

A BIOTECNOLOGIA NO SETOR FLORESTAL

Carlos Alberto Labate

A biotecnologia está revolucionando a atividade humana nas mais diversas áreas. No setor florestal, as novas tecnologias, como transgenia, genômica, proteômica e bioinformática, estão sendo rapidamente incorporadas. A associação dessas tecnologias aos programas de melhoramento convencional de árvores pode acelerar o processo de obtenção de madeiras de melhor qualidade. Árvores com conteúdo reduzido ou composição alterada de lignina, por exemplo, são desejáveis para o setor de papel e celulose, pois representam custos menores no processo de produção, além de eliminação dos danos ambientais causados pelos rejeitos. Outro exemplo de aplicação das novas tecnologias é a possibilidade de seqüenciamento de cDNAs (ESTs – Expressed Sequence Tags), de diferentes tecidos da árvore. A genômica e a bioinformática, em conjunto, oferecem a oportunidade de isolamento de centenas de genes marcadores que apresentam expressão diferencial. Convém, portanto, examinar os aspectos do metabolismo dos fenilpropanóides e as estratégias utilizadas por vários grupos de pesquisa para diminuir a atividade de enzimas regulatórias da biossíntese da lignina, bem como o potencial de aplicação das técnicas de genômica funcional em florestas.

A crescente demanda por madeira nas diversas atividades humanas – indústria da construção, fabricação de móveis, energia, papel e celulose, entre outras – tem resultado na diminuição das reservas de florestas naturais em diversos países, principalmente nas regiões tropicais. A necessidade de suprir os mercados consumidores com essa *commodity* e a pressão existente nos países em desenvolvimento para expandir as fronteiras agrícolas, representam uma forte ameaça à preservação das florestas naturais. A solução desse problema requer um esforço global de estímulo aos países em desenvolvimento com vistas a aumentar as áreas reflorestadas. Entretanto, o aumento da exploração da madeira proveniente de reflorestamento vai depender da qualidade do produto, que deve ser suficiente para concorrer com as espécies nativas.

O mercado global de madeira, para as diferentes finalidades, representa cerca de 2% da economia mundial, com previsão de crescimento acentuado para os próximos anos.¹ Esse crescimento está associado às necessidades específicas de cada atividade. Por exemplo, em alguns setores como o da indústria de móveis e construção, há uma forte demanda por madeiras especiais, com uniformidade de coloração, boa resistência e alta densidade. Na indústria de papel e celulose, a diminuição do conteúdo de lignina é uma das características desejadas. Na área florestal, a precocidade para colheita, uniformidade da madeira e resistência a doenças e pragas, são exemplos do que se deseja. Essas novas demandas da indústria exigem investimentos em programas de melhoramento no setor florestal, na busca de árvores mais produtivas e de melhor qualidade.

A aplicação dos métodos convencionais de melhoramento na área florestal apresenta sérias limitações, principalmente devido ao tempo necessário para completar cada geração de cruzamentos e obtenção de progênies segregantes, na maioria dos casos, alguns anos. Além disso, a seleção de caracteres como qualidade da madeira, padrão de crescimento e produtividade, só podem ser avaliados no final do ciclo de cultivo. A introdução das tecnologias do DNA pode acelerar o processo de seleção. Por exemplo, a seleção assistida por marcadores moleculares (AFLP, RAPD e SSR) para a identificação de marcadores associados a caracteres quantitativos (QTLs), como resistência a doenças, qualidade da madeira, e o uso de técnicas de transgenia para a introdução de genes específicos, via transformação genética, são algumas das metodologias que podem ser aplicadas. Além disso, o rápido desenvolvimento das áreas de Genômica, Proteômica e Bioinformática estão revolucionando a biologia, possibilitando a identificação e clonagem de uma série de genes de interesse em tempo relativamente curto. A área florestal já está se beneficiando de todos esses avanços, razão suficiente para justificar o exame de alguns aspectos da aplicação dessas tecnologias, com ênfase no

¹ SEDEROFF, R. Building better trees with antisense. *Nature Biotechnology*, 17, 750-751, 1999.

uso da transgenia para alterar a biossíntese da lignina em árvores e da genômica para a identificação de genes de interesse.

Uso das técnicas de transgenia para alterar a biossíntese da lignina

A qualidade da madeira depende da sua composição química e propriedades físicas. Seus principais componentes são celulose, hemiceluloses e ligninas. A celulose é o mais abundante, constituindo cerca de 50% do peso seco da madeira.² As hemiceluloses ocorrem em menor proporção, de 20 a 30% dos polissacarídeos não celulósicos, enquanto as ligninas representam de 15 a 36% do peso seco da madeira.³ A alteração da biossíntese das ligninas tem despertado grande interesse da indústria de papel e celulose, em razão da sua interferência na qualidade do papel e da necessidade de eliminá-la da pasta celulósica, que acarreta aumento nos custos de produção e danos ao meio ambiente.

O conhecimento das vias de biossíntese de compostos secundários nas plantas, como a lignina, permitiu o desenvolvimento de várias estratégias moleculares para diminuir o conteúdo e alterar a composição desse polímero. A biossíntese das ligninas inicia-se na via do Shiquimato, com a condensação dos precursores fosfoenolpiruvato e eritrose 4-fosfato, catalisada pela enzima 3-desoxi-D-arabino-heptulosonato-7 fosfato sintase (DAHP sintase). Nesse processo, três aminoácidos aromáticos são formados: fenilalanina, tirosina e triptofano. A fenilalanina é desaminada pela enzima fenil alanina amônio-liase (PAL), formando ácido cinâmico e NH_3 . A partir do ácido cinâmico, tem-se a formação de uma série de compostos intermediários até a síntese de três álcoois monoméricos (monolignols): comaril, coniferil e sinapil. A ação de enzimas oxidativas como as peroxidases, lacases e fenoloxidasas promove a polimerização dos monolignols, produzindo três tipos de ligninas: hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S). A proporção de cada um desses componentes na composição final da parede celular varia nos diferentes tecidos e entre espécies. De maneira geral, as ligninas nas gimnospermas e pteridófitas são formadas principalmente pela polimerização de guaiacil (G), enquanto nas angiospermas dicotiledôneas a predominância é de guaiacil-siringil (G-S). Nas monocotiledôneas, observa-se a presença dos três tipos, hidroxifenil-guaiacil-siringil (HGS).⁴

A transgenia tornou-se um poderoso instrumento para alterar a expressão de determinado gene e, conseqüentemente, os níveis da respectiva enzima codificada. Assim, é possível avaliar o controle que cada enzima exerce sobre determinado fluxo metabólico, identificando aquelas cuja alteração, na atividade, promovem mudanças na regulação do metabolismo. As estratégias descritas a seguir tiveram como objetivos modificar a biossíntese da

² HIGUCHI, T. *Biochemistry and molecular biology of wood*. Springer Series in Wood Sciences, Springer-Berlin, 1997.

³ SARKKANEN, K. V. & HERGERT, H. L. Classification and distribution. In: Sarkanen, K. V. & Ludwig, C. H. (Eds.) *Lignins: occurrence, formation, structure and reactions*. New York: Wiley-Interscience, 1971. p. 43-94.

⁴ BAUCHER, M., MONTIES, B., VAN MONTAGU, M., BOERJAN, W. Biosynthesis and genetic engineering of lignin. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 17, 125-197, 1998.

- ⁵ BATE, N. J., ORR, J., NI, W., MEROMI, A., NADLER-HASSAR, T., DOENER, P. W., DIXON, R. A., LAMB, C. J., ELKIND, Y. Quantitative relationship between phenylalanine ammonia-lyase levels and phenylpropanoid accumulation in transgenic tobacco identifies a rate-determining step in natural product synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 91, 7608-7612, 1994.
- ELKIND, Y., EDWARDS, R., MAVANDAD, M., HEDRICK, S. A., RIBAK, O., DIXON, R. A., LAMB, C. J. Abnormal plant development and down-regulation of phenylpropanoid biosynthesis in transgenic tobacco containing a heterologous phenylalanine-lyase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 87, 9057-9061, 1990.
- ⁶ SEWALT, V. J. H., NI, W., BLOUNT, J. W., JUNG, H. G., MASOUD, S. A., HOWLES, P. A., LAMB, C., DIXON, R. A. Reduced lignin content and altered lignin composition in transgenic tobacco down-regulated in expression of *L*-phenylalanine ammonia-lyase or cinnamate 4-hydroxylase. *Plant Physiology*, 115, 41-50, 1997.
- ⁷ VANCE, C. P., KIRK, T. K., SHERWOOD, R. T. Lignification as a mechanism of disease resistance. *Ann. Rev. Phytopathology*, 18, 259-288, 1980.
- ⁸ BORG-OLIVIER, O. & MONTIES, B. Lignin, suberin, phenolic acids and tyramine in the suberized, wound-induced potato periderm. *Phytochemistry*, 32, 601-606, 1993.
- HAWKINS, S. & BOUDET, A. Wound-induced lignin and suberin deposition in a woody angiosperm (*Eucalyptus gunni* Hook.): histochemistry of early changes in young plants. *Protoplasma*, 191, 96-104, 1996.
- VANCE, C. P., KIRK, T. K., SHERWOOD, R. T. Op. cit.

lignina em três níveis: a) no início do metabolismo do fenilpropanóide, alterando a atividade das enzimas PAL, C4H e 4CL; b) metilação dos monolignols, alterando a atividade das enzimas COMT e F5H; c) nos passos finais da biossíntese dos monolignols, modificando a expressão dos genes da CCR, CAD e lacases/peroxidases. Em todos esses trabalhos foram utilizadas construções quiméricas de genes, tanto no sentido “sense” como “antisense”, variando-se a atividade das respectivas enzimas.

A introdução da construção quimérica, contendo o gene *PAL2* de feijão em tabaco, sob controle do promotor constitutivo 35S-CaMV, promoveu a redução da atividade da PAL nas linhagens transgênicas, correspondendo a 0,2%-15% das plantas selvagens.⁵ Como consequência, houve severa redução da síntese de lignina no colmo das plantas transgênicas de tabaco e, também, alteração da composição monomérica, com uma baixa quantidade de unidades G e aumento da relação S/G.⁶ Os autores deste estudo observaram, ainda, efeitos no desenvolvimento das plantas além de uma maior susceptibilidade ao ataque de patógenos. Tais resultados são importantes, pois mostram a participação da lignina como um fator de resistência ao ataque de patógenos, funcionando como uma barreira físico-química à penetração de microrganismos nas células.⁷ Além disso, vários estudos têm demonstrado o desencadeamento do processo de lignificação nas regiões lesadas, como um mecanismo de resposta das plantas contra o ataque de patógenos, principalmente fungos.⁸

A supressão da atividade da cinamato-4 hidroxilase (C4H) em plantas de tabaco foi obtida de duas formas: pela expressão “antisense” do cDNA completo do gene da alfalfa, e através da superexpressão da mesma construção quimérica no sentido “sense”.⁹ A superexpressão do gene da alfalfa não causou diminuição do conteúdo de lignina ou mudança na sua composição monomérica. Por outro lado, a redução da atividade dessa enzima nas folhas, (a aproximadamente 35% dos valores encontrados nas plantas controle) via “antisense”, resultou em decréscimo do conteúdo de lignina e da relação S/G.¹⁰

A redução da atividade da 4-comarato:CoA ligase (4CL) foi obtida em plantas de tabaco pela supressão do(s) gene(s) endógeno(s), tanto para construções quiméricas utilizadas no sentido “sense”, como “antisense”.¹¹ Plantas com menor atividade dessa enzima apresentaram diminuição do conteúdo de lignina, com forte coloração marron do xilema, diferente do padrão branco-amarelado encontrado nas plantas controle. Essas alterações indicam que a lignina presente no xilema está bastante condensada. Recentemente foram produzidas plantas transgênicas de *Populus* que expressam o gene quimérico *PtCLI* (4CL) da espécie no sentido “antisense”, sob o controle do promotor 35S-CaMV.¹² Quatro dessas plantas apresentaram severa redução na quantidade do RNAm, promovendo-

⁹ SEWALT, V. J. H. *et al.* Op. cit.

¹⁰ SEWALT, V. J. H. *et al.* Op. cit.

¹¹ KAJITA, S., KATAYAMA, Y., OMORI, S. Alterations in the biosynthesis of lignin in transgenic plants with chimeric genes for 4-coumarate:coenzyme A ligase. *Plant Cell Physiology*, 37, 957-965, 1996.

¹² HU, W.-J., HARDING, S. A., LUNG, J., POPKO, J. L., RALPH, J., STOKKE, D. D., TSAI, C.-J., CHIANG, V. L. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees. *Nature Biotechnology*, 17, 808-812, 1999.

¹³ MEYER, K., CUSUMANO, J. C., SOMERVILLE, C., CHAPPLE, C. C. S. Ferulate-5-hydroxylase from *Arabidopsis thaliana* defines a new family of cytochrome P-450-dependent monooxygenases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 93, 6869-6874, 1996.

¹⁴ HALPIN, C., KNIGHT, M. E., FOXON, G. A., CAMPBELL, M. M., BOUDET, A. M., BOON, J. J., CHABBERT, B., TOLLIER, M.-T., SCHUCH, W. Manipulation of lignin quality by downregulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase. *Plant Journal*, 6, 339-350, 1994.

¹⁵ BAUCHER, M. *et al.*, Op. cit.

¹⁶ RALPH, J., HATFIELD, R. D., PIQUEMAL, J., YAHIAQUI, N., PEAN, M., LAPIERRE, C., BOUDET, A. M. NMR characterization of altered lignins extracted from tobacco plants down-regulated for lignification enzymes cinnamyl-alcohol dehydrogenase and cinnamoyl-CoA reductase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95, 12803-12808, 1998.

¹⁷ PIQUEMAL, J., LAPIERRE, C., MYTON, K., O'CONNEL, A., SCUCH, W., GRIMAPETTENATI, J., BOUDET, A. M. Down-regulation in cinnamoyl-CoA reductase induces significant changes of lignins profiles in transgenic

do redução de 90% da atividade dessa enzima no xilema e de 45% do conteúdo total de lignina, em relação ao controle. As plantas apresentaram ainda um aumento compensatório de 15% no conteúdo de celulose, tornando a relação lignina/celulose praticamente inalterada. Além dessas mudanças, as árvores com menor atividade da 4CL tiveram aumento da biomassa das folhas, caule e raiz.

Outra enzima envolvida no processo de metilação dos monolignols é a ferulato 5-hidroxilase (F5H). Meyer e colaboradores superexpressaram o gene da F5H sob o controle do promotor da C4H, numa linhagem mutante de *Arabidopsis (f5h)*.¹³ A expressão ectópica desse gene levou à formação de uma nova lignina, composta principalmente por unidades S, sem promover a redução do conteúdo total de lignina.

A alteração do fluxo metabólico na fase final da biossíntese da lignina foi obtida com a diminuição da atividade das enzimas cianamil álcool desidrogenase (CAD) e cinamoil-CoA redutase (CCR). Halpin *et al.* introduziram uma construção quimérica contendo o cDNA da CAD de tabaco no sentido "antisense", sob o controle do promotor 35S-CaMV.¹⁴ Duas linhagens transgênicas apresentaram redução da atividade da CAD entre 7 e 20% em relação aos controles. Apesar da forte redução da atividade dessa enzima, não houve alteração do conteúdo de lignina, embora a composição tenha sido modificada. As plantas expressando o "antisense" incorporaram um menor número de monômeros derivados do álcool cianamil na parede celular. Houve substituição preferencial por um monômero cianamil, derivado de aldeídos. Resultados semelhantes foram obtidos com *Populus*.¹⁵ Nesse caso, a extração da lignina foi facilitada em razão do aumento no conteúdo de aldeídos. Ralph *et al.* também observaram alterações na composição da lignina quando expressaram o "antisense" do gene homólogo da enzima CAD em plantas de tabaco.¹⁶ As plantas com redução da atividade CAD não mostraram diferenças no conteúdo total de lignina, embora a composição tenha sido alterada. Houve redução dos derivados dos álcoois coniferil e sinapil, que foi compensada pelo aumento nos níveis de benzoaldeídos e cinamalaldeídos.

O efeito da redução da atividade da cinamoil-CoA redutase (CCR) foi avaliado em plantas de tabaco utilizando o "antisense" do cDNA isolado de *Eucalyptus gunni*, sob o controle do promotor 35S-CaMV.¹⁷ Os transformantes primários apresentaram boa relação entre a diminuição na expressão do gene e redução da atividade da enzima. O conteúdo de lignina foi bastante reduzido nas linhagens com menor atividade da CCR. A composição da lignina também se alterou, aumentando a relação S/G, principalmente devido à redução na quantidade de guaiacil, além de outros compostos fenólicos. Na linhagem com maior redução da expressão do gene, o desenvolvimento da planta foi bastante afetado, com redução no tamanho, morfologia anormal das folhas e colapso dos vasos. A

tobacco plants. *Plant Journal*, 13, 71-83, 1998.

¹⁸RALPH, J. *et al.*, Op. cit.

diminuição da atividade da CCR também foi investigada,¹⁸ expressando o “antisense” do gene homólogo em plantas de tabaco. Da mesma forma que no trabalho anterior, as plantas com maior redução na atividade da enzima apresentaram redução significativa no conteúdo de lignina e alteração da composição, com a redução na quantidade de coniferil e aumento nos níveis de ferulato tiramina. As plantas também apresentaram alteração do desenvolvimento.

A Genômica aplicada às espécies florestais

Os resultados descritos, em alguns casos contraditórios, mostram que o processo de lignificação nas plantas é bastante complexo e possui forte plasticidade metabólica. Parte dessa plasticidade se deve às demais funções que os vários componentes da parede celular exercem nas plantas: transdução de sinais entre células, controle da morfogênese e respostas de defesa ao ataque de patógenos e insetos.¹⁹ Por outro lado, fica evidente que a alteração da biossíntese da lignina é possível, entretanto, ainda há necessidade de isolar vários genes que participam do processo. Os trabalhos recentes de clonagem dos genes que atuam na formação das ligninas, celulose e outros componentes da parede celular, demonstram a existência de famílias de genes que controlam várias isoformas das enzimas.

O crescimento da Genômica possibilitou o seqüenciamento de um grande número de ESTs (Expressed Sequence Tags) de várias culturas, a partir de clones de cDNAs gerados ao acaso de tecidos específicos. Essa tecnologia representa uma importante ferramenta para o isolamento de novos genes envolvidos com a biossíntese dos componentes da parede celular. Na área florestal, algumas iniciativas estão sendo feitas, como o programa de seqüenciamento de ESTs de *Pinus taeda* do projeto Dendroma do USDA e Universidade da Carolina do Norte-USA (<http://www.cbc.umn.edu/ResearchProjects/Pine/DOE.pine/index.html>). Até maio de 2000, o projeto já havia seqüenciado 9.715 ESTs, disponíveis no banco de dados do CBC (Computational Biology Centers). As primeiras avaliações desses programas mostram resultados bastante interessantes, principalmente com relação à regulação da expressão dos genes de lignificação. Sterky e colaboradores relatam o seqüenciamento em larga escala de ESTs de duas espécies de *Populus*.²⁰ O projeto teve como objetivos identificar genes relacionados à formação da madeira, isolados de diferentes tecidos. Foram produzidos 4.809 ESTs do meristema cambial para a identificação de genes estruturais e genes envolvidos com o controle do desenvolvimento desse tecido. Um segundo grupo de ESTs, no total de 883, foram produzidos da região de desenvolvimento do xilema. O número total de proteínas identificadas com funções conhecidas nas duas bibliotecas foi de 820, considerando que muitos dos transcritos representam isoformas da mesma proteína. Desse total, 164 foram identifica-

¹⁹WALTER, M. H. Regulation of lignification in defense. In: BOLLER, T. & MEINS, F. (Eds.). *Genes involved in plant defense* (Plant Gene Research Series). Wien: Springer, 1992. p. 327-352.

²⁰STERKY, F. *et al.* Gene discovery in the wood-forming tissues of poplar: Analysis of 5692 expressed sequence tags. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95, 13330-13335, 1998.

das nas duas bibliotecas, 581 na região de crescimento cambial e somente 75 na região de crescimento do xilema. Do total de genes isolados no trabalho, apenas 4% apresentam interesse para a área de biotecnologia florestal e estão relacionados com a formação da parede celular. A comparação dos genes que participam da biossíntese da lignina, identificados nas duas bibliotecas, mostrou diferenças na funcionalidade e distribuição. Por exemplo, a abundância dos transcritos para a lacase foi cerca de 45 vezes maior na região de crescimento do xilema do que na região cambial. Por outro lado, a expressão da peroxidase foi maior no tecido cambial.

Uma vez seqüenciados os vários ESTs, torna-se imprescindível a análise funcional dessa informação, não só para a identificação dos genes de interesse, mas também para conhecer o padrão de expressão gênica nos diferentes tecidos. O desenvolvimento da tecnologia de “Chips” de DNA ou “Microarrays” está revolucionando os estudos de genômica funcional, permitindo a avaliação de milhares de genes ao mesmo tempo, de forma paralela. Os chips podem ser construídos com base em duas tecnologias: a) “microarrays” de fragmentos de DNA (ESTs, por exemplo), b) “microarrays” de oligonucleotídeos. No primeiro caso, a deposição dos cDNAs numa lâmina de vidro é feita por meio de um robô capaz de imprimir milhares de pontos com diâmetro entre 50 e 150 μm . De maneira geral, numa área de vidro com 3,6 cm^2 podem ser depositados cerca de 10.000 ESTs, representando, potencialmente, cerca de 10.000 genes. A segunda tecnologia de construção dos chips de DNA é baseada na técnica fotolitográfica, permitindo a impressão de segmentos de DNA com aproximadamente 20 a 25 oligonucleotídeos, sintetizados com base nas seqüências de genes conhecidos, depositadas em bancos de gene. Essa tecnologia possibilita a impressão de um grande número de seqüências, entre 65.000 e 400.000 por lâmina de vidro. Uma vez produzidos, os “microarrays” são hibridizados com as sondas de RNAm, preparadas a partir de duas fontes distintas e marcadas com nucleotídeos de dCTP que fluorescem em comprimentos de onda distintos. Por exemplo, as sondas produzidas a partir de tecidos da região de crescimento do xilema e da região cambial, seriam marcadas com corantes à base de cianina: Cy3-dCTP (amarelo) e Cy5-dCTP (vermelho), respectivamente. Em seguida, as sondas são misturadas e hibridizadas com os “microarrays” depositados na lâmina de vidro. O sinal fluorescente emitido de cada ponto de hibridização, representa a abundância do cDNA correspondente. A emissão de fluorescência é detectada por um microscópio confocal a laser, que faz a varredura de todo o campo de distribuição dos “microarrays”, produzindo uma imagem de pontos com diferentes intensidades de luz e cores. A imagem é então armazenada e processada por um computador acoplado ao microscópio, obtendo-se uma informação

quantitativa da expressão gênica nos diferentes tecidos analisados.

Uma característica interessante dessa tecnologia é que uma vez seqüenciados os ESTs, mesmo que não tenham sido anotados, várias lâminas podem ser produzidas contendo a mesma distribuição de genes. Dessa forma, o padrão de expressão gênica em diferentes tecidos pode ser comparado a uma mesma plataforma de informações. Por exemplo, pode-se comparar o padrão de expressão de diferentes progênies ou clones, submetidos à deficiência de determinado nutriente, identificando os genes que são expressos ou reprimidos de maneira diferencial em relação aos controles. O objetivo desses experimentos é descobrir um número limitado de genes marcadores altamente específicos para cada tipo de tecido, estágio de desenvolvimento ou ambiente. Nesse caso, o interesse é identificar genes que mostram uma forte indução seletiva ou repressão da expressão. Uma vez caracterizado o padrão de expressão gênica das progênies tolerantes e suscetíveis, essa informação pode ser usada para comparar novas progênies ou clones. A tecnologia também pode ser empregada para a identificação de polimorfismos de genes para características de interesse, como qualidade da madeira, resistência a estresses bióticos e abióticos. Trata-se, portanto, de uma nova ferramenta com grande potencial de aplicação em várias áreas da pesquisa florestal.

A biotecnologia aplicada às espécies florestais está se desenvolvendo rapidamente, principalmente devido ao interesse comercial. A principal limitação, para a maioria das espécies, é a disponibilidade de um método eficiente de transformação genética. Até o momento, *Populus* representa o principal gênero de árvores geneticamente transformadas, com sucesso e em larga escala. No caso das coníferas, a principal limitação à transformação genética é a ausência de sistemas eficientes de regeneração *in vitro* e propagação clonal, para a maioria das espécies. Além disso, as coníferas são pouco sensíveis à transformação via *Agrobacterium*, sendo a biolística a metodologia mais indicada para a transformação genética. O eucalipto é outro exemplo da necessidade de desenvolvimento de métodos de transformação genética eficientes. Embora a transformação genética tenha sido relatada para algumas espécies como *E. globulus*²¹, *E. gunni* e *E. camaldulensis*²², utilizando *Agrobacterium* como vetor de transferência, esses sistemas não se mostraram eficientes para a maioria das espécies.

O desenvolvimento de programas de Genômica de árvores e o seqüenciamento de uma grande quantidade de ESTs de diferentes tecidos será importante para o isolamento e caracterização de vários genes envolvidos com a qualidade da madeira, como no caso dos processos de lignificação, biossíntese de celuloses e de hemiceluloses. O setor florestal, por certo, poderá beneficiar-se de forma significativa com a incorporação das novas tecnologias disponíveis aos programas de melhoramento já existentes.

²¹MORALEJO, M. *et al.* Generation of transgenic *Eucalyptus globulus* plantlets through *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation. *Australian Journal Plant Physiology*, 25: 207-212, 1998.

²²TEULIERES, C. *et al.* Genetic transformation of *Eucalyptus*. In: BAJAJ, Y. P. S. (ed.). *Biotecnology in Agriculture and Forestry*, v. 29, Berlin: Springer-Verlag, 1994. p. 289-307.

Carlos Alberto Labate é doutor em Genética e professor do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.