

# GENSKI INŽENIRING LIGNINA

## Genetic engineering of lignin

*Povzetek: V razvitem svetu se čedalje bolj nagibamo k zmanjšanju rabe neobnovljivih materialov, kojih nadomeščajo izdelki iz obnovljivih virov kot je les. Les je okolju prijazen in obnovljiv material. Potreba po lesu in lesnih izdelkih se večja, zaradi česar se krčijo obsežna gozdna področja na svetu. Rešitev predstavljajo visoko produktivna transgena drevesa, ki na manjši ali enaki površini zemlje proizvedejo več lesa. Z biotehnološkimi postopki je mogoče izboljšati tudi lastnosti lesa. V članku je podan pregled razvoja biotehnologije dreves oziroma lastnosti transgenih dreves in njihovega lesa.*

*Ključne besede: biotehnologija, genski inženiring, drevesa, les, lignin*

*Abstract: Trends towards reducing the use of non-renewable resources and substituting them with renewable resources, such as wood, are emerging in developed countries. Wood is an environmentally friendly and renewable material. The demand for wood and wooden products has been growing, resulting in deforestation of large areas around the world. The solution might be the use of transgenic trees, which could produce more wood in the same land area. Exploiting biotechnological applications also makes it possible to improve the properties of wood. The paper reviews accomplishments in forest biotechnology, particularly the properties of genetically modified trees and their wood.*

*Keywords: biotechnology, genetic engineering, trees, wood, lignin*

### UVOD

Biotehnologija je v devetdesetih letih prejšnjega stoletja izredno napredovala. Genski inženiring je postal rutinska metoda tako za delo z mikroorganizmi kot tudi rastlinami in živalmi. Ustvarjanje gensko spremenjenih organizmov je doživelo svoj razmah z razvojem tehnologije rekombinantne DNA, ki omogoča vstavljanje delov tuje DNA v genetski material drugega organizma. Z gensko spremenjenimi organizmi v farmacevtski industriji pridobivajo nekatera pomembna zdravila, na primer inzulin in druge hormone ter biološka zdravila. Gensko spremenjene živali se za zdaj uporabljajo predvsem za medicinske raziskave bolezni in dedovanja, gensko spremenjene rastline pa so ponekod že v komercialni uporabi za krmo živali oziroma kot živilo.

Transgene rastline so ustvarjene v laboratoriju z vstavitvijo enega ali več tujih genov v genom rastline s tehnikami

transformacije. Rastlinska biotehnologija je osredotočena na poljščine ter industrijsko pomembne rastline (bombaž, tobak). Najpogosteje so transgene rastline odporne proti herbicidom, boleznim, škodljivcem in abiotskemu stresu, obstajajo pa tudi takšne, ki imajo izboljšano hranilno vrednost (Bohanec in sod., 2004). Pridelava transgenih rastlin je predvsem v Evropi precej sporna zaradi nenaklonjenosti javnega mnenja ter nasprotovanja nevladnih organizacij.

### BIOTEHNOLOGIJA LESA

Izboljševanje lastnosti dreves z biotehnološkimi pristopi se pospešeno razvija šele zadnje poldrugo desetletje. Zlahtnjenje dreves je zaradi dolgih generacijskih intervalov dolgotrajen postopek, ki ga lahko pospešimo z biotehnološkimi pristopi. Gensko spremenjena drevesa izražajo različne fenotipe, od spremenjene rasti in oblike dreves, izboljšane kvalitete in sestave lesa do odpornosti proti boleznim, škodljivcem in herbicidom (Valenzuela in sod., 2006). Gensko spremenjena drevesa utegnejo biti učinkovita tudi pri čiščenju onesnaženega okolja - dendroremediaciji (Gartland in sod., 2003). Čeprav je les nehomogen material, pa se gensko spreminjanje dreves ozi-

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, \*e-pošta: ajda.ulcnik@bf.uni-lj.si

\* prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: zeljko.gorisek@bf.uni-lj.si

**Preglednica 1. Pregled razvoja gensko spremenjenih dreves po državah.**

Država	Drevesna vrsta	Lastnost
Avstralija	Evkalipt	Hitrejša rast, izboljšana kakovost lesa
Belgija*	Topol	Zmanjšana količina lignina (proizvodnja etanola)
Finska	Topol, breza	Povečana fiksacija CO <sub>2</sub> , odsotnost cvetenja
Francija	Topol	Manjša količina lignina
Japonska	Evkalipt, topol, cedra, akacija	Zmanjšana količina lignina, odpornost na abiotski stres, moška sterilnost, povečana fiksacija CO <sub>2</sub>
Kanada	Topol, jelka	Odpornost na herbicide, škodljivce, genetske raziskave
Kitajska	Topol, evkalipt	Odpornost proti škodljivcem, izboljšane lastnosti lesa
Švedska	Topol, evkalipt, jelka	Hitrejša rast, zgodnejše cvetenje, daljša vlakna, spremenjen lignin in polisaharidi
Velika Britanija	Evkalipt, topol, brest	Odpornost na herbicide in bolezni
ZDA	Topol, bor, evkalipt, brest, oreh, jelka ...	Spremenjen lignin, manjša količina lignina, hitrejša rast, odpornost na žuželke, bolezni, abiotski stres, herbicide ...

\*prvi poljski poskus z gensko spremenjenimi drevesi leta 1988 (topoli, odporni na herbicid)

roma kemije lesa raziskuje predvsem le na enem izmed treh glavnih lesnih polimerov, na ligninu. V preglednici 1 je podan pregled držav, kjer se ukvarjajo z genskim spreminjanjem dreves, ter učinek genskih sprememb na lastnosti organizma oziroma lesa (WRM Briefing, 2008).

Pri rastlinah je najbolj raziskan modelni organizem navadni repnjakovec (*Arabidopsis thaliana*), ki je enoletnica z dokaj kratkim življenjskim ciklom. Številnih lastnosti dreves zaradi tega na tej rastlini ni mogoče raziskovati. Zato so se raziskovalci osredotočili na nekaj drevesnih vrst, izmed katerih je najbolj preučevan rod *Populus* (topol), ki ga odlikujejo hitra rast, enostavna genetska transformacija in vegetativno razmnoževanje ter majhen genom. Poleg topola so raziskave usmerjene še na evkalipt, bor, brezo in smreko. Velik korak je bil narejen leta 2006, ko je bil uspešno sekvenciran genom drevesa *Populus trichocarpa*. Poznavanje zaporedja genoma med drugim omogoča uporabo tehnologije izbivanja genov (angl. knock-out technology), s čimer je možno preučevanje funkcije posameznih genov (Bhalerao in sod., 2003). Genom iglavcev je mnogo večji od genoma listavcev, zaradi česar nukleotidno zaporedje genoma iglavcev še ni bilo določeno, največ raziskav pa je zato opravljenih na transgenih listavcih, čeprav so ti evolucijsko gledano naprednejši od iglavcev.

Nastanek lesa je niz razvojnih dogodkov, ki se začne v kambiju. Njegova aktivnost je zato z genetskega vidika zelo zanimiva, saj omogoča izboljšanje donosnosti. Iz kambijevih inicialk z delitvami, rastjo, nastankom sekundarne celične stene, lignifikacije in na koncu apoptoze nastanejo ksilemske celice. Grünwald in sodelavci (2002) so poročali o spremenjenem poteku diferenciacije celic

v ksilemskem tkivu transgenih topolov, pri katerih je bila zaradi izražanja gena 35S-rolC aktivnost kambija zmanjšana. Nastajanje ksilemskih celic je bilo v primerjavi z divjim tipom počasnejše. Nalaganje sekundarne celične stene se je pričelo že v celicah, le nekaj nizov oddaljenih od kambija, nekatere celice pa so vsebovale tudi želatinski sloj. Ker so vsi dogodki nastajanja lesa med seboj povezani, vsaka sprememba v nastanku lesa vpliva na nadaljnji razvoj in aktivnost. Gensko spreminjanje lesa je zato izredno zapleteno in zahteva poznavanje genomike, s katero preučujemo delovanje in regulacijo celotnega genoma in ne le posameznega gena (Bhalerao in sod., 2003). Velik del gensko spremenjenih dreves ima spremenjene kemične lastnosti lesa, cilji raziskav pa so usmerjeni tudi na nekatere druge lastnosti (preglednica 2) (Nehra in sod., 2005, Valenzuela in sod., 2006).

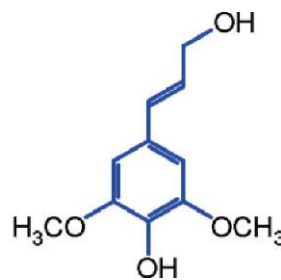
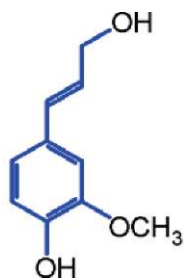
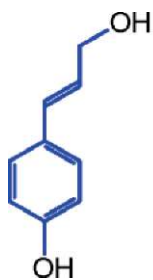
## GENSKO SPREMINJANJE LIGNINA

Lignin je kompleksen polimer, ki se inkrustrira v polisaharidne komponente lesa. Vsebnost lignina je večja pri iglavcih (okoli 30 %) kot pri listavcih (do 25 %). Vsebnost lignina je največja v srednji lameli, vendar pa ga je največ, kar 70 %, v sekundarni steni, ki je najdebelejši sloj olesenele rastlinske celične stene. Lignin nastane iz treh osnovnih fenilpropanskih enot (monolignolov) - p-kumaril, koniferil in sinapil alkohola (slika 1). Iz njih nastanejo hidroksifenilne (H), gvajacilne (G) in siringilne (S) enote lignina.

Gvajacilni lignin, ki nastane pri polimerizaciji koniferil alkohola, je značilen za iglavce. Lignin listavcev nastane s polimerizacijo koniferil in sinapil alkohola, pri čemer nastane gvajacilni-siringilni lignin. Ta vsebuje več metoksi skupin

## Preglednica 2. Cilji izboljšav gensko spremenjenih dreves.

Sprememba	Namen
Večja vsebnost celuloze in manj lignina	Večji delež in bolj ekološka proizvodnja pulpe
Modifikacija lignina	Okolju prijaznejša in cenejša priprava pulpe
Večja gostota lesa	Boljše mehanske lastnosti
Odpornost na sušo, nizke temperature in druge dejavnike abiotnega stresa	Boljša kakovost rastlin ter okolju prijaznejše gojenje
Odpornost na herbicide žuželke in glive	
Izboljšana, hitrejša rast	Večji donos lesa
Manjši delež juvenilnega lesa	Povečan delež adultnega lesa z boljšimi fizikalno mehanskimi lastnostmi



**Slika 1. Osnovne enote lignina: p-kumaril (levo), koniferil (sredina) in sinapil (desno) alkohol (Sakakibara in Sano, 2001).**

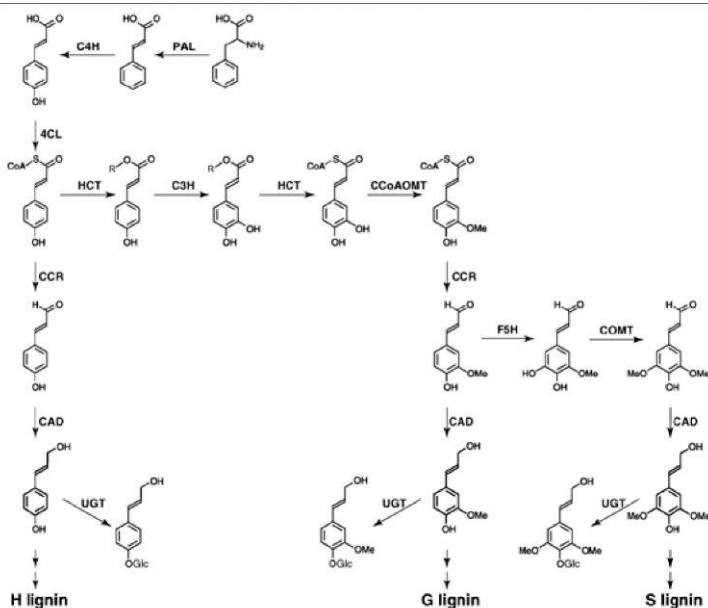
(-OCH<sub>3</sub>), sicer pa na lastnosti lignina, kot so na primer toplotnost, polarnost in barva, vplivajo številne nanj vezane funkcionalne skupine, predvsem fenolne, hidroksilne in karbonilne (Sakakibara in Sano, 2001).

Lignin je pomembna komponenta rastlinske celične stene. Rastlinski celici daje mehansko trdnost, zaradi hidrofobnosti omogoča transport vode v vaskularnih celicah ter predstavlja zaščito pred škodljivimi organizmi. Za rastline je lignin torej izredno pomemben, njegova prisotnost v rastlinski biomasi pa ima v številnih industrijskih procesih, kot so papirništvo, priprava krme za živino in razgradnja lignoceluloznih materialov za pridobivanje biogoriv, negativne učinke. Predvsem pridelava biogoriv je v zadnjem času povzročila velik porast raziskav lignina. Gensko spreminjanje vsebnosti lignina ali njegove kemične zgradbe z vidika omenjenih področij ponuja možnost ustvarjanja lesa z boljšo kakovostjo. Manipulacija lignina je možna na nivoju sinteze monolignolov, njihovega transporta do celične stene ali polimerizacije v celični steni (Rastogi in Dwivedi, 2008).

Pri izdelavi papirja je potrebno celulozo ločiti od ostalih lesnih polimerov. Najpomembnejša postopka delignifikacije lesa za pridobivanje celuloznih vlaken sta alkalni ali kraft postopek in kisli postopek. Pri kraft postopku, ki

se skoraj izključno uporablja v praksi, les kuhamo v bazični raztopini (NaOH in Na<sub>2</sub>S), s katero razgradimo lignin in ga nato speremo iz lesa (Chiang, 2002; Baptista, 2006). Sestava lignina (deleži posameznih vrst ligninskih monomerov) močno vpliva na postopek delignifikacije. Lignine z visokimi deleži siringilnih enot (in z manj gvajacilnimi enotami) lahko bolj učinkovito ekstrahiramo iz lesa. Škodljive kemikalije se prav tako uporabljajo za beljenje lesne pulpe. Papirništvo je tako okoljsko zelo sporna industrija, saj porablja ogromne količine energije in kemikalij. Transgena drevesa z manjšim deležem lignina so zato v tej panogi zaželena, saj bi se pri delignifikaciji in beljenju tako porabilo manj sredstev za kemikalije ter, pomembneje, manj kemikalij samih, kar posledično pomeni manj škodljivih vplivov na okolje.

Večina raziskav genskega inženiringa lignina se osredotoča na biosintezo monolignolov ter na encime, ki v njej sodelujejo. Proces lignifikacije namreč zajema biosintezo monolignolov, pri čemer sodelujejo številni encimi (slika 2). Z regulacijo genov, ki nosijo zapis za te encime, bi teoretično lahko vplivali na sintezo monolignolov in posledično na strukturo ter vsebnost lignina. Hu in sodelavci (1999) so ustvarili transgeni topol, pri katerem so znižali izražanje gena *Pt4CL1*, ki kodira zapis za encim 4-kumarat:koencim A ligazo (*4CL*) (slika 2). Znižana ekspresija tega gena je v lesu povzročila 45 % znižanje količine lignina, ki se je nadomestil s 15 % povečanjem vsebnosti celuloze. Skupna masa lignina in celuloze v transgenem topolu je ostala praktično nespremenjena. Raziskovalci so opazili izboljšano rast korenin, stebela in listov, celične stene pa so obdržale svojo strukturno integriteto. Zmanj-



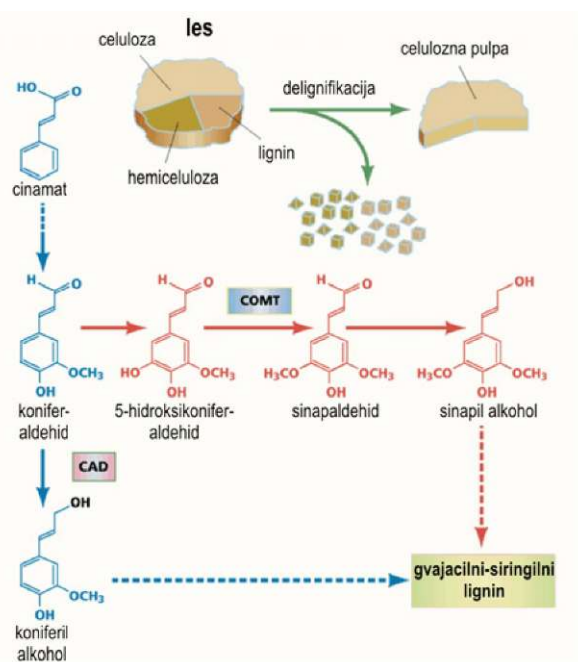
**Slika 2. Biosintezna pot monolignolov pri listavcih (prirejeno po Vanholme in sod., 2008). PAL, fenilalanin amoniak liaza; C4H, cinamat 4-hidroksilaza; 4CL, 4-kumarat:CoA ligaza; HCT, p-hidroksicinamoil-CoA:kvinat/šikimat p-hidroksicinamoil transferaza; C3H, p-kumarat 3-hidroksilaza; CCoAOMT, kafeoil-CoA O-metiltransferaza; CCR, cinamoil-CoA reduktaza; F5H, ferulat 5-hidroksilaza; COMT, kafeat O-metiltransferaza; CAD, cinamil alkohol dehidrogenaza; UGT, UDP-glukoziltransferaza.**

šana vsebnost lignina ni imela negativnih učinkov na rast ali strukturo. Rezultati študije nakazujejo, da utegne biti nalaganje celuloze in lignina povezano ter da se drevo na zmanjšano vsebnost lignina odzove s povečanjem količine celuloze. Na tak način se ohranja mehanska trdnost ksilemskega tkiva. Temu sistemu je podoben tudi tenzijski les listavcev, kjer je v celični steni prisoten želatinski sloj, ki vsebuje pretežno celulozne mikrofibrile ter manj lignina.

Na sliki 3 je predstavljena poenostavljena biosinteza lignina v listavcih. Cinamil alkohol dehidrogenaza (CAD) je encim, ki katalizira zadnjo stopnjo biosinteze ligninskega monomera koniferil alkohola. Znižana raven izražanja gena za ta encim je pri topolu povzročila nastanek lignina, ki je bil kemijsko bolj reaktiven. Pilate je s sodelavci (2002) skušal z utišanjem gena za ta encim zmanjšati količino lignina, namesto tega pa je supresija encima CAD povzročila nastanek lignina, ki je vseboval več prostih fenolnih skupin. Takšen les lahko delignificiramo z manjšimi količinami kemikalij, saj je spremenjeni lignin bolj topen v alkalnih kemikalijah. Poleg znižanja ravni izražanja gena za encim CAD so raziskovalci skušali količino lignina zmanjšati tudi z utišanjem gena za encim kafeat O-metiltransferazo (COMT). Ta encim katalizira biosintezo S monolignola

(slika 3). Namesto pričakovane manjše vsebnosti lignina je gensko spremenjeni les vseboval lignin, ki ga je težje odstraniti iz lesa, saj je vseboval manjši delež S monolignolov.

V transgenem topolu s čezmerno ekspresijo gena za encim ferulat 5-hidroksilaza (*F5H*) (slika 2) sta bila ekstrakcija lignina in beljenje lesne pulpe bistveno izboljšana, medtem ko je bila kvaliteta vlaken enaka ali celo boljša (Boerjan, 2005). Kombinacija čezmerne ekspresije gena za encim koniferaldehid 5-hidroksilazo (*Cald5H*) in znižane ekspresije gena za encim 4CL je v topolu povzročila manj lignina, ki se je nadomestil s celulozo in je bil manj odporen na delignifikacijo (večja vsebnost siringilnih enot) (Boerjan, 2005; Li in sod., 2003). Koehler in Telewski (2006) sta poročala o večjem modulu elastičnosti pri topolu, ki je imel zaradi čezmerne izražanja encima F5H prav tako večjo vsebnost siringilnih enot, upogibna trdnost pa je ostala nespremenjena. Yu je s sodelavci (2006) ustvaril mutante bora, ki so bili zaradi izražanja gena *cad-n1* nezmožni sintetizirati encim CAD. Drevesa, ki so bila homozigotna za gen *cas-n1*, so imela slabšo rast, vendar so bila bolj uporabna za delignifikacijo. Pri drevesih, ki



**Slika 3. Biosinteza lignina pri listavcih (povzeto po Chiang, 2002). COMT, kafeat O-metiltransferaza; CAD, cinamil alkohol dehidrogenaza.**

so bila heterozigotna za ta gen, pa so raziskovalci ugotovili boljšo rast ter večjo gostoto lesa.

Zanimiva je tudi genska transformacija topola, ki ima vstavljen gen za ksiloglukanazo iz glive *Aspergillus aculeatus*. Ksiloglukan povezuje celulozne mikrofibrile in hemiceluloze, ksiloglukanaze pa cepijo ksiloglukan, kar omogoča rast celic. Park je s sodelavci (2004) uspešno ustvaril topol, ki je izražal ksiloglukanazo iz omenjene glive. Mlada drevesa so bila večja ter so imela več celuloze in manj lignina. Po predvidevanjih avtorjev raziskave so bila drevesa višja zaradi znatno povečane količine celuloze. Spremenjeno izražanje genov vpliva tudi na mehanske lastnosti lesa. Modul elastičnosti v zreli coni je bil v primerjavi z divjim tipom večji, v rastni coni pa je bil modul elastičnosti manjši. V prihodnosti lahko tako izboljšamo tudi mehanske lastnosti lesa. Do sedaj so pri gensko spremenjenih drevesih ocenjevali le osnovne mehanske lastnosti lesa, najpogosteje poleg modula elastičnosti še upogibno trdnost. Zmanjšana vsebnost lignina je v do zdaj objavljenih raziskavah večinoma povzročila poslabšanje obeh omenjenih lastnosti (Koehler in Telewski, 2006).

Na rast in razvoj dreves vplivajo rastlinski hormoni, zato lahko tudi s spremembami v količini hormonov (predvsem avksinov in giberelinov) in s spremembami njihovih signalnih poti povzročimo drugačne lastnosti dreves oziroma lesa. Eriksson in sodelavci (2000) so tako povečali ekspresijo gena za GA 20-oksidazo, encim, ki sodeluje pri nastanku hormona giberelina pri topolu. Giberelini regulirajo rast in različne razvojne procese pri rastlinah, znižane ravni giberelinov pa povzročijo pritlikavo rast. Giberelini poleg tega pri drevesih povzročajo diferenciacijo ksilemskih vlaken, vplivajo na njihovo dolžino ter rast dreves v radialni smeri. Topoli s čezmerno ekspresijo gena za GA 20-oksidazo so v raziskavi rasli hitreje tako v višino kot širino, imeli so večje liste ter več ksilemskih vlaken, ki so bila poleg tega tudi daljša.

## **POMANJKLJIVOSTI GENSKEGA INŽENIRINGA DREVES**

V nekaterih raziskavah je zmanjšan delež lignina povzročil neželene lastnosti dreves, kot so ovirana rast, povečana dovzetnost za okužbe in sesedanje celičnih sten oziroma prevodnih elementov. Ti rezultati so pomembni pri načrtovanju genskih sprememb lignina, še vedno pa ni povsem zanesljivo, ali bo rezultat genske spremembe uspešen oziroma takšen, kot je bilo načrtovano (primer Pilate in sod., 2002).

Težava pri drevesih z gensko spremenjenim ligninom je slabša trdnost tkiv, saj pri takšnih drevesih prihaja predvsem do sesedanja prevodnih elementov, pojavlja pa se

tudi slabša odpornost proti patogenim organizmom. Hipolignificirane traheje so v primerjavi s trahejami v divjem tipu zvite, se sesedajo ter ne zdržijo pritiskov, ki nastajajo ob prevajanju vode (Grima-Pettenati in Goffner, 1999). Glede na to, da se je področje gensko spremenjenih dreves šele začelo dobro razvijati, se pri raziskavah pojavijo tudi nepričakovani rezultati. Spreminjanje izražanja enega gena namreč vpliva na celotno biosintezo pot. Nekaj raziskovalcev je kljub temu poročalo, da zmanjšana količina lignina ni imela negativnih učinkov na drevesa, največkrat zato, ker je drevo manjši delež lignina kompenziralo na različne načine, ki so še naprej zagotavljali trdnost. Hu in sodelavci (1999) so poročali o povišani vsebnosti celuloze, prav tako pa lahko dodatno trdnost povzroči prisotnost povečane količine fenolnih spojin, vezanih v celični steni (Boudet, 2000).

## **OKOLJSKI VPLIVI**

Ker so gensko spremenjene rastline ustvarjene na drugačen način, kot bi se to zgodilo v naravi, jih pravna ureditev obravnava kot posebnost. Gensko spremenjene rastline v okolje prehajajo postopno. Prva stopnja raziskav transgenih rastlin je omejena na zaprte sisteme (laboratoriji in rastlinjaki), čemur sledijo poljski poskusi ter končno dovoljenje za kmetijsko pridelavo. Ker je področje transgenih dreves razmeroma mlado, je večina poskusov omejena na rastlinjake. Pilate in sodelavci (2002) so vplive transgenih topolov (represija encima CAD) ugotavljali v večletnem poljskem poskusu. Kljub prednostim, ki jih za številne industrije predstavljajo drevesa z modificiranim ligninom, namreč obstaja vprašanje ekološkega vpliva teh dreves. Lignin predstavlja zaščito pred delovanjem škodljivih organizmov, zato so takšna drevesa lahko bolj dovzetna za okužbe, prav tako pa ni poznan vpliv spremenjenega lignina na talne mikroorganizme, ki lignin razgrajujejo. V svoji raziskavi so Pilate in sodelavci (2002) ugotovili, da modificiran lignin ni imel nobenih nepričakovanih bioloških ali ekoloških učinkov, interakcije z insekti, mikrobnimi patogeni ter organizmi v prsti pa so bile prav tako nespremenjene.

## **SKLEP**

Kljub dokaj številnim poskusom priprave transgenih dreves so ta v komercialni rabi le na Kitajskem, kjer sadijo Bt-topole z odpornostjo proti insektom, na Havajih pa na uničujoč virus odporne papaje (Nehra in sod., 2005; Valenzuela in sod., 2006). Po svetu poteka več kot 200 poljskih poskusov, vendar se raziskovalci že na tej stopnji srečujejo z močnim nasprotovanjem javnosti in organiziranih skupin, ki se kaže v uničevanju poskusnih polj. Tako kot ostale veje biotehnologije tudi transgena drevesa niso izjema in so že sami poskusi razumevanja delovanja dre-

ves na molekularnem nivoju nezaželeni. Možni škodljivi vplivi gensko spremenjenih dreves na okolje so enaki kot pri ostalih gensko spremenjenih rastlinah. Med največkrat omenjene spadajo prenos genov iz transgenega organizma v netransgene organizme (ker so drevesa dolgoživi organizmi, predvsem dolgoročno širjenje peloda na velike razdalje) in nenamerni vplivi na neciljne organizme (Bohanec in sod., 2004). Pričakujemo lahko, da bo tudi področje gensko spremenjenih dreves sledilo podobnemu razvoju, kot so ga doživela ostala področja rastlinske biotehnologije. Zagotovo pa bodo tudi gensko spremenjena drevesa podvržena temeljiti presoji tveganja, preden bodo prišla v splošno uporabo.

## LITERATURA IN VIRI

- Baptista C., Robert D., Duarte A.P. (2006)** Effect of pulping on lignin structure from maritime pine kraft pulps. *Chemical Engineering Journal*, 121: 153-158
- Bhalerao R., Nilsson O., Sandberg G. (2003)** Out of the woods: biotechnology enters the genomic era. *Current Opinion in Biotechnology*, 14: 206-213
- Boerjan W. (2005)** Biotechnology and the domestication of forest trees. *Current Opinion in Biotechnology*, 16: 159-166
- Bohanec B., Javornik B., Strel B. (2004)** Gensko spremenjena hrana. Ministrstvo za okolje, prostor in energijo: Združenje živilske industrije pri Gospodarski zbornici Slovenije: Biotehniška fakulteta, Ljubljana, 167
- Boudet A.M. (2000)** Lignins and lignification: Selected issues. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38: 81-96
- Chiang V.L. (2002)** From rags to riches. *Nature Biotechnology*, 20: 557-558
- Eriksson M.E., Israelsson M., Olsson O., Moritz T. (2000)** Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length. *Nature Biotechnology*, 18: 784-788
- Gartland K.M.A., Crow R.M., Fenning T.M., Gartland J.S. (2003)** Genetically modified trees: production, properties, and potential. *Journal of Arboriculture*, 29: 259-266
- Grima-Pettenati J., Goffner D. (1999)** Lignin genetic engineering revised. *Plant Science*, 145: 51-65
- Grünwald C., Ruel K., Schmitt U. (2002)** Differentiation of xylem cells in rolC transgenic aspen trees - a study of secondary cell wall development. *Annals of Forest Science*, 59: 679-685
- Hu W.J., Harding S.A., Lung J., Popko J.L., Ralph J., Stokke D.D., Tsai C.J., Chiang V.L. (1999)** Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees. *Nature Biotechnology*, 17: 808-812
- Koehler L., Telewski W. (2006)** Biomechanics and transgenic wood. *American Journal of Botany*, 93: 1433-1438
- 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100: 4939-4944
- Nehra N.S., Becwar M.R., Rottman W.H., Pearson L., Chowdhury K., Chang S., Dayton Wilde H., Kodrzycki R.J., Zhang C., Gause K.C., Parks D.W., Hinchey M.A. (2005)** Forest biotechnology: innovative methods, emerging opportunities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 41: 701-717
- Park Y.W., Baba K., Furata Y., Iida I., Sameshima K., Arai M., Hayashi T. (2004)** Enhancement of growth and cellulose accumulation by overexpression of xyloglucanase in poplar. *FEBS Letters*, 564: 183-187
- Pilate G., Guiney E., Holt K., Petit-Conil M., Lapierre C., Leple J.C., Pollet B., Mila I., Webster E.A., Marstorp H.G., Hopkins D.W., Jouanin L., Boerjan W., Schuch W., Cornu D., Halpin C. (2002)** Field and pulping performances of transgenic trees with altered lignification. *Nature Biotechnology*, 20: 607-612
- Rastogi S., Dwivedi U.N. (2008)** Manipulation of lignin in plants with special reference to O-methyltransferase. *Plant Science*, 174: 264-277
- Sakakibara A., Sano Y. (2001)** Chemistry of lignin. V: Wood and Cellulosic Chemistry. Hon DNS (Ur.), Shirashi N (Ur.), Marcel Dekker, New York, 109-173
- Valenzuela S., Balocchi C., Rodriguez J. (2006)** Transgenic trees and forestry biosafety. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9: 335-339
- Vanholme R., Morreel K., Ralph J., Boerjan W. (2008)** Lignin engineering. *Current Opinion in Plant Biology*, 11: 278-285
- WRM Briefing, GE Tree research- A country by country overview. (2008)** World Rainforest Movement. [http://www.wrm.org.uy/subjects/GMTrees/Briefing\\_GM\\_Trees\\_by\\_country.pdf](http://www.wrm.org.uy/subjects/GMTrees/Briefing_GM_Trees_by_country.pdf) (26. april 2010)
- Yu Q., Li B., Nelson C.D., McKeand S.E., Batista V.B., Mullin T.J. (2006)** Association of the cad-n1 allele with increased stem growth and wood density in full-sib families of loblolly pine. *Tree Genetics & Genomes*, 2: 98-108

## O AVTORICI PRISPEVKA AJDA ULČNIK

Ajda Ulčnik je rojena v Ljubljani, kjer je obiskovala gimnazijo Poljane in na maturi dosegla zlat uspeh. Leta 2009 je z diplomskim delom »Ugotavljanje remedijskega potenciala ligninolitičnih gliv za razgradnjo lindana« pod mentorstvom prof. dr. Franca Pohlevna uspešno zaključila univerzitetni študij biotehnologije. Istega leta je pri prof. dr. Francu Pohlevnu postala mlada raziskovalka, kjer nadaljuje z delom na področju razgradnje biocidov z lesnimi glivami

