

Iwona Szym-Borowska<sup>1</sup>

## Postęp i możliwości zastosowania genomiki w hodowli drzew leśnych

The progress and opportunities of genomics in the breeding of forest trees

**Abstract.** A variety of new molecular techniques and dynamic development of bioinformatics have enabled the research on organization and functioning of forest tree genomes. According to estimates, the number of genes of forest trees totals about 30 thousand. Identification of these genes and determination of their locations on genetic maps is the major task of structural genomics. The application of genome analysis method and determination of molecular markers linked to a region of chromosomes, containing a gene affecting the target trait, can be used in applied tree breeding programs.

**Key words:** structural genomics, functional genomics

### 1. Wprowadzenie

Każda żywa istota posiada swój indywidualny zapis genetyczny nazywany genomem. Genom drzew leśnych, jak wszystkich organizmów eukariotycznych, to całkowite DNA komórki, obejmujące wszystkie geny i sekwencje niekodujące znajdujące się w obrębie genów (introny) oraz pomiędzy genami (sekwencje intergenowe). Poza DNA jądrowym, genom tworzą także DNA organellowe, tj. mitochondrialne i chloroplastowe. Zawartość informacji w genomie jest ogromna. Decyduje on między innymi o ujawnieniu się cech fenotypowych, o przebiegu ontogenezy, o podatności lub odporności na szereg czynników środowiska wewnętrznego i zewnętrznego. Postęp, jaki dokonuje się w dziedzinach biologii molekularnej i genetyki molekularnej, prowadzi badaczy do jednego celu, jakim jest chęć poznania pełnej sekwencji jak największej liczby genomów. Wiedza ta pozwoli na zrozumienie i opisanie mechanizmów, które inicjują i kontrolują funkcjonowanie organizmów na poziomie molekularnym.

W latach 80. XX wieku na szeroką skalę rozpoczęto wprowadzanie do badań genetycznych technik biologii molekularnej. Ich bogactwo oraz dynamiczny rozwój

bioinformatyki umożliwiły podjęcie badań dotyczących organizacji i funkcjonowania genomów. W ten sposób wyodrębniła się nowa dyscyplina naukowa – genomika. Umownie można przyjąć, że zyskała swoją nazwę w 1987 r. We wrześniu tego roku ukazał się bowiem pierwszy numer czasopisma „Genomics”, a artykuł McKusicka i Ruddle’a, otwierający ten numer, miał symboliczny tytuł: *A new discipline, a new name, a new journal* (za Świtoński 2008). Genomika, w odróżnieniu od genetyki, obejmuje ogół zjawisk genetycznych, opisuje wszystkie zależności między nimi oraz wpisuje je w całokształt procesów metabolicznych żywego organizmu. Głównym jej celem jest poznanie sekwencji materiału genetycznego i jego struktury (genomika strukturalna) oraz określenie funkcji genów, wraz z wszelkimi zależnościami i interakcjami wewnątrz genomu, które determinują fenotyp (genomika funkcjonalna).

### 2. Genomika strukturalna

Przed zapoczątkowaniem badań molekularnych, większość analiz genetycznych ograniczała się do garstki gatunków, które można było hodować i krzyżować w

<sup>1</sup> Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn, Fax +48227150313; e-mail: I.Szym@ibles.waw.pl

**Tabela 1. Wielkość genomu wybranych gatunków**

Table 1. The size of the genome of selected species

Grupa organizmów Group of organisms	Nazwa Name	Haploidalna liczba chromosomów Haploid number of chromosomes	Liczba par zasad Number of base pairs ( $\times 10^6$ )	Liczba genów Number of genes ( $\times 10^3$ )
<b>Drożdże</b> Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16	12	6
<b>Nicienie</b> Nematodes	<i>Caenorhabditis elegans</i>	5/6	97	19
<b>Owady</b> Insects	<i>Drosophila melanogaster</i>	4	180	13,6
<b>Roślina jednoroczna / okrytozalążkowe</b> Annual plant / Angiosperms	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5	125	25,5
<b>Roślina jednoroczna / okrytozalążkowe</b> Annual plant / Angiosperms	<i>Oryza sativa</i>	12	400	37,5
<b>Roślina jednoroczna / okrytozalążkowe</b> Annual plant / Angiosperms	<i>Zea mays</i>	10	2400–3200	16,2–40,5
<b>Roślina wieloletnia / okrytozalążkowe</b> Perennial / Angiosperms	<i>Lycopersicon esculentum</i>	12	900	?
<b>Drzewa leśne / okrytozalążkowe</b> Forest trees / Angiosperms	<i>Eucalyptus</i>	11	640	?
<b>Drzewa leśne / okrytozalążkowe</b> Forest trees / Angiosperms	<i>Populus</i>	19	485	45,5
<b>Drzewa leśne / nagozalążkowe</b> Forest trees / Non-angiosperms	<i>Pinus</i>	12	20 000–40 000	30
<b>Ssaki / Gryzonie</b> Mammals / Rodents	<i>Mus musculus</i>	20	3500	21–30
<b>Ssaki / Naczelne</b> Mammals / Primates	<i>Homo sapiens</i>	23	3400	26–31

laboratorium. Dzięki projektowi poznania genomu ludzkiego rozwinęły się nowe technologie, które znalazły zastosowanie w badaniach obejmujących gatunki uchodzące za trudne do analizy. Do grupy tej możemy zaliczyć drzewa leśne, w tym zwłaszcza rośliny nagozalążkowe, ze względu na ich długowieczność, duże rozmiary, system krzyżowania oraz duży genom (tab. 1). Z tego także powodu, pomimo ogromnego znaczenia tych roślin w naturalnych ekosystemach i w gospodarce człowieka, niewiele wiadomo na temat podłoża dziedziczenia ważnych ekonomicznie i ekologicznie cech takich jak: produkcja biomasy, wielkość pierśnicy, skład chemiczny drewna, gęstość drewna, obradanie czy tolerancja na zanieczyszczenia i anomalia klimatyczne. Podstawowym więc zadaniem genomiki strukturalnej drzew leśnych stało się poznanie pełnej sekwencji DNA oraz powiązanie jej z genetycznymi i fizycznymi mapami genomowymi.

### Sekwencjonowanie genomu

Metoda sekwencjonowania całego genomu stosowana była w przypadku wielu organizmów, jednak pomimo wielu korzyści, jakie daje (tj.: dostęp do całego

genomu, poznanie elementów regulatorowych i struktury genów) z punktu widzenia eksperymentalnego i ekonomicznego, możliwe jest jej wykorzystanie tylko w przypadku organizmów o małym genomie. Dla wyższych eukariontów, o dużym genomie, najczęściej stosowane jest sekwencjonowanie samych transkryptów, które jest ograniczone do identyfikacji sekwencji DNA jedynie tych genów, które ulegają ekspresji. Pierwsze projekty dotyczące drzew leśnych miały na celu identyfikację znaczników sekwencji kodujących (EST- Expressed Sequence Tags) genów ulegających ekspresji w tkankach związanych z formowaniem drewna (White et al. 2007; Allona et al. 1998; Sterky et al. 1998; Whetten et al. 2001). Badania te pozwoliły na odkrycie wielu genów związanych z biosyntezą lignin, celulozy i innych komponentów ściany komórkowej, oraz genów regulujących metabolizm w komórkach drewna. Sekwencje EST, które zostały sklonowane, zdeponowano w publicznych, genowych bazach danych. W bazie danych TreeGenes zostało umieszczonych ponad milion sekwencji EST drzew leśnych, w tym najwięcej sosny taeda (*Pinus taeda*) – 328628 sekwencji EST, świerku białego (*Picea glauca*) – 284329, świerku sitkajskiego (*Picea sitchensis*) – 168675 (<http://dendrome.ucdavis>).

edu/treegenes). Jako pierwsze zostały zsekwencjonowane genomy dwóch roślin modelowych: rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*) (Theologis et al. 2000) i ryżu (*Oryza sativa*) (Yu et al. 2002). Do tej pory na świecie odczytano informację zawartą w genomie około 30 organizmów roślinnych i liczba ta wciąż się powiększa. Topola kalifornijska (*Populus trichocarpa*) jest pierwszym drzewem, którego genom został zsekwencjonowany. Stanowi go 19 chromosomów, składających się łącznie z 485 mln par zasad. Zidentyfikowano ponad 45 tysięcy możliwych genów. Projekt rozpoczął się w 2002 roku i realizowany był przez 38 instytucji z Europy, USA i Kanady, a wyniki zostały opublikowane w magazynie Science (Tuskan et al. 2006). Jako pierwszy gatunek wybrano topole, ze względu na jej duże znaczenie gospodarcze oraz stosunkowo mały genom. Wśród drzew gatunki rodzaju *Populus* są szczególnie predysponowane do transformacji i regeneracji, co umożliwia produkcję drzew transgenicznych, a w przyszłości pozwoli na wykrywanie genów i charakterystykę ich funkcji.

Drugim drzewem leśnym, dla którego rozpoczęto sekwencjonowanie genomu, jest eukaliptus wielki (*Eucalyptus grandis*). Jest to ważny gospodarczo gatunek ze względu na produkcję drewna i możliwość wykorzystania jako źródło energii odnawialnej. Realizację projektu ogłoszono w styczniu 2009 roku, na XVII Konferencji: *Plant & Animal Genomes*. Przedsięwzięcie to będzie realizowane w ramach The *Eucalyptus* Genome Network (EUCAGEN, [www.eucagen.org](http://www.eucagen.org)).

### Struktura genomu

Mapa genomu, która pokazuje pozycje genów i innych charakterystycznych rodzajów sekwencji stanowi wstęp do prac nad sekwencjonowaniem. Mapy genetyczne tworzone są na podstawie analizy częstości rekombinacji między markerami molekularnymi i pokazują ich rozmieszczenie w grupach sprzężeń. Mapy fizyczne powstają natomiast przez bezpośrednią lokalizację, technikami biologii molekularnej i cytologii, badanej sekwencji DNA w genomie. Na mapach fizycznych z udziałem sond DNA, wyznakowanych izotopowo lub fluorescencyjnie, zlokalizowano geny rybosomalnego RNA i wiele wysoce powtarzalnych sekwencji DNA dla *Pinus ellioti*, sosny taeda (*Pinus taeda*) i świerku białego (*Picea glauca*), (White et al. 2007). W przypadku drzew leśnych, u których dużą przeszkodą w tworzeniu map fizycznych jest wielkość genomu, naukowcy koncentrują swoje badania głównie na tworzeniu map genetycznych.

W ostatnich latach powstało 45 wysoce nasyconych map genetycznych dla 15 gatunków drzew (<http://dendrome.ucdavis.edu/treegenes>). Pierwsza mapa genetyczna dla sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*), najważ-

niejszego gatunku lasotwórczego i użytkowego w Polsce, powstała z wykorzystaniem markerów izoenzymatycznych (Rudin et Ekberg 1978). Obecnie dostępna jest prawie kompletna mapa genetyczna dla tego gatunku, w tworzeniu której analizowano 737 markerów AFLP (320 dla drzewa matecznego i 417 dla drzewa ojcowskiego). Otrzymane mapy genetyczne pokrywają 98% genomu, a odległość między markerami, dla obu map – matecznej i ojcowskiej, wyniosła 20 cM (Yin et al. 2003). Wielkość mapy genetycznej dla sosny zwyczajnej oszacowano na 1600-2100 cM.

### 3. Genomika funkcjonalna

Konstruowanie map genetycznych oraz poznanie sekwencji genomu niewiele jeszcze mówi o funkcjonowaniu genów i o kontroli ich ekspresji. Tworzenie katalogów zawierających znane sekwencje genów to dopiero pierwszy krok dla dalszych analiz funkcji genów i ich interakcji. Rozwiązania tych problemów szuka genomika funkcjonalna, bardzo dynamicznie rozwijająca się dyscyplina nauki.

#### Analiza ekspresji genów

Najprostszym sposobem zbadania funkcji genu jest porównanie otrzymanej sekwencji DNA z sekwencjami genów o znanej funkcji, umieszczonych w bazach danych, np. otrzymana dla sosny sekwencja EST odpowiada sekwencji genu kodującego dehydrogenazę alkoholową (ADH) kukurydzy, stąd można przypuszczać, że odkryty gen może być ortologiem genu ADH u kukurydzy (White et al. 2007). Podobieństwo sekwencji nie jest oczywiście żadnym dowodem, a jedynie przesłanką mogącą świadczyć o podobnej funkcji genu. W ten sposób przypisano funkcję 55% sekwencji EST zidentyfikowanym dla *Pinus taeda* (Allona et al. 1998) i 39% dla *Populus* (Sterky et al. 1998). Na bezpośrednią analizę funkcji genu pozwala technika odwrotnej transkrypcji i hybrydyzacji, wykorzystywana w analizie mikromacierzy DNA (DNA microarray). Technika mikromacierzy opiera się na wyizolowaniu z badanej tkanki matrycowego RNA (mRNA). W dalszej kolejności cząsteczki te są, za pomocą enzymu odwrotnej transkryptazy, przepisywane na cDNA oraz znakowane fluorescencyjnie. Jeżeli w badanej próbce znajdują się sekwencje mRNA komplementarne do sekwencji DNA znajdujących się w danym miejscu mikromacierzy (specjalnie przygotowanej płytce, do której przyłączone jest setki tysięcy cząsteczek DNA), to obydwie cząsteczki hybrydują (łączą się ze sobą). Ponieważ ilość cząsteczek danego mRNA odzwierciedla poziom ekspresji danego białka, za pomocą tej techniki można porównać, jak

wykorzystywana jest w tkankach informacja genetyczna, pod wpływem różnych czynników zewnętrznych (patogeny, reakcja na stres abiotyczny), w czasie ontogenezy lub między genotypami. Po raz pierwszy analizę mikromacierzy w odniesieniu do drzew leśnych zastosował Hertzberg i in. w 2001 roku. Analizowali oni różnice w ekspresji 2995 genów w procesie formowania drewna u mieszańców topoli. Egertsdotter i współpracownicy (2004) badali natomiast ekspresję genów w drewnie podczas zmian sezonowych. Naturalna zmienność właściwości drewna była badana u *Pinus taeda*. Badania te dostarczyły pierwszych informacji na temat ekspresji genów związanych z procesem formowania drewna, który jest czynnikiem kluczowym z punktu widzenia ekonomicznego dla gospodarki człowieka. Analiza mikromacierzy posłużyła także do analizy ekspresji genów podczas embriogenezy u *P. taeda*, *P. sylvestris* i *Picea abies* (Van Zyl et al. 2002; Stasolla et al. 2003) i w odpowiedzi na stres spowodowany suszą u *P. taeda* (Heath et al. 2002). Ta stosunkowo niedawno wprowadzona do genomiki leśnej metoda, rozwija się bardzo szybko, co w przyszłości pozwoli na poznanie funkcji genów i zrozumienie procesów regulacji ich ekspresji.

### Mapowanie loci cech ilościowych

Genetyka cech ilościowych wykorzystuje markery DNA, w połączeniu z krzyżówkami eksperymentalnymi, do zmapowania pozycji genomowych loci leżących u podłoża cech poligenowych. U drzew leśnych do cech uwarunkowanych działaniem wielu genów należą m.in.: wielkość biomasy, gęstość drewna, odpowiedź na stres biotyczny i abiotyczny (Płomion et al. 2003). Ten typ cechy nazywany jest cechą ilościową, a rejon chromosomu, który warunkuje daną cechę to loci cechy ilościowej (QTL – ang. quantitative trait loci).

Zrozumienie genetycznych podstaw dziedziczenia tych cech, wymaga zastosowania nowoczesnych technik genetyki molekularnej i odpowiednich metod statystycznych. Podejmowane badania z tego zakresu zaowocowały identyfikacją wielu regionów QTL dla drzew leśnych, a w przypadku niektórych z nich analiza zakończyła się znalezieniem genów kontrolujących ekspresję badanych cech fenotypowych.

Najczęściej analizowaną cechą była wysokość drzewa, dla której znaleziono 0–3 QTL, wyjaśniających 10–25,9% zmienności fenotypowej (Bradshaw et Stettler 1995; Byrne et al. 1997; Emebiri et al. 1997; Kaya et al. 1999; Kubisiak et al. 1997; Płomion et al. 1996; Wu 1998). W przypadku topoli analizowane były powierzchnia liścia, jego pigmentacja, kształt oraz długość ogonka liściowego (Wu 1998). W każdym przypadku zmapowano od 1 do 6 QTL, także o małym efekcie fenotypowym. U topoli analizowano również cechy fenologiczne o dużej zmienności fenotypowej (ruszanie wio-

senne, wchodzenie w stan spoczynku zimowego) (Bradshaw i Stettler 1995, Frewen et al. 2000). Wynikiem tych doświadczeń było zmapowanie 5 QTL, wyjaśniających od 28,7 do 51,5% zmienności oraz 6 QTL o małym efekcie fenotypowym (5,9–16,8%). Na podstawie tych analiz wytypowano 5 przypuszczalnych genów (dwa kodujące fitochrom i trzy związane z odpowiedzią na kwas abscysynowy), które prawdopodobnie biorą udział w kontroli sezonowej rytmiki zmian fenologicznych.

Podobne zagadnienia (ruszanie pąków wierzchołkowych i bocznych) analizowane były dla daglezi (Jermstad et al. 2001). Jego badania, prowadzone przez cztery lata w dwóch powtórzeniach, zaowocowały znalezieniem 33 QTL o małym efekcie fenotypowym. Bardzo ważnym kierunkiem tych analiz była identyfikacja QTL dla cech związanych z właściwościami drewna. Udział drewna wczesnego i późnego warunkowany był 9 QTL, co wyjaśniało 5,4–15,7% zmienności fenotypowej. Dla właściwości chemicznych drewna zmapowano 12 QTL, także o małym efekcie fenotypowym (5,3–12,6%) (Groover et al. 1994; Knott et al. 1997; Sewell et al. 1999). Poszukiwania dotyczyły QTL kwitnienia i determinacji płci u wierzy (Alström-Rapaport et al. 1997), obumierania siewek u sosny radiata (Kuang 1998), odporności na mróz u daglezi zielonej (Neale et al. 1997) oraz odporności na patogeny u topoli (Bradshaw et al. 1996).

Wiedza na temat genetycznej kontroli cech ilościowych (liczba QTL, ich efekt i lokalizacja oraz wpływ środowiska) oraz sprzężenia cechy z markerami molekularnymi może być użyteczna w programach selekcji. W przypadku selekcji drzew leśnych, procesu, którego ograniczenia związane są zmianami, jakie zachodzą podczas ontogenezy drzew czy z niską odziedziczalnością wielu cech gospodarczo ważnych – każde dodatkowe narzędzie poprawiające ocenę genetycznej wartości i redukujące czas ma znaczącą wartość. Wykorzystanie informacji ‘marker – QTL’ wydaje się być obiecujące dla efektywności selekcji. Metoda ta jest określana jako selekcja z wykorzystaniem markerów (MAS – marker-assisted selection). MAS zastosowano u *Pinus taeda* w badaniu dziedziczenia gęstości drewna (Sewell et al. 2000). Możliwość identyfikacji loci odpowiedzialnych za tę cechę pozwala na określenie predyspozycji osobnika do produkcji drewna o specyficznej gęstości na etapie siewki, czyli przed ujawnieniem ostatecznym tej cechy. Fenotypowo cechę tę można badać dopiero u osobników dorosłych, przeznaczonych do wycięcia. Podejście to ma jednak pewne ograniczenia, ponieważ w mapowaniu QTL można wykrywać jedynie geny wywierające stosunkowo duże efekty fenotypowe, a zidentyfikowane QTL mogą zawierać setki genów kandydatów.

## Analiza asocjacji

Technika mapowania asocjacyjnego obejmuje poszukiwanie sprzężeń pomiędzy cechą ilościową i dowolnym markerem DNA. Stosowana jest w populacjach, w których nie jest możliwe uzyskanie segregującego pokolenia  $F_2$  z krzyżowania kontrolowanego. Technologia ta rozwinęła się przy okazji poszukiwania genów kontrolujących złożone cechy u ludzi (Weiss et Clark 2002), a ostatnio została zaadaptowana także do analizy genomu roślinnego (Neale et Savolainen 2004). W 2007 roku Gonzales-Martinez i in. przedstawili wyniki poszukiwania genów kandydujących, odpowiedzialnych za syntezę lignin i celulozy u *P. taeda*. Badania te pokazały, że metoda analizy asocjacji pozwala na identyfikację genów kontrolujących złożone cechy ilościowe drzew leśnych. Strategia genów kandydujących i mapowanie asocjacyjne to podejście nowatorskie, umożliwiające identyfikację korzystnych alleli, które decydują o ważnych gospodarczo i ekologicznie cechach fenotypowych. Zrozumienie, w jaki sposób zróżnicowanie genów determinujących cechy ilościowe w sekwencjach DNA przekłada się na obserwowaną różnorodność fenotypową, będzie oznaczać przełom w hodowli drzew leśnych. Niezbędne będzie zatem wspólne działanie hodowców, genetyków molekularnych i bioinformatyków. Komercyjne zastosowanie tego podejścia wymaga jednak wprowadzenia na szeroką skalę technik, które uwidaczniają polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP) oraz zwiększenia przepustowości w fenotypowaniu, wspartym nowymi technikami analitycznymi. Zastosowanie metod analizy genomu i opracowanie markerów molekularnych związanych z obszarami chromosomu kontrolującymi poszczególne cechy lub markerów sprzężonych z konkretnymi genami o znanej funkcji, pozwoliłoby na selekcję osobników charakteryzujących się pożądanymi właściwościami. Dla hodowców drzew, markery molekularne mogą stać się narzędziem selekcji odpowiednich genotypów, jak również uzupełnieniem tradycyjnych metod selekcji na podstawie fenotypu, dla uzyskania maksymalnego efektu genetycznego (Neale 2007).

## 4. Epigenomika

Do tej pory fenotyp traktowaliśmy jako bezpośredni skutek działania genotypu, jednak obok genotypu drugim, nie mniej ważnym czynnikiem określającym fenotyp osobnika jest środowisko. Jeden z mechanizmów decydujących o pozagenowym (epigenetycznym) dziedziczeniu został stosunkowo niedawno odkryty u muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) i nosi nazwę efektu zależnego od położenia genu, kiedy otoczenie

chromatynowe genu determinuje poziom jego ekspresji (Wakimoto 1998, Schotta et al. 2003). Badacze zauważyli jednocześnie, że bardzo podobny proces zachodzi u niektórych roślin, np. u niektórych zbóż ozimych. Odkryto, że poddanie rośliny działaniu chłodu powoduje wyciszenie ekspresji jednego z genów hamujących kwitnienie, jednak bez ingerencji w sekwencję DNA. Po podniesieniu temperatury wyciszenie jest utrzymywane, co umożliwia zakwitnięcie rośliny przy sprzyjających warunkach (Sung et Amasino 2004). Wiele procesów determinujących np. wysokość drzewa jest kontrolowanych przez czynniki epigenetyczne, które reagują dynamicznie na sygnały środowiska (Grattapaglia et al. 2009). Można powiedzieć że mamy tu do czynienia z „dziedziczeniem bez genów”. Poznanie tego zjawiska stanowi kolejne wyzwanie dla genomiki drzew leśnych.

## Literatura

- AGI: The Arabidopsis Genome Initiative. 2000. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*; 408: 796-815.
- Allona I., Qinn M., Shoop E., Swope K., Cyr S., Carlist J., Riedl J., Retzel E., Campbell M., Sederoff R., Whetten R. 1998. Analysis of xylem formation in pine by cDNA sequencing. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 9693–9698.
- Alström-Rapaport C., Lascoux M., Gulberg U. 1997. Sex determination and sex ratio in the dioecious shrub *Salix viminalis* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 493-497.
- Bradshaw H.D. Jr., Chastagner G.A., Stettler R.F. 1996. A major gene for resistance to *Melampsora medusae* f.sp. *deltoidae* in a hybrid poplar pedigree. *Phytopathology*, 86(1): 87-94.
- Bradshaw H.D., Stettler R. 1995. Molecular genetics of growth and development of *Populus*. IV. Mapping QTLs with large effects on growth, form, and phenology traits in a forest tree. *Genetics*, 139: 963-973.
- Byrne M.J., Murrel J.C., Owen J.V., Kriedeman P., Williams E.R., Moran G. 1997. Identification and mode of action of quantitative trait loci affecting seedling height and leaf area in *Eucalyptus nitens*. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 674-681.
- Egertsdotter U., Van Zyl L., Mackay J., Sederoff R. 2004. Gene expression profiling of wood formation: an analysis of seasonal variation. *Plant Biology*, 6: 654-663.
- Emebiri L.C., Devey M.E., Mathesen A.C., Slee M.V. 1997. Linkage of RAPD markers to NESTUR, a stem growth index in radiata pine seedlings. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 119-124.
- Frewen B., Chen T., Howe G., Davis J., Rohde A., Boerjan W., Bradshaw H. 2000. Quantitative trait loci and candidate gene mapping of bud set and bud flush in *Populus*. *Genetics*, 154: 837-845.
- Gonzales-Martinez S., Wheeler N., Ersoz E., Nelson C.D., Neale D. B. 2007. Association genetics in *Pinus taeda* L. I. Wood property traits. *Genetics*, 175(1): 399-409.
- Grattapaglia D., Plomion C., Kirst M., Sederoff R. R. 2009. Genomics of growth traits in forest trees. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(2): 148-56.

- Groover A., Devey M., Fiddler T., Lee J., Megraw R., Sherman B., Williams C., Neale D. 1994. Identification of quantitative trait loci influencing wood specific gravity in loblolly pine. *Genetics*, 138: 1293-1300.
- Heath L., Ramakrishna N., Sederoff R., Whetten R., Chevone B., Struble C., Jouenne V., Chen D., van Zyl L., Grene R. 2002. Studing the functional genomics of stress responses in loblolly pine with the Expresso microarray experiment management system. *Comparative and Functional Genomics*, 3: 226-243.
- Hertzberg M., Aspeborg H., Schrader J., Andersson A., Erlands-son R., Blomqvist K. et al. 2001. A transcriptional roadmap to wood formation. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98: 14732-14737.
- Jermstad K., Bassoni D., Jech K., Ritchie G., Wheeler N.C., Neale D.B. 2001. Mapping of quantitative trait loci controlling adaptive traits in coastal Douglas-fir. I. Timing of vegetative bud flush. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 1142-1151.
- Kaya Z., Sewell M., Neal D. 1999. Identification of quantitative trait loci influencing annual height and diameter increment growth in loblolly pine. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 586-592.
- Knott S., Neale D., Sewell M., Haley C. 1997. Multiple marker mapping of quantitative trait loci in an outbred pedigree of loblolly pine. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 810-820.
- Kuang H., Richardson T.E., Carson S.D., Bongarden B.C., 1998. An allele responsible for seedling death in *Pinus radiata* D.Don. *Theoretical and Applied Genetics*, 96: 640-644.
- Kubisiak T.L., Nelson C.D., Stine M. 1997. RAPD mapping of genomic regions influencing early height growth in longleaf pine × slash pine F1 hybrids. *Proceedings of the Southern Forest Tree Improvement Committee*, 24: 198-206.
- Neale D.B. 2007. Genomics to tree breeding and forest health. *Science Direct*, 17:1-6.
- Neale D.B., Jermstad K.D., Sewell M.M., Wheeler N.C. 1997. Progress towards detecting and verifying QTLs for wood property traits in loblolly pine and adaptive traits in Douglas-fir. *Proceedings IUFRO Conference, Vienna, Quebec*, 12-16 August, 52-56.
- Neale D.B., Savolainen O. 2004. Association genetics of complex traits in conifers. *Trends in Plant Science*, 9: 325-330.
- Plomion C., Cook J., Richardson T., Mackay J. 2003. Report on the forest trees workshop at the plant and animal genome conference. *Comparative and Functional Genomics*, 4(2): 229-38.
- Plomion C., Durel C.E. 1996. Genetic dissection of height in maritime pine seedlings raised under accelerated growth condition. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 849-858.
- Rudin D., Ekberg I. 1978. Linkage studies in *Pinus sylvestris* L. using macrogametophyte allozymes. *Silvae Genetica*, 27: 1–12.
- Schotta, G., Ebert A., Dorn R., Reuter G. 2003. Position-effect variegation and the genetic dissection of chromatin regulation in *Drosophila*. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 14: 67-75.
- Sewell M., Sherman B., Neale D. 1999. A consensus map for loblolly pine. Construction and integration of individual linkage maps from two outbred three-generation pedigrees. *Genetics*, 151: 321-330.
- Stasolla C., van Zyl L., Egersdotter U., Craig D., Liu W., Sederoff R. 2003. The effects of the polyethylene glycol on gene expression of developing white spruce somatic embryos. *Plant Physiology*, 131: 49-60.
- Sterky F., Regan S., Karlsson H., Hertzberg M., Rohde A., Holmberg A. et al. 1998. Gene discovery in the wood-forming tissue of poplar: Analysis of 5 692 expressed sequence tags. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 13330-13335.
- Sung S. B., Amasino R. M. 2004. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 4-10.
- Świtowski M. 2008. Postępy genomiki zwierząt domowych. *Nauka*, 1: 27-43.
- Theologis, A., Ecker, J. R., Palm, C. J. et al. 2000. Sequence and analysis of chromosome 1 of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 408: 816-820.
- Tuskan G. A., DiFazio S., Jansson S., Bohlmann J., Grigoriev I., Hellsten U. et al. 2006. The Genome of Black Cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science*, 313 (5793): 1596-1604.
- van Buijtenen J.P. 2001. Genomics and Quantitative genetics. *Canadian Journal of Forest Research*, 31: 617-622.
- Van Zyl L., von Arnold S., Bozhkov P., Chen Y., Egerstdotter U., MacKay J. 2002. Heterologous array analysis in *Pinaceae*: hybridization of *Pinus taeda* cDNA arrays with cDNA from needles an embryonic cultures of *P. taeda*, *P. sylvestris* or *Picea abies*. *Comparative and Functional Genomics*, 3: 306-318.
- Wakimoto B. 1998. Beyond the nucleosome: epigenetic aspects of position-effect variegation in *Drosophila*. *Cell*, 93(3): 321-4.
- Weiss K., Clark A. 2002. Linkage disequilibrium and the mapping of complex human traits. *Trends in Genetics*, 18: 19-24.
- Whetten R., Sederoff R. 2001. Functional genomics and cell wall biosynthesis in loblolly pine. *Plant Molecular Biology*, 47: 275-291.
- White T.L., Adams W.T., Neale D.B. 2007. Forest genetics. CABI Publishing, Oxford University Press, USA, ISBN 9781845932855.
- Wu R.L. 1998. Genetic mapping of QTL affecting tree growth and architecture in *Populus*. *American Journal of Botany*, 84: 1110-1119.
- Yin T. M., Wang, X. R., Andersson, B., Lerceteau-Kohler E. 2003. Nearly complete genetic maps of *Pinus sylvestris* L. (Scots pine) constructed by AFLP marker analysis in a full-sib family. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 1075-1083
- Yu J., Hu S., Wang J., Wong G.K., Li S., Liu B. et al. 2002. A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*, 296 (5565): 79-92.