林木群体遗传多样性和多位点遗传结构^{*}

易能君 施季森 王明庥

(南京林业大学森林遗传和基因工程开放实验室, 南京 210037)

摘要 本文评述了群体同工酶基因位点遗传结构研究中的主要度量方法及其在森林树种中的应用概况。群体遗传结构可由单位点和多位点两类参数度量。文中对这两类度量及其关系分别进行了讨论。阐明了多位点遗传结构的信息对林木改良和资源保存策略的重要意义。

关键词 群体遗传结构, 单位点度量, 多位点度量

Genetic diversity and multilocus structure in forest trees/Yi Nengjun, Shi Jisen, Wang Mingxiu//CHINESE BIODIVERSITY. —1996 4(3):153~159

The main methods to characterize population genetic structure at isozyme loci and their applications in forest trees were reviewed. The population genetic structure can be characterized by two sets of measurable parameters: single-locus measures and multilocus measures. These two sets of parameters and the relationship between them are discussed. The contribution of multilocus associations to the development of population genetic structure and its implication for genetic conservation and breeding are elucidated.

Author's address Forest Genetics and Gene Engineering Laboratory, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037

Key words Genetic structure, Single-locus measures, Multilocus measures

1 引言

回顾群体遗传结构的研究,最早是从数量性状开始的^[1-3]。这种方法的依据是数量性状往往与经济性状或具有重要生物学意义的性状有直接关系,目的是要在所有可能的环境中,产量、质量和抗病虫等特性通过表型体现出来,然后再加以控制和利用。虽然早已证实数量性状变异大部分是可以遗传的,并且还发现了大量潜伏的遗传变异,但是,数量性状受许多微效基因的控制,它们与基因之间的关系很复杂,且易受环境变异的影响。而且,从本质上讲,遗传变异在分子水平上是由基因变异引起的,因此,数量性状变异的研究不能在基因水平上对群体遗传结构有深入的了解,只有研究群体在基因水平上的变异才能本质地掌握群体遗传结构。

最理想的方法是直接观察测定 DNA 上结构基因的变异,但目前尚难做到,Hubby 和 Lewontin 指出同工酶技术是研究群体遗传变异较理想的方法,它为动植物群体遗传结构的研究打开了方便之门^[4]。目前人们已用同工酶技术对许多生物物种进行了研究。自七十年代以来,森林遗传学家在林木群体的变异和分化方面做了大量的工作^[2]。

本文主要对基于同工酶数据的群体遗传结构的分析方法及其在森林遗传学中的应用方面作一评述。

2 群体的遗传结构

生物群体的多样性水平受其生态的、生活史特性及遗传方面诸多因素的影响, 这些因素的总和即称为一个群体的遗传结构^[5], 通常可由三种参数度量: i) 平均群体遗传多样性(包括等位基因数目、杂合度、位点间基因的相互关系); ii) 群体间遗传分化度; iii) 群体间遗传距离。^[6]

Brown 等进一步把这些度量分成两大类: i) 单位点度量, 包括多态性位点的百分比、每位点的平均等位基因数目、每位点的有效基因数目、基因多样性、群体间的遗传分化度。它们在单位点平均效应水平上测量群体的遗传变异模式; ii) 多位点度量, 度量群体的连锁不平衡状态, 通常称为群体的多基因位点遗传结构。^[4,5]

在林木群体遗传结构研究中, 多位点遗传结构的研究始于八十年代, 但近年来已愈来愈受到重视^[5,7-11]。这里将单位点度量方法及其所得的结果和多位点遗传结构研究现状分述于后。

3 林木群体遗传结构的单位点度量

迄今在林木群体遗传变异的研究中, 大部分报道使用单位点度量^[12]。这些统计量中最常用的是基因多样性和亚群体间基因分化系数。第 i 位点上的基因多样性定义为 $H_i = 1 - \sum_j P_{ij}^2$, 其中 P_{ij} 为第 i 位点上第 j 等位基因的频率, m 个位点的基因多样性 $H = 1/m \sum H_i$ 。自然群体一般可以分成若干亚群, 因此就需要研究群体内和群体间的基因多样性。Nei 证得总群体的基因多样性 H_t 等于亚群体内的基因多样性 H_s 与亚群体间的基因多样性 D_{st} 之和, 即 $H_t = H_s + D_{st}$ 。因此, 亚群体间基因分化的相对量即为: $G_{st} = D_{st}/H_t = (H_t - H_s)/H_t$, 它称为基因分化系数^[3,13]。Chakraborty 提出了 G_{st} 的取样方差的一个近似公式, 这样我们就可以判别亚群体间是否有显著性的分化^[14]。基因分化系数 G_{st} 类似于 Wright 的 F 统计量, 但在概念上不同于 F 统计量, 也不同于 Cockerham 的基因频率分析^[3]。

多态性位点的百分比与每位点的平均等位基因数目在林木群体结构研究中也频繁地被采用, 它们可以提供多态性程度的大致概念, 而 Kimura 和 Crow 提出的每位点上的有效等位基因数是群体在随机交配下的期望纯合度的倒数, 它与基因多样性密切相关, 但统计性能不如前者。

基于上述单位点度量, 森林遗传学家使用同工酶技术在群体变异和分化方面做了大量工作, 已研究过群体遗传变异的树种不下 40 种, 不少作者已专题评述了这方面的研究情况^[1,2]。他们得出的一般性结论是: 林木群体具有很高的变异水平, 其变异程度比其他生物物种高得多; 林木群体的变异主要来自于亚群体内, 亚群体间的遗传分化要比其他生物低, 基因分化系数平均只有 0.07 左右, 即亚群体间的变异只占总遗传变异的 7%; 林木群体的变异水平与其地理分布或生态变幅不成正比例关系。这些研究还表明多样化选择、远交模式是林木群体遗传多样性水平和分布的重要因素, 而迁移、有效群体大小的变化和奠基者效应等非选择性的历史事件可能对群体结构的形成也起了重要作用。

不少学者研究了基因多样性的抽样性质。Nei 在 Hardy-Wenbergl 平衡和位点间相互独立的条件下, 推得了基因多样性的样本方差公式^[15,16]。Zhang 等在同样的条件下, 用二阶抽样理论推得相同的结果^[17]。最近, Weir 考虑了一般情形下基因多样性的样本方差, 发现它与连锁

不平衡系数有关^[18,19]。Gregorius 等指出了 G_{st} 在度量遗传分化时的一些弱点,提出了一个新的度量遗传分化的方法,几项研究表明用这个方法所得亚群体间的分化度比 Nei 的方法得出的要大^[20]。Long 和 Weir 分别提出了新的统计方法,但在林木群体遗传学中尚未得到应用^[21,22]。

4 多位点遗传结构

对于单位点度量方法,大多数研究结果表明林木树种同工酶位点上群体间分化程度远远小于从种源试验得到的形态特征上的分化^[5,23,24],这一结果引起了许多学者的注意。遗传资源保存和改良策略制定的一个先决条件是要对所研究树种的群体遗传结构有深入了解。单位点效应分析不能观察到位点间的交互作用,也就是说它不能观察到群体内和群体间由于位点间互作所产生的变异和分化。当把位点联合起来考虑时,不仅可以观察到单位点水平上的变异和分化,而且可以观察到位点间的互作^[11,24,25],因此,我们必须研究群体多位点遗传结构。促使人们研究多位点遗传结构的另一个理由是它有助于解决“共适应基因组”(Co-adapted gene complexes)在进化过程中的重要性这个问题,共适应基因组的存在暗含在不同的生态环境中不同位点基因间有非独立的关系,并且与地理因素相关^[5]。

分析多位点遗传结构的关键在于研究连锁不平衡。若干理论和实验研究已证实选择、漂变、迁移等进化因素可产生连锁不平衡现象,并且通过连锁不平衡分析,可以区分不同进化因素的相对重要性。Brown 指出连锁不平衡分析是现代群体遗传学的核心课题之一^[26,27]。

多位点遗传结构分析方法大体上可分为三大类:a)分别测定出各个连锁不平衡系数;b)构造一个统计量,使它综合了多位点的某些信息;c)多元分析法。下面分别介绍这些方法及其在林木遗传中的应用。

4.1 同工酶技术可以同时获得几个位点的资料因此,我们不仅可以考察同一位点不同基因间的关系,而且可以考察不同位点的基因间的关系。先看两位点的情形,假设配子数据可直接从实验得出。设 A_i, B_j 分别是位点 A, B 上的基因,它们之间的连锁不平衡系数定义为 $D_{ij} = P_{ij} - P_i P_j$,这里 P_{ij} 为配子 $A_i B_j$ 的频率, P_i 为基因 A_i 的频率, P_j 为基因 B_j 的频率。由群体遗传学理论得知,当群体达到平衡状态时, $D_{ij} = 0$,因此, D_{ij} 的值反映了群体偏离平衡状态的程度。

不难证明 D_{ij} 的极大似然估计为: $d_{ij} = p_{ij} - p_i p_j$, 这里 p_{ij}, p_i, p_j 分别为 P_{ij}, P_i, P_j 的极大似然估计,并且有:

$$E(d_{ij}) = (n-1)/n \cdot D_{ij},$$

$$V(d_{ij}) = 1/n \cdot [P_i \cdot (1-P_i) \cdot P_j(1-P_j) + (1-2P_i) \cdot (1-2P_j) \cdot D_{ij} - D_{ij}^2]$$

当样本容量 n 充分大时, $Z = [d_{ij} - E(d_{ij})] / [V(d_{ij})]^{0.5}$ 近似于 $N(0, 1)$, 这样就可检验是否有 $D_{ij} = 0$ 。

上述连锁不平衡系数称为二阶连锁不平衡系数,类似地,可以定义高阶连锁不平衡系数。Weir 研究了三阶、四阶不平衡的检验方法。目前,大多数应用研究只涉及二阶连锁不平衡分析。在近交物种群体中,已发现有显著的高阶不平衡存在^[28]。林木群体中是否存在高阶不平衡,尚待探讨。

当实验数据是个体遗传型时,除了上述配子不平衡系数外,还应考虑不同位点的不同配子上基因间的关系,因此,对两位点而言,共有五类不平衡系数,Weir 详细给出了其定义、估计及检验方法。^[19,29]

针叶树种的特殊性质使得人们可以同时获得配子(胚乳)和合子遗传型(胚)数据。这样

就可以分别考察合子库、花粉库和大配子库的连锁不平衡状态。Muona 在对欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)的三个自然群体的研究中,发现三个群体的连锁不平衡程度不同,北方群体的合子库和大配子库的连锁不平衡程度明显大于其它两个群体,而花粉库的不平衡程度基本上一样。在对这三个群体进行单位点分析时,发现群体间基因分化度 G_{st} 仅为 0.006,也就是说三个群体几乎没有分化,他们进一步推论出有效群体含量小是导致不平衡现象的主要原因,有效群体含量的降低可能是由于种子产量不平衡、部分自交及雌雄个体数目不同^[9]。Epperson 发现小干松(*P. contorta*)群体的连锁位点间存在显著连锁不平衡,并得出上位选择是连锁不平衡的主要原因^[8]。

4.2 当位点数及等位基因数很多时,连锁不平衡系数的数目相应地增多。因此,构造少数几个综合性的统计量描述群体结构是有实际意义的。Hedrick 总结了六个这样的统计量,并讨论了它们的性质。^[30]

Brown 等基于随机变量 k 定义了一种多位点结构的度量 k 的定义为从群体中随机抽取的两个配子间对应位点基因不同的位点数目^[26]。对于随机交配群体来说, k 等同于群体中平均实际杂合度。 k 的方差为:

$$V(k) = \sum h_j(1-h_j) + 2 \sum_j \sum_{l>j} \sum_i \sum_k [2P_{ji}P_{lk}D_{ik}^{jl} + (D_{ik}^{jl})^2]$$

这里 m 为所考虑的位点数目; P_{ji} 为第 j 位点上第 i 等位基因的频率; h_j 为第 j 位点的基因多样性; D_{ik}^{jl} 为第 j 位点上第 i 等位基因与第 l 位点上第 k 等位基因间的连锁不平衡系数。

因此,当假设 $H_0: V(k) = \sum h_j(1-h_j)$ 不成立时,一定有二阶连锁不平衡存在。 $V(k)$ 的样本估计量 s_k^2 的方差近似为:

$$Var[s_k^2/H_0 \text{ 真}] \approx \{\sum h_j - 7\sum h_j^2 + 12\sum h_j^3 - 6\sum h_j^4 + 2[\sum h_j - \sum h_j^2]^2\}/n$$

在 s_k^2 近似正态分布的假设下,可得置信度为 95% 的置信上限:

$$L \approx \sum h_j(1-h_j) + 2\{Var[s_k^2/H_0 \text{ 真}]\}^{0.5}$$

这样就可得多位点结构的一个度量: $X(2) = s_k^2/[\sum h_j(1-h_j)] - 1$

随机变量 k 的明显的生物学意义及 s_k^2 在计算上的简便使得 Brown 方法得到广泛的应用,但 s_k^2 等统计量的抽样分布仍然是一个值得研究的问题,另外,还应注意群体达到连锁平衡,即 $D_{ik} = 0$ (任取 j, l, i, k) 与 $V(k) = \sum h_j(1-h_j)$ 是不等价的^[26,27]; $V(k)$ 只包含二阶不平衡系数,它未提取高阶不平衡的任何信息。原则上,可以求出 k 的高阶矩,它包含高阶连锁不平衡系数,由于它的表达式太复杂,统计性质不清楚,因此,没有多少实用价值^[6]。如何构造出一种既可提取二阶不平衡信息又可提取高阶不平衡信息,从而给出群体更完整的多位点结构模式的方法是一个值得研究的问题。Brown 和 Feldman 把上述方法扩充到有若干亚群体的情形,他们把 $V(k)$ 分解为六个成分: $V(K) = MH + VH + WH + MD + WC + AI$, 其中前三个成分为单位点效应,后三个为双位点效应; MH 为亚群体的平均基因多样性, VH 为亚群体基因多样性方差, WH 为单位点 Wahlund 效应, MD 为亚群体的平均连锁不平衡, WC 为双位点 Wahlund 效应, AI 为 MD 与 AI 间的交互效应。从这个分解式可以得到单位点效应($MH + VH + WH$)和双位点效应($MD + WC + AI$)对总方差 $V(K)$ 的贡献,进一步又可得到单位点水平和双位点水平上,亚群体内和亚群体间的遗传变异程度。

Yang 和 Yeh 采用上述方法研究了小干松三个亚种(subsp. *latifolia*、subsp. *murrayana*、subsp. *contorta*)的 66 个亚群体的多位点结构,测得在所有 66 个亚群体中都存在显著的连锁不平衡,拆分 $V(k)$ 后得到双位点效应大约占 1/3。施季森和 Yeh 等及 Yeh 和 Shi 等研究了杉

木 16 个亚群的多位点结构,发现其中 15 个群体存在明显的连锁不平衡,拆分这 16 个混合群体总方差 $V(k)$ 后得到 $MH=4.086$, $VH=0.307$, $WH=-0.113$, $MD=1.092$, $WC=3.72$, $AI=0.055$, 在总方差 $V(k)=9.147$ 中,单位点效应占 47%, 双位点效应占 53%, 在双位点效应水平上, WC 较大, 因此, 亚群体间存在较大程度的分化, 这是单位点平均效应分析所不能揭示的。这表明当许多位点联合考虑时, 由于提取了连锁不平衡的信息, 群体间分化程度的估计得以提高, 群体遗传变异的分布得到了更加深入的了解。Brown 总结了三种远交物种(*Zea mays*、*Echium plantagineum*、*Pinus ponderosa*) 和两种近交物种(*Hordeum vulgare*、*H. spontaneum*) 的多位点度量 $X(2)$ 值, 结果发现近交物种的 $X(2)$ 明显大于远交物种的 $X(2)$, 这说明近交物种的连锁不平衡程度是高于远交物种的^[27]。

4.3 多元分析法

森林遗传学已广泛采用多元统计分析研究群体的遗传结构^[25]。这种方法的基本思路是把个体的同工酶数据转化成一个随机向量, 例如有三个等位基因 a、b、c 的位点有 6 种可能的遗传型 aa、ab、ac、bb、bc、cc, 它们分别对应于向量 $(1, 0)$ $(1/2, 1/2)$ $(1/2, 0)$ $(0, 1)$ $(0, 1/2)$ $(0, 0)$ 。有多个位点时, 转化方法可类似给出。这样的转化显然是一一对应的。对于配子数据(胚乳) 也有类似的转化方法。然后进行多元统计分析, 如判别分析、主成分分析、典型相关分析等。

易能君等证实了基因分化系数 G_{st} 与典型相关分析有一定内在联系, 进而指出了以往广泛采用的 G_{st} 在区分群体时的弱点, 从理论上证实了多元分析方法是研究群体遗传变异分布的有效方法^[32], 运用典型相关分析, 我们对杉木分布区内 16 个群体的 22 个同工酶基因位点数据进行了分析, 给出了杉木群体较为详细的遗传变异分布模式, 从而揭示了杉木群体间也存在较高程度的遗传分化。在小干松(*P. contorta* subsp. *latifolia*) 17 个群体的 20 个杂合酶位点的遗传分化的研究中, Yeh 等采用判别分析得出前两个判别函数的方差占总方差的 38%, 观察到了一个与地理有关的丰富的遗传变异结构, 纬度和高度都表现为很重要, 并且北方群体显示了较大程度的遗传分化, 这都与在该树种上进行的生长及形态的研究结果一致^[24]; 但在早期的两项研究中, 单位点分析仅揭示了小干松群体间微小的遗传分化(G_{st} 分别为 4%、2%)^[33,34]。Yeh 等对美国黑云杉(*Picea mariana*) 的研究也发现了类似的结果^[35]。

5 主要结论与进一步研究的方向

我们已对基于群体同工酶数据的遗传结构的分析方法及在林木树种的应用方面作了概述。可见, 单位点平均效应分析仅仅能揭示群体变异与分化的一部分, 它不能观察到由于位点间互作所产生的那部分变异与分化, 当把各位点联合起来考虑时, 既能观察到单位点上的平均效应, 又能观察到位点间的互作, 即连锁不平衡, 因此, 多位点分析有利于更深入地揭示群体的遗传结构。

近期的一些理论研究表明, 单位点度量, 如基因多样性, 实际上与连锁不平衡系数密切相关^[18,19]。这就沟通了单位点度量和多位点度量。这些理论结果有待于在林木群体中加以应用。多位点遗传结构分析起步较晚, 许多问题尚待解决, 现有的一些统计方法在理论上还存在一些问题, 需要进一步完善和发展。目前, 大部分研究只限于分析二阶连锁不平衡, 对于高阶连锁不平衡现象的程度及其对遗传结构的影响所知甚少, 因此必须研究高阶连锁不平衡在林木群体中的程度, 构造一种能提取高阶连锁不平衡信息的统计方法, 给出各群体连锁不平衡状态的完整模式。

林木群体多位点结构的信息对遗传资源的保存及改良策略的制定有重要意义,并给遗传资源保存及改良提出了新的课题。可以认为,多位点结构的阐明和配子不平衡的可能原因是鉴别树种基因的首要标志。基因组就地保存的最优抽样策略可能不同于许多单个基因的保存,单个基因保存的样本容量,可能不足以保存基因组。因此,要进一步研究出不同于单位点模型的抽样策略。在选择育种方面,假如“共适应基因组”被认为起因于广泛分布的配子不平衡性,群体再分又是引起配子不平衡的主要原因,那么从配子不平衡状态的群体中选出的优树合并到一个育种群体中,将打破这种有价值的平衡,加速了育种群体中加性基因方差的下降,进而会降低其子代的育种值。在这种情形下,遗传改良程序中采用亚群体育种具有明显的优点,可以不断地进行群体内和群体间的轮回选择,充分发掘“多点上位效应”(multiple peak epistasis)。在理论上,如把等位基因频率不同的子群体中的个体合并到一起,还会导致制定选择指数时估计亲属间遗传协方差的困难,因为遗传协方差的估计是基于配子平衡的假设,因此,即使子群体配子平衡存在,无约束指数选择法也不适用于从不同等位基因频率的亚群体中选个体杂交子代群体^[1, 27, 30]。

参 考 文 献

- 1 葛颂. 同工酶与林木群体遗传变异研究. 南京林业大学学报, 1988, **1**: 68 ~ 77
- 2 El-Kassaby Y A. Genetic variation within and among conifer populations: review and evaluation of methods. In: S Finesch(ed.), *Biochemical markers in the population genetics of forest trees*. Netherland: Hague, 1991, 61 ~ 76
- 3 Nei M. Molecular population genetics and evolution. Amsterdam: North Holland, 1975
- 4 Brown A H D, B S Weir. Measuring genetic variation in plant population. In S D Tanksley, T J Orton(eds.), *Isozyme in plant genetics and breeding*, part A, Amsterdam: Elsevier, 1983, 219 ~ 239
- 5 Yang R C, F C Yeh. Genetic consequences of *in situ* and *ex situ* conservation of forest trees. *The Forestry Chronicle*, 1992, **68**: 720 ~ 729
- 6 Brown A H D. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theor. Appl. Genet.*, 1978, **52**: 145 ~ 157
- 7 施季森, 叶志宏, F C Yeh. 杉木遗传多态性与多基因位点遗传结构. 南京林业大学学报, 1993, **17**: 9 ~ 15
- 8 Epperson B K, R W Allard. Linkage disequilibrium between allozymes in natural populations of Lodgepole Pine. *Genetics*, 1987, **115**: 341 ~ 352
- 9 Muona O, A E Szmít. A multilocus study of natural populations of *Pinus Sylvestris*. In: H R Gregorius(ed.), *Population Genetics in Forestry*. Berlin: Springer-Verlag, 1985, 241 ~ 252
- 10 Roberds J H, J V Brotschol. Linkage disequilibrium among allozyme loci in natural populations of *Liriodendron tulipifera* L. *Silvae Genet.*, 1985, **34**: 137 ~ 141
- 11 Yeh F C, J Shi, R Yang, J Hong, Z Ye. Genetic diversity and multilocus association in *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook from The People's Republic of China. *Theor. Appl. Genet.*, 1994, **88**: 465 ~ 471
- 12 葛颂. 用同工酶定量分析林木群体变异和分化的方法. 西南林学院学报, 1989, **1**: 84 ~ 90
- 13 Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. USA*, 1973, **70**: 3321 ~ 3323
- 14 Chakraborty R. A note on Nei's measure of gene diversity in a substructured population. *Humangenetik*, 1974, **21**: 85 ~ 88
- 15 Nei M. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, 1974, **76**: 379 ~ 390

- 16 Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* , 1978 ,**89** :583 ~ 590
- 17 Zhang Q F ,R W Allard. Sampling variance of the genetic diversity index. *J. Hered.* ,1986 ,**77** :54 ~ 55
- 18 Weir B S. Sampling properties of gene diversity. In : A H D Brown , M T Clegg ,A L Kahler ,B S Weir(eds.) , *Plant Population Genetics ,Breeding and Genetic Resources*. Sunderland ,Mass :Sinauer ,1989 , 23 ~ 42
- 19 Weir B S. Genetic data analysis. Sunderland ,Mass :Sinauer ,1990
- 20 Gregorius H R , J H Roberds. Measurement of genetical differentiation among subpopulations. *Theor. Appl. Genet.* ,1986 ,**71** :826 ~ 834
- 21 Long J C. The allelic correlation structure of Gainj and Kalam-speaking people. I. The estimation and interpretation of Wright 's F-statistics. *Genetics* ,1986 ,**112** :629 ~ 647
- 22 Weir B S , C C Cockerham. Estimation F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* ,1984 ,**38** : 1358 ~ 1370
- 23 Merkle S A , W T Adams. Multivariate analysis of allozyme variation patterns in coastal Douglas-fir from South-west Oregon. *Can. J. For. Res.* ,1987 ,**18** :181 ~ 187
- 24 Yeh F C , W M Cheliak ,B P Dancik , K Illingworth , D C Trust. Population differentiation in Lodgepole Pine , *Pinus contorta* subsp. *latifolia* : a discriminant analysis of allozyme variation. *Can. J. Genet. Cytol.* 1985 ,**27** : 210 ~ 218
- 25 Westfall R D , M T Conkle. Allozyme markers in breeding zone designation. *New Forests* ,1992 ,**6** :273 ~ 309
- 26 Brown A H D , M W Feldman , E Nevo. Multilocus structure of *Hordeum spontaneum*. *Genetics*. 1980 ,**96** :523 ~ 536
- 27 Brown A H D. Multilocus organization of plant populations. In : K Wohrmann ,V Loeschcke(eds.) , *Population Biology and Evolution* , Berlin :Springer-Verlag , 1984
- 28 Zhang Q F , M A Maroof , R W Allard. Worldwide pattern of multilocus structure in *Barley* determined by discrete log-linear multivariate analysis. *Theor. Appl. Genet.* , 1990 ,**80** :121 ~ 128
- 29 Weir B S. Inferences about linkage disequilibrium. *Biometrics* , 1979 ,**35** :235 ~ 254
- 30 Hedrick P W. Genetic disequilibrium measures : Proceed with caution. *Genetics* ,1987 ,**117** :331 ~ 340
- 31 Brown A H D , M W Feldman. Population structure of multilocus associations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 1981 ,**78** :5913 ~ 5916
- 32 易能君 ,施季森 ,王明麻. 林木群体遗传分化的多元分析. 南京林业大学学报 ,1995 ,**4** :7 ~ 14
- 33 Dancik B P , F C Yeh. Allozyme variability and evolution of Lodgepole Pine (*Pinus contorta* var. *latifolia*) and Jack Pine (*P. banksiana*) in Albert. *Can. J. Genet. Cytol.* , 1983 ,**25** :57 ~ 64
- 34 Yeh F C , C Layon. The organization of genetic variability in central and marginal populations of Lodgepole Pine (*Pinus contorta* subsp. *latifolia*). *Can. J. Genet. Cytol.* ,1979 ,**21** :487 ~ 503
- 35 Yeh F C , H A K khalil , Y A El-Kassaby , D C Trust. Allozyme variation in *Picea mariana* from Newfoundland : genetic diversity , population structure , and analysis of differentiation. *Can. J. For. Res.* 1986 ,**16** :713 ~ 720