영양번식을 채택하게 될 것이기 때문이다. 물론 영양번식을 통한 ramet의 생성은 생식 전략 외에 생존전략을 구비하게 될 것이다. 즉 모체와 연결됨으로써 모체로부터 대사물질을 전달받을 수 있으며, 절벽 등에 분포하기 때문에 여러 ramet가 뿌리를 내리고 있어 고착이나 영양섭취에 서로 도움을 줄 수 있을 것이다. 결론적으로 혼합성 유·무성적 번식 전략은 제한된 지역에 살아가는데 적합한 종으로 진화하기 위한 필요 불가결한 생존전략의 요소라고 볼 수 있고, 본 연구에서는 그런 일부 종의 특성이 밝혀졌으며 앞으로 생태학적, 생리학적 연구가 더욱 필요할 것으로 사료된다.

지리산과 소백산을 제외하고는 조릿대 집단의 크기가 매우 작으며 특정한 지역에 국한된다. 본 연구에서 집단 크기와 다양도는 양의 상관관계를 보여 여러 식물에서 양의 상관관계를 보인다는 보고와 일치한다[11,20]. 이런 상관관계가 모든 종에 일률적으로 적용되는 것은 아니지만 적어도 자생지의

크기는 그 식물이 수명을 다하고 다른 개체들로 대체되어 영속할 수 있을 정도의 유효집단 크기는 되어야 한다. 그러나 복조리를 대량 판매하기 위한 과도한 채취로 자생지가 파괴되어 가고 있으므로 자생지에 대한 보존이 필요하다. 본 연구 결과에서 보는 바와 같이 다양도가 가장 높은 지역(지리산과 소백산의 두 지역)은 보존지역으로 우선 설정하여야 할 것이다.

요 약

조릿대(*S. borealis*)는 다년생 초본으로 한국, 일본, 중국의 일부에 제한적으로 분포한다. 이 종은 자가 및 타가수분에 의한 혼합번식 형태를 취한다. 전분 전기영동을 이용한 12개의 대립 유전자좌위에서 종의 교배계를 조사하였다. 교배계에서 타가 및 자가 수분, 그리고 줄기의 변형으로 영양번식이 이루어지는 매우 복잡한 혼합 방식의 교배 양식은 제한된 분포, 고산식생대 등의 환경에서 생존할 수 있는 조릿대의 생존전략과도 관련이 있을 것으로 보인다. 또한 일부 자생지 파괴에 대한 유효집단의 감소가 일어나 생물자원 확보를 위한 자생지 보존이 필요하다.

참 고 문 헌

1. Aide, T. M. 1986. The influence of wind and animal pollination on variation in outcrossing rates. *Evolution* 40, 434-435.
2. Allard, R. W. 1975. The mating system and microevolution. *Genetics* 79, 115-126.
3. Brown, A. H. D. and R. W. Allard. 1970. Estimation of mating systems in open-pollinated maize populations using: isozyme polymorphism. *Genetics* 66, 133-145.
4. Brown, A. H. D. 1990. Genetic characterization of plant mating systems. pp. 145-162, In Brown, A. H. D., M. T. Clegg, A. L. Kaher and B. S. Weir (eds.), *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*, Sinaur, Sunderland, MA.
5. Brown, A. H. D., J. J. Burdon and A. M. Jarosz. 1989. Isozyme analysis of plant mating systems. pp. 73-86, In Soltis D. F. and P. S. Soltis (eds.), *Isozyme Plant Biology*, Dioscorides Press, Portland, Oregon.
6. Brown, A. H. D. 1989. Genetic characterization of plant mating system. pp. 145-162, In Brown, A. H. D., M. T. Clegg, A. L. Kaher and B. S. Weir (eds.), *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*, Sinaur, Sunderland, MA.
7. Charlesworth, D. and B. Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Eco. and Syst.* 18, 237-268.
8. Falconer, D. S. 1981. *Introduction to Quantitative Genetics*.

- pp. 340, 2nd eds., John Wiley and Sons. New York.
9. Fisker and Mathies. 1997. Mating system and inbreeding and outbreeding depression in the rare plant. *Gentianella germanica* (Gentianaceae). *Am. J. Bot.* **84**, 1685-1692.
 10. Fyfe, J. L. and N. T. J. Bailey. 1951. Plant breeding studies in leguminous forage crops. 1. Natural cross breeding in winter beans. *J. Agri. Sci.* **41**, 371-378.
 11. Godt, M. J. W. and J. L. Hamrick. 1995. Low levels of allozyme differentiation between *Pyxidanthera texa*. *Evolution* **195**, 159-168.
 12. Hamrick, J. L., Y. B. Linhart and J. B. Mitton. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plant. *Ann. Rev. Eco. System.* **10**, 173-200.
 13. Hamrick, J. L. and M. J. W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plant species. pp. 43-63, In Brown, A. H. D., M. T. Clegg, A. L. Kaher and B. S. Weir (eds.), *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*, Sinauer Associates, Ins., Sunderland.
 14. Liengsiri, C., T. J. B. Boyle and F. C. Yeh. 1998. Mating system in *Pterocarpus macrocarpus* Kurz in Thailand. *J. Hered.* **89**, 216-221.
 15. Mitton, J. B., Y. B. Linhart, K. B. Sturgeon and J. L. Hamrick. 1979. Allozyme polymorphisms detected in mature needle tissue of *Ponderosa* pine. *J. Hered.* **70**, 86-89.
 16. Morgenstern, E. K. 1972. Preliminary estimates of inbreeding in natural populations of black spruce, *Picea mariana*. *Can. J. Bot.* **14**, 443-446.
 17. Murawski, D. A. and K. S. Bawa. 1994. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in SriLanka. *Am. J. Bot.* **81**, 155-160.
 18. Ritland, K. and S. Jain. 1981. A model of for estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n-independent loci. *Heredity* **47**, 35-52.
 19. Soltis, D. E., H. Hauser, D. C. Darrow and G. J. Gastony. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: A complication of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *Am. Fern J.* **73**, 9-27.
 20. Van Treuren, R., R. Bijlsma, W. Van Delden and N. J. Ouborg. 1991. The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in *Salvia pratensis* and *Scabiosa columbaria* in relation to population size. *Heredity* **66**, 181-189
 21. Weeden, N. F. and J. F. Wendel. 1989. Genetics of plant isozymes. pp. 46-72, In Soltis, D. E. and P. S. Soltis (eds.), *Isozymes in Plant Biology*, Dioscorides Press, Portland.
 22. Wright, S. 1965. The interpretation genetic population structure by *F*-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* **19**, 395-420.