

Orman genetiği ve biyoteknolojisi

Ertuğrul Filiz^{a,*}, Emrah Çiçek^b, Yıldız Aydın^c

^a Düzce Üniversitesi, Çilimli Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Düzce

^b Düzce Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü, Düzce

^c Marmara Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul

* İletişim yazarı/Corresponding author: ertugrulfiliz@gmail.com, Geliş tarihi/Received: 03.01.2011, Kabul tarihi/Accepted: 09.08.2011

Özet: Son yıllarda orman ağaçlarında yürütülen biyoteknoloji ve genomik çalışmalarının sayısı hızlı bir şekilde artmaktadır. Biyoteknolojik uygulamalardan doku kültürü ve klonal çoğaltım, genetik markörler, gen transfer teknolojileri ile genomik teknolojileri yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyoteknoloji alanında etkili ve pratik tekniklerin gelişimi ile bazı orman ağaç türlerinin genom dizilerinin tamamlanması, bu hızlı gelişim sürecinde önemli faktörlerdir. Bu teknikler ve çalışmalar, orman ağaçları ıslahı projelerine büyük katkılar sağlamıştır. Bu çalışmalar sonucunda, orman ağaçlarında yeni gen bölgelerinin bulunması, gen transferleri, genetik haritaların oluşturulması, klonal çoğaltım ve odun kalitesinin artırılması gibi gelişmeler gerçekleştirilmiştir. Özellikle orman ağaçlarında büyüme ve odun özellikleri ile ilgili genler daha ilgi çekmektedir. Kavak ağacının (*Populus trichocarpa*) genom dizilenmesiyle elde edilen yaklaşık 45.000 genden oluşan kaynak, genomik araştırmalara büyük katkı sağlamıştır. Böylece yeni gen keşifleri, QTL analizleri, genetik modifikasyonlar ve EST dizilemeleri kolaylaşmıştır. Ayrıca bu çalışmalar, özel çevresel koşullara dayanıklı ağaç türleri geliştirmeye de yardımcı olmaktadır. Bu derlemede, orman ağaçlarında biyoteknolojik ve genetik temelli teknolojilerin uygulama alanları ile bu teknolojilerin hedefleri ve sürdürülebilir ormancılık uygulamalarına katkıları değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Orman genetiği, Orman biyoteknolojisi, Ağaç ıslahı, Doku kültürü

Forest genetics and biotechnology

Abstract: The number of biotechnology and genomics studies related to forest trees has increased rapidly in recent years. Biotechnological applications of tissue culture and clonal propagation, genetic markers, gene transfer technologies and genomic technologies are widely used. Development of effective and practical techniques in the field of biotechnology and the completion of some forest tree species genome sequences are important factors in this rapid development process. These techniques and studies have made great contributions to projects of breeding of forest trees. As a result of these studies, such as found new gene regions, gene transfers, the creation of genetic maps, clonal propagation and improving the quality of wood in forest trees were carried out. Especially, genes which include growth and wood properties of forest trees are attracting more interest. Source of about 45,000 genes by sequencing of genome of poplar tree (*Populus trichocarpa*) has provided a major contribution to genomic research. Thus, new gene discovery, QTL analysis, genetic modifications and EST sequencing is easy. Moreover, these studies also help to develop a special tree species resistant to particular environmental conditions. In this review, application areas of biotechnology and genetic-based technologies in forest trees, objectives of these technologies and contributions of sustainable forestry practices were assessed.

Keywords: Forest genetics, Forest biotechnology, Tree breeding, Tissue culture

1. Giriş

Ormanlar, ekosistemimizin korunması, devamlılığı ve ekonomik girdileri nedeniyle büyük önem taşırlar. Orman ağaçları biyoteknolojisi 1980'li yıllardan itibaren gelişmeye başlamış ve ağaç fizyolojisi, ağaç ıslahı ve çoğaltımını içeren araçları kapsayacak şekilde günümüzde de gelişmeye devam etmektedir (Burdon ve Libby, 2006). Biyoteknoloji; doku kültürü teknikleri (somatik embriyogenesis, mikroçoğaltım, anter kültürü, protoplast kültürü) ile çoğaltım, DNA parmak izi çalışmaları, markör yardımıyla seleksiyon, gen seçimine dayalı seleksiyon, gen anlatımı, genetik modifikasyonlar, rekombinant DNA teknolojisi ve bunlara paralel genetik mühendisliği uygulamalarını kapsamaktadır (Wheeler, 2004). Klasik ıslah ve biyoteknoloji ortak amaçlara, uygulamalara ve prensiplere sahip olabilir. Gerek klasik ıslah çalışmalarında, gerekse

biyoteknolojik çalışmalarda orman ağacı popülasyonlarının adaptasyon yeteneklerini artırma ve istenilen özelliklerin elde edilmesi hedeflenmektedir. Klasik ıslahta çaprazlamalar genelde fenotipik gözlemlere dayanırken, biyoteknolojik çalışmalarda laboratuvar veya sera çalışmaları daha ağırlıklı olmaktadır. Orman ağaçlarındaki biyoteknolojik uygulamalar, zaman kazanımı ve masrafların azaltılması bakımından çok önemli kazançlar sağlamıştır. Örneğin genetik markörler klasik ıslah çalışmalarında seleksiyon sürecini çok hızlandırmıştır. Ayrıca doku kültürü uygulamaları da (somatik embriyogenesis, mikroçoğaltım) klonlama yöntemiyle çoğaltım işlemlerini etkili bir şekilde artırmıştır. *In vitro* çoğaltım, gen transferleri ve markör yardımıyla genetik ıslah (MAS: Marker Assisted Selection) gibi biyoteknolojik yaklaşımların orman ağaçlarındaki genetik çalışmaların ilerlemesine katkısı tarım bitkilerine olan katkılarından daha güçlüdür (Merkle ve Dean, 2000).

Ağaç ıslahı çalışmalarında, soyağacının doğrulanması, yeni nesillerin seleksiyonun etkili biçimde yapılması, ağaç popülasyonlarının genetik altyapısının ve gen fonksiyonlarının anlaşılması, var olan genetik yapının değişimi veya yeni gen transferleriyle orman ağaçlarına yararlı özelliklerin kazandırılması önem arz etmektedir.

Bu derlemede orman ağaçlarındaki genetik mühendisliği uygulamaları ve biyoteknolojik çalışmalar göz önüne alınarak, kullanılan metotlar, orman biyoteknolojisi alanındaki gelişmeler ve gelecekteki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. Ormancılıkta biyoteknoloji uygulamaları

2.1. Doku kültürü uygulamaları ve klonal çoğaltım

Diğer tarımsal türlerin aksine, orman ağaçlarındaki uzun jenerasyon süresi geleneksel ıslah için önemli bir engel oluşturmaktadır. Kontrollü çaprazlamalarda uygun ebeveynlerin kolaylıkla bulunamaması da ıslah çalışmalarına teknik zorluklar getirmektedir. Ağaç yetiştiriciliğinde en temel yöntem, klonal üretim ile genetik kaynağın korunmasıdır. Bu yolla, genetik olarak aynı özellikleri taşıyan üstün genotiplerin üretimi sağlanabilmektedir. Odunsu bitki türlerinin vejetatif olarak çoğaltımını gerçekleştirmek için çelikle çoğaltım (makro çoğaltım) ve *in vitro* (mikro) çoğaltım olmak üzere iki yöntemden söz edilebilir. Bitki doku kültürü yöntemleri, orman ağaçlarının kısa zamanda mikro çoğaltımında başarılı bir biçimde kullanılmaktadır.

Orman ağaçlarının ıslah programları, genellikle üstün genotiplerin seçilip vejetatif çoğaltımının yapılması şeklinde geliştirilmiştir. Ana bitkinin yaşına bağlı olarak köklenme potansiyelindeki azalmadan dolayı kök sürgünlerinden yararlanarak geliştirilen bu metotlar, ekonomik önemi bulunan orman ağaçları için kullanılamamaktadır (Bonga ve Von Aderkas, 1993; Çavuşoğlu, 2001). Bitki doku kültürleri, odunsu türlerde köklenme sorununun yanı sıra mevsime ve çevre şartlarına bağımlı olmayı da ortadan kaldırmaktadır (Gjuleva ve Atanasov, 1994; Çavuşoğlu, 2001). Aseptik koşullarda gerçekleştirilen bitki doku kültürlerinin bitki biyoteknolojisinde hem araştırma hem de iyileştirilmiş ürünlerin geliştirilmesi gibi önemli uygulama alanları vardır (Maliro ve Lemeck, 2004). Bitki doku kültürü, bitkilerin korunması, çoğaltılması ve genetik olarak iyileştirilmesi yanında restorasyon ekolojisi ve bozulmuş habitatların restorasyonunda da önemli bir role sahiptir (Sharma vd., 2000).

Klonal çoğaltımda kullanılan doku kültürü teknikleri, ağaç türlerine istenilen özelliklerin kazandırılmasında rutin vejetatif çoğaltım yöntemlerine bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır. Aslında hücrelerin, dokuların ve organların *in vitro* kültürleri, ağaçların geliştirilmesi ve iyileştirilmesi için eşsiz fırsatlar sunmaktadır (Kim vd., 1985). Ancak doku kültüründeki başarı en başta genotip olmak üzere kullanılan besiyeri, eksplant tipi ve kültür şartları gibi parametrelere bağlı olup her genotip için ayrı ayrı optimize edilmesi gerekmektedir.

Doku kültürü çalışmalarında, orman ağaçlarının *in vitro* üretimi için hem kapalı tohumlularda hem de açık tohumlularda organogenez ve somatik embriyogenez gibi pek çok teknik kullanılmaktadır. Orman ağaçlarında ilk doku kültürü uygulamaları 1960'lı yıllarda çalışılmaya başlanmış olup, 1990'lı yıllarda *in vitro* ortamda somatik

embriyogenez metoduna odaklanılmıştır (Merkle ve Trigiano, 1992). Somatik embriyogenez teknolojisi orman ağaçlarındaki çoğaltım hızını etkili bir şekilde artırmıştır (Gupta vd., 1993). Avrupa kestanesinde (*Castanea sativa* Mill.) yapılan somatik embriyogenez çalışmasında, tohumlardan alınan kotiledon eksplantları kullanılmıştır. Farklı besiyeri ortamlarında büyümeye bırakılan embriyoların %27.5'nin rejenerasyon sağladığı görülmüştür (Sezgin, 2009). Büyük yapraklı ıhlamur ağacının (*Tilia platyphyllos*) tohumlarından elde edilen embriyoları, farklı besiyeri ortamlarında geliştirilerek tomurcuk oluşturma yetenekleri incelenmiştir (Üçler ve Mollamehmetoğlu, 2001). Bu metotla birlikte mikroçoğaltım, anter kültürü, protoplast kültürü uygulamaları da orman biyoteknolojisi uygulamalarında kullanılmaktadır. Embriyonik kültür denemelerinde ticari öneme sahip yapraklı ve iğne yapraklı ağaçlar üretilmiştir. *Pinus taeda* ağaç türünde somatik embriyo kültürlerinin verimini artıran absisik asit, polietilen glikol ve maltozla uygulama yapılan protokoller geliştirilmiş ve patentleri alınmıştır (Li vd., 1997; Li vd., 1998; Pullman vd., 2003; Pullman vd., 2005). Protoplast kültürü de ağaç formundaki bitkiler için kullanılan *in vitro* tekniklerdendir. Wang vd. (1995) *Populus simonii* türünde yaptıkları bir çalışmada, protoplast kültüründe elde edilen kalluslarla bitki rejenerasyonu sağlamıştır. Gözükırmızı vd. (1998) *Populus tremula* türünde yaptıkları çalışmada, Türkiye'nin farklı dokuz bölgesinden toplanan kava klonlarından elde edilen eksplantları farklı besiyeri ortamlarında büyütme deneyimleri, kallus oluşumunun gerçekleşmediğini fakat mikro sürgünlerin oluştuğunu tespit ettiler. Orman ağaçlarından meşe (*Quercus robur*), kestane hibritlerinde (*Castanea sativa* x *Castanea crenata*) ve kayında (*Fagus sylvatica*) somatik embriyogenez çalışmaları yapılmıştır (Vieitez vd., 1990; Naujoks, 2003; Toribio vd., 2004). Bitki biyoteknolojisinde doku kültürü tekniğinin kullanıldığı önemli bir alan da gen transferidir. Klonal çoğaltım ile üretilen elit genotipler gen transferlerine olanak tanıyarak yeni ve gelişmiş özelliklerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Örneğin hızlı büyüyen kava klonlarına gen transferleriyle böcek ve herbisitlere karşı dirençli klonlar geliştirilmiştir (Meilan vd., 2000). Ayrıca, bir yıllık *Populus tremula* sürgünlerinden alınan tomurcuklar, MS besi ortamında kültürlenmiş ve kallus kültüründen gövdecikler (organogenez) elde edilmiş (Confalonieri vd., 2003; Peternel vd., 2009). Optimize edilmiş ve artırılmış orman verimliliği ile birlikte endüstriyel ağaçlandırmalar, odun üretimi için ana kaynak haline gelmiştir. Bu yüzden hızlandırılmış ağaç yetiştirme programları, üstün klonların yüksek oranda, ucuz ve etkili üretimi gelecekteki ticari ormanlar ve başarılı ağaçlandırmalar için anahtar rol oynayacaktır.

2.2. Genetik markörler ve gen transfer teknolojisi

Orman ağaçlarındaki genetik mühendisliği uygulamaları, aynen bitki ve hayvanlardaki gibi bir bireyden izole edilen genlerin, diğer bireye aktarılmasıyla elde edilen transgenik bir hücrenin rejenerasyonu sonucunda yeni bir bireyin elde edilmesi prensibine dayanır. Pek çok durumda genler alıcı hücreye aktarılmadan laboratuvar ortamında manipüle edilerek yeni canlıya aktarılmakta ve böylece yeni genlere sahip yakın akraba türler elde edilmektedir (Schouten vd., 2006). Pek çok orman ağacında genom

dizilerinin yapılması ve gelişen metotların yardımıyla keşfedilen gen bölgelerinin sayısı artmıştır (Tuskan vd., 2006; Grattapaglia vd., 2009). Ağaçlarda genetik mühendisliği (GM) ürünü ilk ağaç (*Populus* sp.) Wisconsin Üniversitesi'nden bir grup bilim adamı tarafından geliştirilmiştir (Fillati vd., 1987). O günden bu zamana kadar pek çok çalışma yapılmıştır. Özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde herbisite toleranslı ve böceğe dirençli ağaç türleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, ticari açıdan yaygınlaşmış bir GM ürünü ağaç türü de bulunmamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın olan virüse dayanıklı tek GM ürünü ağaç türü, kavun ağacı olarak bilinen *Carica papaya*'dır. Ayrıca soğuğa dayanıklı okaliptüs türünün ticarileşmesi için de Amerikan Tarım Bakanlığı'ndan (USDA) izin beklenmektedir. Çin'de böcek dirençli genlere (Bt) sahip kavak ağaçları yaygın olarak kullanılmaktadır. GM uygulamalarının ekonomik ve çevresel etkisi önemlidir. Herbisitlere karşı tolerans özelliği, yabancı otların kontrolünde düşük fiyat, daha etkin mücadele ve daha az enerji kullanımına olanak sağlamaktadır. GM ürünü odunların kullanılmasıyla üretilen kâğıt hamuru veya biyoyakıt için gereksinim duyulan kimyasal ve enerji miktarı daha azdır. Tuz stresine dayanıklı GM ürünü ağaçlar, fakir veya bozulmuş topraklarda büyüme olanakları bulabilmektedir.

Moleküler belirteçler, orman populasyon genetiği çalışmalarında türlerin ve populasyonların evrimsel ilişkisinin araştırılmasında, gen akışı, genetik farklılaşma ve genetik sürüklenme gibi parametrelerin tahmininde kullanılmaktadır. Ayrıca günümüzde var olan markör teknolojileri genetik çeşitlilik araştırmalarında, taksonomik ilişkilerin incelenmesinde, yerel olmayan polen göçleri ve tohum taşınmalarının tespitinde de kullanılmaktadır (Groover, 2007). Orman biyoteknolojisi uygulamalarında DNA markörleri ağaç ıslahı çalışmalarını hızlandırmıştır. Markör yardımıyla seleksiyon, tarımsal ürünlerde yoğun bir şekilde kullanılmasına rağmen ağaç ıslahında 2000'li yılların başlarında yaygınlaşmaya başlamış olup çam türlerinde ve okaliptüste yaygın olarak kullanılmaktadır (Devey vd., 2003; Yin vd., 2003; Liu vd., 2008). Markör yardımıyla seleksiyon çalışmalarına yönelik büyük laboratuvarlar dünyada hızla artmaktadır. Örneğin, Yeni Zelanda Orman Araştırma Enstitüsü'nün bünyesinde kurulan laboratuvar bu alanda Güney Yarımküre'de kurulan ilk araştırma merkezidir. Düşük fiyat maliyetiyle yapılan DNA genotip karakterizasyonları sürdürülebilir ormancılık için büyük fırsat oluşturmaktadır. Hatta gelecekte yaygınlaşması beklenen DNA mikroçip teknolojisi işleri daha da hızlandırıp, maliyetleri de azaltacaktır. Markör teknikleri arasında SSR (Simple Sequence Repeat), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ile kloroplast ve çekirdek DNA dizileri yaygın olarak kullanılmaktadır.

Gen transfer teknolojisi ile tarım bitkilerinin başı çektiği pek çok bitki türünde genetik değişimler yapılmıştır. Genetik değişimlerde doğal bir vektör olan *Agrobacterium tumefaciens* bakterisi yanında elektroporasyon ile gen transferi, polietilen glikol uygulaması ile gen transferi, mikroenjeksiyon ve biyolistik (gen silahı) metotları da kullanılmaktadır (Fromm vd., 1986; Klein vd., 1987; Nigro vd., 2008; Gao vd., 2010). Çam türlerinde ilk olarak gen transferi çalışmaları 1990'lı yıllarda başlamış ve *Pinus radiata* fidanlarına embriyonik kültür aşamasında

mikroprojektil bombardımanı ile gen transferi yapılmıştır (Walter vd., 1998; Nigro vd., 2004). Söz konusu çalışmada 4 farklı embriyonik kültür ortamında 20 farklı transformasyon denemesi yapılmış, raportör gen olarak β -glukuronidaz (GUS) kodlayan uidA geni kullanılarak 150 transgenik fidan üretilmiştir. Embriyonik kültürlerde mikroprojektil bombardıman tekniği kullanılarak yapılan transformasyon çalışmaları *Pinus mariana* (Charest vd., 1996) ve *Larix laricina* (Klimaszewska vd., 1997) ağaç türleri fidanlarında da gerçekleştirilmiş ve raportör gen olarak GUS yanında yeşil floresan protein de (GFP: Green Fluorescent Protein) kullanılmıştır. Kavakta *Agrobacterium tumefaciens* bakterisi kullanılarak transformasyon denemesi yapılmıştır (Fillati vd., 1987; Confalonieri vd., 1994; Han vd., 2000; Tang vd., 2001; Song vd., 2006).

Agrobacterium tumefaciens bakterisi kullanılarak gerçekleştirilen transformasyon tekniği, çam ve ladin türlerinde başarıyla kullanılmaktadır. GUS raportör gen ekspresyonu sonuçlarına göre *Picea abies* türünün embriyonik kültüründe *A. tumefaciens* ile yapılan transformasyon etkinliği mikroprojektil bombardımanına oranla bin kat daha etkin olduğu görülmüştür. Ayrıca, *P. taeda* embriyonik kültürlerinde etkinliğinin on kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Wenck vd., 1999). *Agrobacterium* metodu aynı zamanda *Populus* türleri ve hibritleri (Han vd., 2000; Groover vd., 2004) ile *Eucalyptus* türlerinde (Ho vd., 1998; Spokevicius vd., 2005; Nair ve Vijayalakshmi, 2010) de etkili bir biçimde kullanılmaya başlanılmıştır.

Orman ağaçlarında yapılan genetik transformasyon çalışmalarında önemli amaçlardan biri de ağaçların üreme periyotlarının hızlandırılmasıdır. Kavak türlerinde çiçeklenme süresi ortalama 8-20 yıl arasında değişmektedir. Transgenik kavak ağaçlarında bazı genlerin anlatsının gerçekleşmesiyle (LFY geni) birlikte çiçeklenme sürelerinde azalma tespit edilmiştir (Pena ve Seguin, 2001). Yapılan bazı çalışmalarda ise hormonal dengeyi kontrol eden sentetik genlerin bazı kavak türlerine transferleriyle kavak ağacının büyüme, gelişme ve odun yapısında değişiklikler tespit edilmiştir (Tuominen vd., 1995; Tuominen vd., 2000; Israelsson vd., 2003; Samuga ve Joshi, 2004).

2.3. Genomik teknolojileri

Yaklaşık son 20 yılda genomik, gen teknolojileri ve proteomik çalışmaları orman ağaçları ıslahı çalışmalarının ilerlemesine büyük katkı sağlamıştır. Özellikle yapısal genomik çalışmalarıyla ilgili bütün genomun dizilenmesi araştırmaları, yaşamın moleküler temelini ortaya çıkarılmasına olanak tanımıştır. Bitkiler alanında *Arabidopsis thaliana* türüyle başlayan komple genom dizilenmesi daha sonra ağaç türlerinden kavak ağacıyla (*Populus trichocarpa*) devam etmiştir. Komple genom dizilerinin bitirilmesi çok büyük bir bilgi kaynağı oluşturmuş, ancak herhangi bir genin fonksiyonu hakkında fikir vermemiştir. Bu gelişmelere paralel olarak fonksiyonel genomik çalışmaları başlamış ve gen bölgelerinin tespiti ve fonksiyonu sorgulanmaya başlanmıştır. Orman ağaçlarında özellikle büyüme ve odun özellikleri üzerine olan genler ilgi çekmiştir (Chaffey vd., 2002; Campbell vd., 2003; Confalonieri vd., 2003). Orman genomik çalışmaları ilk olarak kavak ve çam türlerinde ifade dizi etiketlerinin (EST: Expressed Sequence Tag) kullanılmaya başlamasıyla beraber ortaya çıkmıştır. EST dizileme hem ucuz hem de

gen bulmada etkili bit metottur. Günümüzde orman genomik çalışmalarının en önemli kaynağı, ihtiyaç duyulan bilgilendirici DNA dizileri olup *Populus trichocarpa* türünün genom dizisinin bitirilmesiyle bu ihtiyaç büyük oranla karşılanmış ve 45.000 gen barındıran bir ağaç gen havuzu oluşturmuştur (Tuskan vd., 2006). Önemli bir DNA dizi kaynağı da pek çok açık ve kapalı tohumlu ağaçlar için kullanılmaya uygun olan ve EST denilen ifade dizisi etiketleridir (<http://plantta.tigr.org>). Orman genomik çalışmaları için EST kaynakları yanında mikroaray kaynakları (Sjödén vd., 2006), proteomik kaynakları (Ferreira vd., 2006) ve gen etiketleme kaynakları da (Groover vd., 2004) bulunmaktadır. Kavak ve çam türlerinde geniş genomik kaynaklar bulunmasına rağmen diğer açık ve kapalı tohumlu ağaçlarda yapılan genom dizileme ve gen keşfi çalışmaları da hızlı bir şekilde devam etmektedir.

Orman genomu çalışmaları diğer bir önemli ihtiyaç da özel çevresel koşullara uyum kabiliyetini belirleyen gen düzenlenmelerinin tespiti ve bu genlerin allelik varyasyonlarının, fenotip farklılıklarının oluşmasındaki rolünün belirlenmesidir. Assosiyasyon genetiği bu çalışmalarda kullanılabilir (Neale ve Savolainen, 2004). Günümüzde ağaçlardaki assosiyasyon genetiği çalışmalarında aday genlerin allellerinin dizileri, tek nükleotid polimorfizm (SNP: Single Nucleotide Polymorphism) tekniği kullanılarak belirlenmektedir (Chu vd., 2009; Eckert vd., 2009; Olson vd., 2010).

Genetik haritalar, orman ağaç türlerinde odun kalitesi, lif uzunluğu ve direnç, lignin miktarı gibi sayısal karakter lokuslarının (QTL: Quantitative Trait Loci) belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (MacKay vd., 1997; Wilcox vd., 1996; Wilcox vd., 1997; Markussen vd., 2003; Devey vd., 2004). Özellikle DNA dizileme çalışmalarındaki son gelişmeler, QTL analizlerinin hızını artırmıştır. Son yıllarda QTL analizlerinin temel amaçlarından biri de büyüme ile ilgili özelliklerin belirlenmesidir (Zhang vd., 2006; Rae vd., 2008; Dillen vd., 2009). Büyüme ile ilişkili QTL analizleri önemli pek çok ağaç türünde yapılmıştır. QTL haritalamada RFLP, RAPD, AFLP ve SSR markör teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Kirst vd., 2004; Scalfi vd., 2004; Shepherd ve Jones, 2005; Pot vd., 2006).

Son yıllarda kullanılan yaygın moleküler tekniklerden biri de antisens teknolojisidir. Antisens teknolojisinde genomda mRNA'nın proteine çevrilmesini (translasyon) engelleyen oligonükleotid denilen özel diziler kullanılır. Amaç gen ifadesinin moleküler düzenlenişine engel olmaktır. Bazen de transkript olmuş RNA'nın hidrolizi amaçlanmaktadır. Yaklaşık 15–20 yıl önce de yassı solucan olan *Caenorhabditis elegans* canlısında RNAi (RNA interferens) keşfedilmiştir (Fire vd., 1998; Kim, 2001; Wei vd., 2007). Bu teknolojiye gen dizisine özgü kısa çift zincirli RNA (dsRNA) kullanılarak gen susturulur. Orman genomu çalışmaları antisens teknolojisi uygulamaları daha çok erken aşamada ve çiçeklenme zamanının baskılanmasıyla ilgili bazı araştırmalar yapılmaktadır (Meilan vd., 2001; Kalluri ve Joshi, 2004).

Orman genomu çalışmalarının önemli bir konusu da ağaçlarda karbon emisyonu sifra yakın lignoselülozik biyodizel üretimi yapmaya uygun çalışmaları gerçekleştirmektir. Temel çalışmalar karbon emilimi ve biyodizel üretimiyle ilgili genlerin mekanizmasını anlamaya yöneliktir. Ayrıca, istenilen özelliklere sahip biyodizel hammaddeli ağaçların toprak üstü odunsu dokularında CO₂

miktarını artırma ve yapısındaki bileşiklerin enzimatik reaksiyonlarla serbest bırakılmasını sağlayacak selüloz kullanılabilirliğini artırmayı kapsamaktadır (Ragauskas vd., 2006). Kavak türlerinde (*Populus* sp.) odun formasyonunu etkileyen genlerin belirlenmesine yönelik genomik çalışmalarda bulunmaktadır (Schrader vd., 2004; Djerbi vd., 2005). Lignin ve selüloz biyosentezinin biyokimyasal metabolik yolları günümüzde iyi bilinir hale gelmiş ve lignin sentezi reaksiyonlarında önemli modifikasyonlar gerçekleştirilmiştir (Li vd., 2003; Kirst vd., 2004; Park vd., 2004; Tiimonen vd., 2005).

3. Sonuç

Orman ağaçlarındaki ıslah çalışmaları büyük genom yapıları ve ağaçların üreme sürelerinin uzunluğundan dolayı yavaş ilerleyen bir süreçtir. Fakat günümüzdeki genomik teknolojilerindeki hızlı ilerleme, ıslah sürelerinin kısalmasına yardımcı olmaktadır. Özellikle fonksiyonel genomik çalışmaları (EST dizileme, gen transferleri gibi) orman ağaçlarında üstün özelliklere sahip genotiplerin oluşmasına neden olmaktadır. Bu özellikler arasında ağaç formu geliştirilmiş, lignin miktarı ve karbon tutma özelliği artırılmış, biyodizel üretimine uygun ağaçlardan bahsedebiliriz. Kavak türleriyle birliktelik oluşturan mantar türlerinin (mikoriza) genom dizileri bitirilerek daha verimli mikorizal oluşumların genomik temelleri araştırılmaktadır. Genomikle birlikte diğer bilim disiplinleriyle de ortaklıklar kurularak (ıslah, koruma genetiği, ekoloji, mikoloji gibi) genomik temelli disiplinler arası yaklaşımlar gerçekleştirilebilir. Sonuçta, klasik ormancılık anlayışından farklı olarak biyoteknolojik araçların kullanılması, ormancılık uygulamalarında verimi artıracak ve buna bağlı olarak da ekonomiye büyük katkı yapacağı açıktır. Orman biyoteknolojisi uygulamaları sonucunda; odun kalitesinde artış, hızlı büyüyen orman ağaçlarının üretimi, farklı toprak özelliklerine (tuz stresi, kuraklık stresi, ağır metal birikimi gibi) karşı dayanıklı, mantar, böcek ve herbisitlere karşı dirençli ağaçların ormancılıkta yer alması beklenmektedir.

Diğer yandan orman genomu çalışmaları yasal izin ve desteklerle birlikte toplumun desteği de önemli bir konudur. Günümüzde genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) denilen ürünlere karşı gösterilen tepki ve korkunun, orman biyoteknolojisi uygulamalarına karşı oluşması da olasıdır. Orman ağaçları, polen veya tohumlarını birkaç kilometreye kadar yayabilmektedirler (Smouse vd., 2007). Bu yüzden, GM ürünü ağaçlardan diğer GM ürünü *Medicago sativa*, *Agrotis* sp., *Beta vulgaris* gibi bitkilere gen akışı nedeniyle bir takım yasal problemler ortaya çıkmıştır (Endres ve Redick, 2008). Orman ağaçlarındaki istenmeyen gen dağılımı, GM ürünü ağaçlar konusunda yapılan çalışmalara karşı bir direncin artışına neden olmuştur (Brunner vd., 2007). Transgenik orman ağaçları polenlerinin sebze ve meyvelere bulaşma şansı bir risk olarak algılanmaktadır (Conner vd., 2003). Bazı orman ağaçlarının meyveleri beslenme açısından, bazı ağaçların çiçekleri bal üretimi açısından önemli yer tutmaktadır. Genetik mühendisliği ürünü ağaçların bu kaynakları etkileme olasılığı da ayrı bir risk olarak gözükmektedir. Bu riskler bazı yasal sınırlamalar ve sertifikasyon çalışmalarıyla aşılabilir (Nilsson, 2001).

Ülkemiz gerek ağaç türü ve gerekse bu ağaç türlerinin oluşturduğu saf ve karışık ormanlar bakımından Avrupa'ya oranla oldukça zengin bir yapı sergilemektedir (Mayer ve

Aksoy, 1986). Ülkemiz odun hammaddesi açığının kapatılmasında hızlı gelişen ağaç türlerinin taşıdığı önem de bilinen bir gerçektir. Bununla birlikte ülkemizde hızlı gelişen ağaç türleri konusunda yürütülen çalışmalar çoğunluğu yabancı türlerle ilgili olup yerli türlere gereken önemin verildiği söylenemez. Diğer taraftan son zamanlarda başta Avrupa olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde yapraklı tür orman ağaçlarının önemi artmıştır. Bu türler içerisinde, geniş orman alanları oluşturmayan ve tali tür olarak da adlandırılan yapraklı türlere, özellikle Avrupa'da, ayrı bir önem verilmektedir (Eriksson, 2001; Hemery vd., 2009). Bu önem, söz konusu türlerin çok değerli odunlara sahip olmaları, hızlı gelişme yetenekleri, çevresel değişimlere dirençli olmaları, biyolojik çeşitliliğe katkıları, ekolojik ve biyolojik değerleri, ormanlarda az miktarda bulunmaları, varlıklarının azalmış olması ve sürekliliklerinin sağlanması vb. nedenlere dayanmaktadır. Bu bağlamda, modern ıslah çalışmalarının özellikle hızlı gelişen yerli yapraklı türler (*Castanea sativa*, *Prunus avium*, *Platanus orientalis*, *Juglans regia*, *Pterokarya fraxinifolia*, *Populus tremula*, *P. alba*, *P. nigra*, *Salix* sp., *Alnus* sp., *Tilia* sp., *Fraxinus* sp., *Acer* sp., *Sorbus* sp., *Ulmus* sp., vb.) üzerine yoğunlaştırılması uygun bir yaklaşım olacaktır. Nitekim birim alandaki odun üretiminin artırılması ve biyotik-abiyotik zararlılara karşı dayanıklı orman ağacı ırklarının geliştirilmesi amacıyla hızlı gelişen yerli orman ağacı türlerinde geleneksel ıslah ile modern biyoteknolojik yöntemlerin birlikte kullanılması TÜBİTAK Tarım Ormanlık ve Veterinerlik Araştırma Grubu'nun öncelikli araştırma konuları arasındadır (TÜBİTAK, 2011).

Sonuç olarak, ülkemiz orman genetik kaynaklarının korunması ve orman ağaçlarımızın ıslahı sürdürülebilir ormancılık için hayati bir öneme sahiptir. Bu konuda orman genomu ve biyoteknolojisi bizlere büyük fırsatlar sunmaktadır. Bu yüzden söz konusu teknolojiler çok iyi kullanılarak zengin orman kaynaklarımız değerlendirilmelidir. Özellikle de biyoteknoloji konusunda donanımlı eleman eksikliğinin giderilmesi ve kapsamlı projelerin oluşturulması için gerekli altyapıların hızla kurulması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Bonga, J.M., Von Aderkas, P. 1993. Rejuvenation of tissues from mature conifers and its implications for clonal propagation *in vitro* In Clonal Forestry: Genetics, Biotechnology and Application, Eds. M.R. Ahuja and W.J. Libby. Springer Verlag, New York, pp. 182-199.
- Brunner, A.M., Li, J., DiFazio, P.S., Shevchenko, O., Montgomery, B.E., Mohamed, R., Wei, H., Ma, C., Elias, A.A., VanWormer, K., Strauss, S.H. 2007. Genetic containment of forest plantations, *Tree Gen. Genom.*, 3(2):75-100.
- Burdon, R.D., Libby W.J. 2006. Genetically Modified Forests: From Stone Age to Modern Biotechnology, *Forest History Society, Durham*, 79 p.
- Campbell, M.M., Brunner M.A, Jones, H.M., Strauss, S.H. 2003. Forestry's fertile crescent: the application of biotechnology to forest trees, *Plant Biotech. J.*, 1: 141-154.
- Chaffey, N., Cholewa, E., Regan, S., Sundberg, B. 2002. Secondary xylem development in Arabidopsis: a model for wood formation, *Physiol. Plant.*, 114 (4): 594-600.
- Charest, P.J., Devantier, Y., Lachance, D. 1996. Stable genetic transformation of *Picea mariana* (Black Spruce) via particle bombardment, *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.*, 32(2): 91-99.
- Chu, Y., Su, X., Huang, Q., Zhang, X. 2009. Patterns of DNA sequence variation at candidate gene loci in black poplar (*Populus nigra* L.) as revealed by single nucleotide polymorphisms, *Genetica*, 137:141-150.
- Confalonieri, M., Balestrazzi, A., Bisoffi, S. 1994. Genetic transformation of *Populus nigra* by *Agrobacterium tumefaciens*, *Plant Cell Reports*, Volume 13, Number 5, 256-261.
- Confalonieri, M., Balestrazzi, A., Bisoffi, S., Carbonera, D. 2003. *In vitro* culture and genetic engineering of *Populus* spp.: synergy for forest tree improvement, *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 72(2): 109-138.
- Conner, A.J., Glare, T.R., Nap, J.P. 2003. The release of genetically modified crops into the environment, Part II, Overview of ecological risk assessment, *The Plant J.*, 33(1): 19-46.
- Çavuşoğlu, A., 2001. Kavak (*Populus* ssp.) Doku Kültürü Sistemlerinin Kurulması ve Somatik Embriyogenez, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 72 s.
- Devey, M.E., Carson, S.D., Nolan, M.F., Matheson, A.C., Te Riini, C., Hohepa, J. 2003. QTL associations for density and diameter in *Pinus radiata* and the potential for marker-aided selection, *Theor. Appl. Genet.*, 108(3): 516-524.
- Devey M.E., Groom K.A., Nolan M.F., Bell J.C., Dudzinski M.J., Old K.M., Matheson A.C., Moran G.F. 2004. Detection and verification of quantitative trait loci for resistance to *Dothistroma* needle blight in *Pinus radiata*, *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 1056-1063.
- Dillen, S.Y., Storme, V., Marron, N., Bastien, C., Neyrinck, S., Steenackers, M., Ceulemans, R., Boerjan, W. 2009. Genomic regions involved in productivity of two interspecific poplar families in Europe, *Tree Gen. & Genom.*, 5: 147-164.
- Djerbi, S., Lindskog, M., Arvestad, L., Sterky, F., Teeri, T.T. 2005. The genome sequence of black cottonwood (*Populus trichocarpa*) reveals 18 conserved cellulose synthase (CesA) genes, *Planta*, 221: 739-746.
- Eckert, A.J., Pande, B., Ersoz, E.S., Wright, M.H., Rashbrook, V.K., Nicolet, C.M., Neale, D.B. 2009. High-throughput genotyping and mapping of single nucleotide polymorphisms in loblolly pine (*Pinus taeda* L.), *Tree Genetics & Genomes*, 5:225-234.
- Endres, A.B., Redick, T.P., 2008. NEPA and the economic impacts of biotechnology on the food-feed supply chain, *Biotech Briefing*, 5(1).
- Eriksson, G. 2001. Conservation of noble hardwoods in Europe, *Can. J. For. Res.*, 31(4): 577-587.
- Ferreira, S., Hjerno, K., Larsen, M., Wingsle, G., Larsen, P., Fey, S., Roepstorff, P., Pais, M.S. 2006. Proteome Profiling of *Populus euphratica* Oliv. upon heat stress, *Ann. Bot.*, 98: 361-377.
- Fillatti J.J., Sellmer J., McCown B., Haissig B., Comai L. 1987. *Agrobacterium* mediated transformation and regeneration of *Populus*, *Mol. Gen. Genet.*, 206:192-199.
- Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E., Mello, C.C. 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*, *Nature*, 391: 806-811.
- Fromm, M.E, Taylor, L.P., Walbot, V. 1986. Stable transformation of maize after gene transfer by electroporation, *Nature*, 319: 791-793.
- Gao, M., Kawabe, M., Tsukamoto, T., Hanada, H., Tao, R. 2010. Somatic embryogenesis and *Agrobacterium*-mediated transformation of Japanese apricot (*Prunus mume*) using immature cotyledons, *Scientia Horticulturae*, 124- 360-367.

- Gjuleva, V., Atanassov, A. 1994. Micropropagation of *Platanus acerifolia* in vitro, Sil. Genet., 43(4), 215-218.
- Gözükırmızı, N., Bajrović, K., İpekçi, Z., Boydak, M., Akalp, T., Tunçtaner, K., Balkan, H., Tanrıyar, H., Çalıkoğlu, M., Oğraş, T., Özden, Ö., Tulukçu, M., Tank, T. 1998. Genotype Differences in Direct Plant Regeneration from Stem Explants of *Populus tremula* in Turkey, J. For. Res., 3, 123-126.
- Grattapaglia, D., Plomion, C., Kirst M., Sederoff, R.R. 2009. Genomics of growth traits in forest trees, Curr. Opin. Plant Biol., 12(2):148-156.
- Groover, A. T. 2007. Will genomics guide a greener forest biotech? Trends in Plant Sci., 12(6) 234-238.
- Groover, A.T., Fontana J.R., Dupper, G., Ma, C., Martienssen, R., Strauss, S., Meilan, R. 2004. Gene and enhancer trap tagging of vascular-expressed genes in poplar trees, Plant Physiol., 134:1742-1751.
- Gupta, P.K., Pullman, G., Timmis, R., Kritinger, H., Carlson, W.C., Grob, J., Welty, E. 1993. Forestry in the 21st century: the biotechnology of somatic embryogenesis, Biotech., 11: 454-459.
- Han, K.H., Meilan, R., Ma, C., Strauss, S.H. 2000. An *Agrobacterium* transformation protocol effective on a variety of cottonwood hybrids (genus *Populus*), Plant Cell Rep., 19: 315-320.
- Hemery, G. E., Clark, J. R., Aldinger, E., Claessens, H., Malvolti, M. E., O'connor, E., Raftoyannis, Y., Savill, P.S., Brus, R. 2009. Growing scattered broadleaved tree species in Europe in a changing climate: a review of risks and opportunities, Forestry, 83(1): 65-81.
- Ho, C.K., Chang, S.H., Tsay, J.Y., Tsai, C.J., Chiang, V.L., Chen Z.Z. 1998. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Eucalyptus camaldulensis* and production of transgenic plants, Plant Cell Rep., 17(9): 675-680.
- Israelsson, M., Eriksson, M.E., Hertzberg, M., Aspeborg, H., Nilsson, P., Moritz, T. 2003. Changes in gene expression in the wood-forming tissue of transgenic hybrid aspen with increased secondary growth, Plant Molecular Biology, 52: 893-903.
- Kalluri, U.C., Joshi, C.P. 2004. Differential expression patterns of two cellulose synthase genes are associated with primary and secondary cell wall development in aspen trees, Planta, 220: 47-55.
- Kim, H., Patel, K.R., Thorpe, T.A. 1985. Regeneration of mulberry plantlets through tissue culture, Bot. Gaz., 146, 335-340.
- Kim, S.K., 2001. Functional genomics: the worm scores a knockout, Current Biol., 11: 85-87.
- Kirst M., Myburg, A.A., Kirst M.E., Scott J., Sederoff R. 2004. Coordinated genetic regulation of growth and lignin revealed by quantitative trait locus analysis of cDNA microarray data in an interspecific backcross of eucalyptus, Plant Physiol, 135:2368-2378.
- Kirst, M., Myburg, A., Sederoff, R.R., 2004. Genetic mapping in forest trees: markers, linkage analysis and genomics, Genet. Eng., 24: 105-141.
- Klein, T.M., Wolf, E.D., Wu, R., Sanford, J.C. 1987. High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells, Nature, 327: 70-73.
- Klimaszewska, K., Devantier, Y., Lachance, D., Lelu, M.A., Charest, P.J. 1997. *Larix laricina* (tamarack) somatic embryogenesis and genetic trans-formation, Can. J. For. Res., 27: 538-550.
- Li, L., Zhou, Y., Cheng, X., Sun, J., Marita, J.M., Ralph, J., Chiang, V.L., 2003. Combinatorial modification of multiple lignin traits in trees through multigene cotransformation, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100: 4939-4944.
- Li, X.Y., Huang, F.H., Gbur, E.E. 1997. Polyethylene glycol-promoted development of somatic embryos of loblolly pine (*Pinus taeda* L.), In Vitro Cell. Dev. Bio. Plant, 33:184-189.
- Li, X.Y., Huang, F.H., Gbur, E.E. 1998. Effect of basal medium, growth regulators ve Phytigel concentration on initiation of embryogenic cultures from immature zygotic embryos of loblolly pine (*Pinus taeda* L.), Plant Cell Rep., 17:298-301.
- Liu, J.J., Ekramoddoullah A.K.M. 2008. Development of leucine-rich repeat polymorphism, amplified fragment length polymorphism, and sequence characterized amplified region markers to the Cronartium ribicola resistance gene Cr2 in western white pine (*Pinus monticola*), Tree Genetics & Genomes, 4:601-610.
- MacKay, J.J., O'Malley, D.M., Presnell, T., Booker, F.L., Campbell, M.M., Whetten, R.W., Sederoff, R.R. 1997. Inheritance, gene expression, and lignin characterization in a mutant pine deficient in cinnamyl alcohol dehydrogenase, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94: 8255-8260.
- Maliro M.F.A., Lameck, G. 2004. Potential of cassava flour as a gelling agent in media for plant tissue cultures, African J. Biotech., 3(4): 244-247.
- Markussen T, Fladung M, Achere V, Favre JM, Faivre-Rampant P, Aragonés A, Pérez DD, Harvengt L, Espinel S, Ritter E. 2003. Identification of QTLs controlling growth, chemical and physical wood property traits in *Pinus pinaster* (Ait.), Silvae Genetica 52, 8-15.
- Mayer, H., Aksoy, H. 1986. Walder der Türkei, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Meilan, R., Brunner, A.M., Skinner, J.S., Strauss, S.H. 2001. Modification of flowering in transgenic trees. In: N. Morohoshi and A. Komamine (Eds.), Molecular Breeding of Woody Plants, Elsevier Science B.V, pp. 247-256.
- Meilan, R., Ma, C., Cheng, S., Eaton, J.A., Miller, L.K., Crockett, R.P., DiFazio, S.P., Strauss, S.H. 2000. High Levels of Roundup and leaf beetle resistance in genetically Engineered hybrid cottonwoods In: K.A. Blatner, J.D. Johnson, and D.M. Baumgartner, eds., Hybrid Poplars in the Pacific Northwest: Culture, Commerce and Capability, Washington State University Cooperative Extension Bulletin MISCO272, Pullman, WA. pp. 29-38.
- Merkle, S.A., Dean F.D. 2000. Forest tree biotechnology, Current Opinion in Biotech., 11: 298-302.
- Merkle, S. A., Trigiano, R. N. 1992. *In vitro* propagation of hardwoods Applications of vegetative propagation in forestry, Proceedings of the 1992 SRIEG Biennial Symposium on Forest Genetics, Huntsville, AL. USDA Forest Service Southern Forest Experiment Station General Technical Report SO-108, 1993:23-37.
- Nair, S.G. and Vijayalakshmi C., 2010. Genetic transformation of itc 3, a superior clone of eucalyptus tereticornis. Indian J. Agric. Res., 44 (3) : 229 – 232.
- Naujoks, G. 2003. Somatic embryogenesis in beech (*Fagus sylvatica*), Biologia (Bratislava), 58 (1): 83-87.
- Neale, D.B, Savolainen, O., 2004. Association genetics of complex traits in conifers, Trends in Plant Sci., 9: 325-330.
- Nigro, S.A., Makunga, N.P., Jones, N.B., Staden, J.V. 2004. A biolistic approach towards producing transgenic *Pinus patula* embryonal suspensor masses, Plant Growth Regulation 44, 187-197.
- Nigro, S.A., Makunga, N.P., Jones, N.B., Staden, J.V. 2008. An *Agrobacterium*-mediated system for gene transfer in *Pinus patula*, South African Journal of Botany, 74, 144-148.
- Nilsson, S., 2001. Forest policy, criteria and indicators, and certification. Interim Report IR-01-024, International Institute for Applied Systems Analysis, Laxenburg, Austria.

- Olson, M.S., Robertson, A.L., Takebayashi, N., Silim, S., Schroeder, W.R., Tiffin, P. 2010. Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in balsam poplar (*Populus balsamifera*), *New Phytologist*, 186: 526-536.
- Park, Y.W., Baba, K., Furuta, Y., Iida, I., Sameshima, K., Arai, M., Hayashi, T. 2004. Enhancement of growth and cellulose accumulation by overexpression of xyloglucanase in poplar, *FEBS Lett*, 564:183-187.
- Pena, L., Seguin, A. 2001. Recent advances in the genetic transformation of trees, *Trends in Biotech.*, 19: 500-506.
- Peternel, S., Gabrovsek, K., Gogala, N., Regvar, M. 2009. *In vitro* propagation of European aspen (*Populus tremula* L.) from axillary buds via organogenesis, *Scientia Horticulturæ*, 121: 109-112.
- Pot, D., Rodrigues J.C., Rozenberg P., Chantre G., Tibbits J., Cahalan C. 2006. QTLs and candidate genes for wood properties in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.), *Tree Genetics & Genomes*, 2: 10-24.
- Pullman, G.S., Namjoshi, K., Zhang, Y. 2003. Somatic embryogenesis in loblolly pine (*Pinus taeda* L.): improving culture initiation with abscisic acid and silver nitrate, *Plant Cell Rep*, 22:85-95.
- Pullman, G.S., Johnson, S., Tassel, S.V., Zhang, Y. 2005. Somatic embryogenesis in loblolly pine (*Pinus taeda*) and Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*): improving culture initiation and growth with MES pH buffer, biotin, and folic acid, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 80: 91-103.
- Rae, A.M., Pinel, M.P.C., Bastien, C., Sabatti, M., Street, N.R., Tucker, J., Dixon, C., Marron, N., Dillen, S.Y., Taylor, G. 2008. QTL for yield in bioenergy *Populus*: identifying *G x E* interactions from growth at three contrasting sites, *Tree Gen. & Genom.*, 4: 97-112.
- Ragauskas, A.J., Williams, C., Davison B.H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C.A., Frederich, W.J., Hallet, J.P., Leak, D.J., Liotta, C.L., Mielenz, J.R., Murphy, R., Templar, R., Tschaplinski, T. 2006. The path forward for biofuels ve biomaterials, *Science*, 311: 484-489.
- Samuga, A., Joshi, C.P. 2004. Cloning and characterization of cellulose synthase-like gene, PtrCSLD2 from developing xylem of aspen trees, *Physiologia Plantarum*, 120: 631-641.
- Scalfi M., Troglio M., Piovani P., Leonardi S., Magnaschi G., Vendramin G.G., Menozzi P. 2004. A RAPD, AFLP and SSR linkage map, and QTL analysis in European beech (*Fagus sylvatica* L.), *Theor Appl Genet.*, 108:433-441.
- Schouten, H.J., Krens, F.A., Jacobsen, K., Jacobsen, E. 2006. Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants: international regulations for genetically modified organisms should be altered to exempt cisgenesis, *Embo Rep.*, 7(8):750-753.
- Schrader, J., Nilsson, J., Mellerowicz, E., Brglund, A., Nilsson, P., Hertzberg, M., Sandberg, G. 2004. A high-resolution transcript profile across the wood-forming meristem of poplar identifies potential regulators of cambial stem cell identity, *The Plant Cell*, 16: 2278-2292.
- Sezgin, M., 2009. Avrupa kestanesinde (*Castanea sativa* Mill.) Olgunlaşmamış Kotiledonlardan Somatik Embriyogenesis ve Bitk. Rejenerasyonu, Doktora Tezi, Ankara Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 56 s.
- Sezgin, M., Dumanoglu, H. 2009. Fagaceae Familyasında In Vitro Tekniklerin Kullanımı Ve Son Gelişmeler, Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, Seri: A, Sayı: 2, ISSN: 1302-7085, s.: 147-159.
- Sjödén, A., Bylesjö, M., Skogström, O., Eriksson, D., Nilsson, P., Ryden, P., Jansson, S., Karlsson, J. 2006. UPSC-BASE *Populus* transcriptomics online, *The Plant J.*, 48: 806-817.
- Sharma, K.D., Kumar, S. Gough, L. 2000. Rehabilitation of lands mined for limestone in the Indian desert, *Land Deg. & Dev.*, 11: 563-574.
- Shepherd, M., Jones, M.E. 2005. Molecular Markers in Tree Improvement: Characterisation and Use in *Eucalyptus*, *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Volume 55-Section III, 399-412.
- Smouse, P.E., Robledo-Arnuncio, J.J. 2007. Implications of natural propagule flow for containment of genetically modified forest trees, *Tree Gen. & Genom.*, 3(2):141-152.
- Song, J., Lu, S., Chen, Z., Lourenco, R., Chiang, V.L. 2006. Genetic Transformation of *Populus trichocarpa* Genotype Nisqually-1: A Functional Genomic Tool for Woody Plants, *Plant Cell Physiol*, 47 (11): 1582-1589.
- Spokevicius A.V., Beveren, K.V., Leitch, B.A., Bossinger, G. 2005. Agrobacterium-mediated in vitro transformation of wood-producing stem segments in eucalypts, *Plant Cell Rep*, 23, 617-624.
- Tang, W., Sederoff, R., Whetten, W. 2001. Regeneration of transgenic loblolly pine (*Pinus taeda* L.) from zygotic embryos transformed with Agrobacterium tumefaciens, *Planta*, 213:981-989.
- Tiimonen H., Aronen T., Laakso T., Saranpaa P., Chiang V., Ylioja T., Roininen H., Haggman H. 2005. Does lignin modification affect feeding preference or growth performance of insect herbivores in transgenic silver birch (*Betula pendula* Roth)?, *Planta*, 222: 699-708.
- Toribio, M., Fernandez, C., Celestino, C., Martinez., M.T., San-Jose, M.C., Vieitez, A.M. 2004. Somatic embryogenesis in mature *Quercus robur* trees, *Pl. Cell. Tiss. Org. Cul.*, 76: 283-287.
- Tuominen, H., Sitbon, F., Jacobsson, C., Sandberg, G., Olsson, O., Sundberg, B. 1995. Altered growth and wood characteristics in transgenic hybrid aspen expressing *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA indoleacetic acid-biosynthetic genes, *Plant Physiology*, 109(4): 1179-1189.
- Tuominen, H., Puech, L., Regan, S., Fink, S., Olsson, O., Sundberg, B. 2000. Cambial-Region-Specific Expression of the *Agrobacterium iaa* Genes in Transgenic Aspen Visualized by a Linked uidA Reporter Gene, *Plant Physiology*, Vol. 123, 531-541.
- Tuskan G.A., Difazio S., Jansson S., Bohlmann J., Grigoriev I., Hellsten U., Putnam N., Ralph S. 2006. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science*, 313(5793): 1596-1604.
- TÜBİTAK 2011. Tovag Faaliyet Alanları-Ormancılık, Tübitak resmi internet sitesi
<http://www.tubitak.gov.tr/sid/441/pid/364/index.htm?jsessionid=CD9A1D5D4C6962C62281E29192122E39>, Erişim 7 Mart 2011.
- Üçler, A.Ö., Mollamehmetoğlu N. 2001. In vitro Plantlet Regeneration from Mature Embryos of Linden (*Tilia platyphyllos* Scop.) and Multiplication of its Buds, *Turk J Agric For*, 25, 181-186.
- Vieitez, F.J., San Jose, M.C., Ballester, A., Vieitez, A.M. 1990. Somatic embryogenesis in cultured immature zygotic embryos in chestnut. *J. Plant Physiol.*, 136: 253-256.
- Walter, C., Grace, L.J., Wagner, A., White, D.W.R., Walden, A.R., Donaldson, S.S., Hinton, H., Gardner, R.C., Smith, D.R. 1998. Stable transformation and regeneration of transgenic plants of *Pinus radiata*, D. Don. *Plant Cell Rep.*, 17:460-468.
- Wang, Y., Huang, M. R., Wei, Z. M., Sun, Y. R., Chen, D. M., Xu, Z. H., Zhang, L. M., Xu, N. 1995. Regeneration of simon poplar (*Populus simonii*) from protoplast culture, *Plant Cell Rep.*, 14 (7): 442-445.

- Wenck, A.R., Quinn, M., Whetten, R.W., Pullman, G., Sederoff, R. 1999. High efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation of Norway spruce (*Picea abies*) ve loblolly pine (*Pinus taeda*), *Plant Mol. Biol.*, 39: 407-416.
- Wei H., Meilan R., Brunner A.M., Skinner J.S., Ma C., Gandhi H.T., Strauss S.H. 2007. Field trial detect incomplete barstar attenu-ation of vegetative cytotoxicity in *Populus* trees containing a poplar LEAFY promoter::barnase sterility transgene, *Mol Breed*, 19:69–85.
- Wilcox, P.L., Amerson, H.V., Kuhlman, E.G., Liu, B.H., O'Malley, D.M., Sederoff, R.R. 1996. Detection of a major gene for resistance to fusiform rust disease in loblolly pine by genomic mapping, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 3859-3864.
- Wilcox P.L., Richardson T.E, Carson, S.D. 1997. Nature of quantitative trait variation in *Pinus radiata*: insights from QTL detection experiments. *Proceeding of IUFRO, NZ*, 1–4 December, pp. 304-312.
- Wheeler, N., 2004. Executive summary. In: Preliminary review of biotechnology in forestry, including genetic modification, Forest Resources Working Papers FGR/59E, Forest Resources Division, Forestry Department, FAO, Rome, 1-18.
- Yin, T.M., Wang, X.R., Andersson, B., Köhler, E.L. 2003. Nearly complete genetic maps of *Pinus sylvestris* L. (Scots pine) constructed by AFLP marker analysis in a full-sib family, *Theor Appl Genet*, 106:1075-1083.
- Zhang, D., Zhang, Z., Yang, K. 2006. QTL analysis of growth chemical content traits in an interspecific backcross white poplar (*Populus tomentosa* x *P. bolleana*) x *P. tomentosa*, *Can. J. For. Res.*, 36: 2015-2023.