

POTENCIAL BIOQUÍMICO E BIOTECNOLÓGICO DA ACÁCIA NEGRA VISANDO SUA EXPLORAÇÃO COMERCIAL

BIOCHEMICAL AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF BLACK WATTLE FOR COMMERCIAL EXPLOITATION

Paulo Celso de Mello-Farias^{1*}, Alexander Kuhn², Éder Julio Kinast³, Ana Lúcia Soares Chaves⁴.

RESUMO

A acácia negra, espécie arbórea muito comum utilizada em reflorestamentos no sul brasileiro apresenta um grande potencial biotecnológico. Além do interesse econômico pela madeira e pelos taninos, determinadas rotas metabólicas que produzem grande quantidade de taninos, tornam essa espécie interessante, sob o ponto de vista bioquímico. Alguns procedimentos biotecnológicos, como a propagação *in vitro*, a produção de híbridos e a transformação genética de plantas, podem ser utilizados para contornar problemas de manejo e de controle florestal e por isso são abordados nesta revisão.

Palavras Chave: *Acacia mearnsii*, melhoramento de plantas, taninos, lignina.

ABSTRACT

Black Wattle, a very common hardwood species used in reforestation in southern of Brazil, presents an enormous biotechnological potential. Besides the economic interest for wood and tannin, certain metabolic routes existing that produce great amount of tannin, make this species interesting from the biochemical point of view. Some biotechnological procedures, as *in vitro* propagation, production of hybrids and plant genetic transformation, can be used to circumvent problems of management and forest control, therefore are discussed in this review.

Key words: *Acacia mearnsii*, plant breeding, tannins, lignin.

INTRODUÇÃO

A *Acacia mearnsii* (De Wild), comumente conhecida como acácia negra, é uma planta lenhosa natural do sudeste do continente Australiano, pertencente à família *Fabaceae*, e sub-família *Mimosoideae* (QUOIRIN *et al.*, 2001). A acácia negra é largamente utilizada em plantios comerciais no sul da África e no sudeste da América do Sul, tendo sido introduzida a partir de 1864 na África do Sul (BECK *et al.*, 2003a) e 1918 no Brasil (CAMILLO *et al.*, 1999; CALDEIRA *et al.*, 2001).

Por se tratar de uma leguminosa, seu uso é bastante diverso, possibilitando a fixação de nitrogênio em associação com *Rhizobium*, o que é comum a todas as espécies de acácia, o que abre um leque importante para a associação desta cultura com a recuperação de áreas degradadas (FARIA *et al.* 1996).

A acácia negra tem uma importância significativa pela utilização industrial de seus taninos, tanto para o curtimento de peles, como para a produção de especialidades químicas. Merece destaque a utilização desses extratos vegetais como matéria prima para a síntese de diferentes *compósitos* que servem à produção de polímeros (HOINACKI *et al.*, 1994 ; CALDEIRA *et al.*, 2001; LEE & LAN, 2006). O lenho da planta adulta pode ser utilizado tanto para a produção de celulose, papel e carvão ou simplesmente para a geração de energia. Neste sentido, há vários trabalhos que mostram a produção de biomassa aproveitável e não aproveitável da acácia negra em

^{1*} Eng. Agrônomo, doutor, Prof. da Universidade Federal de Pelotas, Depto de Bioquímica, IQG, Campus Universitário s/n^o. Cx. P. 354. CEP 96010-900, Pelotas, RS. Email: mellofarias@yahoo.com.br

² Eng. De Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

³ Físico, doutor, Prof. da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

⁴ Eng. Agrônoma, PhD, Profa. Da Universidade Federal de Pelotas.

(Recebido para publicação em 22/11/2007 aprovado em 13/08/2008)

função de diferentes tipos de manejos (BECK, 1998; CALDEIRA *et al.*, 2001; BECK *et al.*, 2003a).

Os taninos, bem como vários outros metabólitos secundários, são sintetizados a partir de aminoácidos, como a tirosina e a fenilalanina. Tais reações, em plantas lenhosas como a acácia negra, têm grande importância, uma vez que estes aminoácidos também são precursores da síntese de lignina (ROBBINS *et al.*, 1998; NELSON & COX., 2006; DIXON *et al.*, 2003). As acácias, em especial a *Acacia mearnsii*, são plantas que naturalmente produzem grande quantidade de taninos, podendo chegar a 30% do peso seco da casca, dependendo das condições de manejo. Há inclusive condições de se estimar com um relativo grau de segurança a produção de taninos em função de algumas características, como espaçamento, idade da planta, área plantada, etc. (SCHNEIDER *et al.*, 2001).

Uma alternativa para o melhoramento das linhagens de interesse comercial de acácia negra está na utilização de métodos de melhoramento genético. A transformação genética via *Agrobacterium tumefaciens* ou bombardeamento de partículas, é um dos processos muito utilizados atualmente para a inserção de genes responsáveis por características específicas em uma planta, visando o melhoramento de diversas espécies (BRASILEIRO, 2003). Apesar de não ser tão específica como a inserção de genes via *Agrobacterium tumefaciens* ou Biobalística, a fusão de protoplastos também representa uma alternativa interessante, pois possibilita a adição de características de duas cultivares elite, mesmo que não sejam de diferentes espécies (MELLO-FARIAS, 2005). Através da hibridação somática há uma ocorrência natural de poliplóides em *Acacia mearnsii*, o que facilitaria a aplicação em campo do resultado da fusão de protoplastos (BECK *et al.*, 2003b).

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA

Síntese de taninos e substâncias lignocelulósicas

Os taninos condensados (também conhecidos como proantocianinas), as antocianinas, os flavonóides e as ligninas, são compostos fenólicos de metabolismo secundário que derivam do aminoácido fenilalanina. Estes compostos têm

funções distintas na planta, o que se reflete em sua utilização industrial. Os taninos condensados, abundantes na acácia negra, vêm sendo empregados em importantes ramos industriais, como o curtimento de pele animal e por possuírem um alto poder de ligação, os taninos podem condensar com formaldeído produzindo resina que são empregadas na fabricação de adesivos (FERREIRA *et al.*, 2005; LEE & LAN, 2006).

A lignina possui grande importância para a estruturação da parede celular secundária, especialmente em plantas lenhosas, no entanto, a macromolécula de lignina, por ser amorfa e polifuncional dificulta os estudos relativos aos mecanismos dos processos que ocorrem na sua eliminação de materiais lignocelulósicos (LANDIM & RUGGIERO, 2002)

Além de sua indiscutível importância econômica, as empresas de papel e celulose apresentam um elevado potencial de contaminação ambiental, pela presença de compostos refratários e também pelo elevado volume de efluente gerado. Numa primeira etapa de produção de papel ocorre a deslignificação da madeira (polpação), seguida pela etapa de branqueio da polpa. Ambas as etapas geram um grande volume de efluente fortemente colorido, devido principalmente à presença da lignina e compostos organoclorados de alto e baixo pesos moleculares. Durante o processo convencional de branqueamento, utiliza-se cloro elementar para a remoção da lignina residual presente nas fibras celulósicas, sendo gerada uma enorme variedade e quantidade de substâncias organocloradas recalcitrantes e extremamente tóxicas (ALMEIDA *et al.*, 2004).

Os taninos são um grupo de substâncias químicas polifenólicas largamente encontradas em células vegetais, sendo frequentemente acumulados em vacúolos (TANNER *et al.*, 2003; KITAMURA *et al.*, 2004), e podem ser subdivididos em dois grandes grupos pirogálicos (hidrolisáveis) e catequímicos (condensados, pouco hidrolisáveis). Os taninos condensados são os chamados taninos curtentes, sendo o grupo mais encontrado no extrato de acácia negra (PETERS & CONSTABEL, 2002; DIXON *et al.*, 2003).

As proantocianinas, os flavonóides (pigmentos amarelados), as antocianinas (pigmentos avermelhados) e a lignina (estruturadora da parede secundária de células vegetais), são sintetizados no citossol, entretanto, são acumulados em

vacúolos (ALBERTS *et al.*, 2004; KITAMURA *et al.*, 2004, FERREIRA *et al.*, 2005; ALBERTS *et al.*, 2006). A compreensão das rotas metabólicas dos compostos fenólicos, tais como proantocianinas, antocianinas, flavonóides e ligninas justificariam uma revisão à parte.

A Figura 1 mostra um esquema simplificado, através do qual se pode relacionar a semelhança entre a rota de síntese desses compostos (taninos, antocianinas, flavonóides e ligninas), bem como as enzimas que definem a síntese para a produção de cada uma dessas moléculas.

Segundo PETERS & CONSTABEL (2002), em algumas gramíneas a existência de taninos é um fator preponderante no que diz respeito à sua digestibilidade; os taninos são também utilizados pelas plantas como uma “estratégia de sobrevivência”, fazendo com que insetos que se alimentam de tais plantas absorvam menos nutrientes. Estes autores também identificaram uma enzima chave, dihidroxiflavonol redutase (DFR), para a regulação do referido sistema de defesa de algumas plantas, realizando também o

sequenciamento dos nucleotídeos do cDNA correspondente à DFR.

Em estudos realizados com extrato vegetal de *Acacia mearnsii* e extratos contendo altas quantidades de taninos condensados de outras plantas, verificou-se que o extrato de *Acacia mearnsii* tem grande efeito inibidor sobre a enzima tirosinase (TAKAGI & MITSUNAGA, 2003). KAO *et al.* (2002) identificaram duas fenilalaninas amonílicas (FAL) diferentes na espécie *Quaking aspen* e, em princípio, cada uma serviria à síntese de lignina e de taninos. Isto pode significar que a compreensão completa da via metabólica de síntese dessas moléculas ainda está distante, para várias espécies vegetais, e, talvez, também para *Acacia mearnsii*. Ao estudar o ponto ideal para amostragem da concentração média de taninos em árvores de acácia negra, CAMILLO *et al.* (1998) observaram que há uma variação na concentração percentual de taninos por peso de casca, e a variação dessa taxa é inversamente proporcional à cota do ponto de amostragem.

destinadas à polpação de celulose, como *Acacia mearnsii*, com menores teores de lignina. Tal processo seria possível utilizando-se estratégias como a do RNA anti-sentido, visando à interferência na síntese da lignina e diminuindo seus teores ao mínimo necessário às espécies arbóreas, uma vez que a lignina é parte integrante e tem papel importante na estruturação, sobretudo física, da parede celular de plantas (BOUDET *et al.*, 2003; BRASILEIRO *et al.*, 2003; ALBERTS *et al.*, 2004; ALBERTS *et al.*, 2006).

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Cultura *in vitro*

A busca por uma contínua melhoria das cultivares ocorre com quase todas as espécies vegetais exploradas comercialmente, incluindo a acácia negra. O intuito deste texto é expor algumas das técnicas que estão sendo aplicadas à acácia negra e, ainda, mencionar outras que poderiam ser utilizadas para o melhoramento genético desta espécie.

Uma das alternativas mais antigas encontradas pelo homem para melhorar cultivares de seu interesse é o melhoramento clássico, através de cruzamentos entre indivíduos com características de interesse agrônomo e a seleção de organismos filhos com as características esperadas. Porém, este método não se mostra muito eficiente, existindo outras maneiras de aumentar a eficiência dessa seleção.

Uma ferramenta bastante importante e vital para a maioria dos trabalhos de pesquisa em melhoria de cultivares vegetais é a técnica de cultura de tecidos vegetais. Através dela é possível regenerar, a partir de um explante, parte de um organismo ou, a partir de células embrionárias, um novo organismo. É um processo chave na fusão de protoplastos, e na transformação genética, uma vez que esse conjunto de técnicas possibilita a regeneração ou crescimento do novo organismo (MELLO-FARIAS, 2005).

BECK *et al.* (1998), trabalhando com plantas adultas de *Acacia mearnsii*, com a finalidade de superar a perda das características juvenis dos tecidos, utilizaram-se de material de rebrota como alternativa, concluindo que o rejuvenescimento de tecidos maduros pode ser adquirido através desta técnica, podendo ser utilizada em programas de melhoramento desta espécie. QUOIRIN *et al.* (2001) realizaram estudo semelhante, porém, na

tentativa de diminuir a “clorose”, utilizaram carvão ativado. Ambos os trabalhos geraram informações importantes para a construção de um protocolo de cultura de tecidos de *Acacia mearnsii* para a multiplicação de clones de plantas que tenham características de interesse agrônomo. Foi verificado que a suplementação com os reguladores de crescimento 6-benzilamina-purina e 6-benziladenosina mostrou-se eficiente na diferenciação de gemas (BORGES JÚNIOR *et al.*, 2004a).

Levando-se em consideração a dificuldade de enraizamento da acácia negra, torna-se interessante o uso de rebrota de clones em plantas adultas, a altura dos cortes para a rebrota, assim como o período deste corte, pois todos estes procedimentos têm influência na qualidade dos cultivos. O melhor período para o corte é durante a primavera, sendo que a altura de 60 cm apresentou a melhor eficiência no rejuvenescimento de cepas para cultivo de *Acacia mearnsii*, apesar da altura de corte de 45 cm não diferir significativamente no índice de plantas que apresentaram rebrota eficiente (BORGES JÚNIOR *et al.*, 2004b).

A técnica de hibridação somática é uma forma de superar barreiras naturais no que tange à possibilidade do cruzamento sexual entre diferentes espécies. É importante ressaltar que deve haver algum grau de afinidade entre estas espécies, e um dos dois parentais deve ter características que favoreçam sua propagação *in vitro*. A hibridação somática é um processo aditivo, em que as características dos parentais são somadas, sem perda de nenhuma característica, tal como ocorre na hibridação sexual (CALIXTO, 2003; MELLO-FARIAS, 2005).

Através dessa técnica são conservadas características dos dois parentais, isso porque o material citoplasmático que irá pertencer à célula filha contém organelas paternas e maternas, e não apenas maternas como na hibridação sexual. Durante o processo de fusão de protoplastos podem ocorrer diversos resultados possíveis: um híbrido verdadeiro, quando ocorre a fusão completa dos cromossomos dos dois núcleos ($2n+2n=4n$); um híbrido assimétrico, quando ocorre a perda de material cromossômico (parcial) de um ou de ambos os núcleos dos parentais; e cíbridos, quando somente são somados os materiais citoplasmáticos, o organismo filho tem material citoplasmático paterno e materno, mas todo o núcleo de um parental é perdido (CALIXTO, 2003; MELLO-FARIAS, 2005).

Recentemente, a poliploidização tem sido reconhecida como uma valiosa técnica de melhoramento genético e está sendo investigada como um procedimento para aumentar o volume de polpa para a indústria. Além disso, essa técnica pode contribuir para a introdução de esterilidade em acácia negra, restringindo a disseminação da acácia para fora das áreas plantadas, o que é desejável. (BECK *et al.*, 2003a). BECK *et al.* (2003b) induziram a produção de poliplóides utilizando colchicina, a fim de produzir plantas estéreis, o que é uma grande vantagem ambiental para o cultivo de espécies florestais exóticas.

Transformação genética

Em função da especificidade das modificações, com a transformação genética é possível inserir um gene específico dentro do genoma de um organismo. Não existindo barreiras genéticas, torna-se desnecessária a compatibilidade entre o organismo doador e o receptor da informação genética, pois hoje se tem muitos relatos sobre a inserção de genes bacterianos em plantas. Outra possibilidade oferecida pela transformação genética é o silenciamento de genes (*knock out*), utilizando a estratégia do RNA anti-sentido. A transformação genética via *Agrobacterium tumefaciens* (método indireto) e via *biobalística*, também conhecida como método de transformação direta, são técnicas moleculares que possibilitaram maior rapidez na melhoria de uma espécie (BRASILEIRO *et al.*, 2003; ALBERTS *et al.*, 2004).

O método de bombardeamento de partículas (biobalística) é baseado na aceleração do DNA aderido a partículas de ouro ou tungstênio para dentro da célula (BRASILEIRO *et al.*, 2003). A transformação via biobalística oferece a vantagem sobre a transformação via *Agrobacterium*, pois depende basicamente da regeneração do tecido transformado. A fixação do material genético à partícula é provavelmente a parte mais crítica do processo, pois uma fixação inadequada poderia prejudicar o carregamento do DNA pelas partículas. Outra questão importante, é que não há muito controle sobre o número de inserções do gene de interesse no tecido a ser transformado, sendo muitas vezes um problema o excesso de inserções do gene de interesse, provocando algumas vezes o silenciamento gênico (MARCHANT *et al.*, 1995; FINER & TRICK, 1998; DAI *et al.*, 2001).

O bombardeamento de partículas contendo o gene *GUS* (β -glucuronidase) apresentou um resultado animador quando inserido em duas espécies de acácia (*Acacia magnum* e *Acacia mearnsii*). Constatou-se que a expressão do gene *GUS* em *Acacia magnum* foi independente da concentração de manitol e sorbitol no meio de cultura, já a expressão de *GUS* em *Acacia mearnsii* foi dependente da concentração destes componentes no meio de cultura (QUOIRIN *et al.*, 2002).

Outro fator que tem sido objeto de estudo e de importância bastante grande, é a utilização de diferentes marcadores moleculares em substituição a genes de resistência a antibióticos ou herbicidas. CHO *et al.* (2003) relatam a utilização de *GFP* (*green fluorescence protein*), gene que codifica uma proteína bioluminescente sob a luz ultra-violeta. Por outro lado, WRIGHT *et al.* (2001) utilizaram a inserção de genes que codificam enzimas que metabolizam a lactose (β -galactosidase ou *GUS*), a qual muito raramente é metabolizada por plantas. Assim os organismos geneticamente transformados metabolizariam e expresariam a β -galactosidase. A reação da β -galactosidase com X-gloc resulta em um precipitado azul, facilmente identificado através deste teste laboratorial.

A utilização de um vetor para a transformação genética caracteriza um método indireto, no qual se utiliza *Agrobacterium tumefaciens* ou *Agrobacterium rhizogenes*. O vetor mais difundido e estudado para a transformação de espécies vegetais é *Agrobacterium tumefaciens*. Este organismo parasita naturalmente os vegetais, inserindo parte do seu material genético, o T-DNA do plasmídeo Ti (*Tumor inducing*), necessitando somente da existência de afinidade entre patógeno e hospedeiro (TINLAND, 1996; CLACK *et al.*, 1997; NELSON & COX, 2006).

Havendo a presença de acetoseringona, um composto fenólico de baixa massa molar, é disparado o mecanismo *vir* do plasmídeo Ti, que corta uma seqüência específica do plasmídeo, o T-DNA, o qual será inserido na célula alvo, produzindo o tumor. A seqüência de T-DNA, é protegida das endonucleases da célula alvo, por outras proteínas também produzidas por *vir*. A inserção é feita em alguns pontos do material genético da planta, os *hotspots*, e o parasita ainda utiliza a maquinaria de reparo da célula para integração definitiva do T-DNA ao genoma da planta (TINLAND, 1996; BRASILEIRO *et al.*, 2003).

Em *Acacia mearnsii* e *Acacia magnum* foi realizada a transformação genética testando-se várias cepas de *Agrobacterium tumefaciens*. No entanto, nem todas produziram virulência e houve muito pouca expressão do gene inserido na cultura de *Acacia mearnsii*, se comparada com a expressão em *Acacia magnum* (QUOIRIN *et al.*, 2000). Estes resultados abrem possibilidades para que se busque a compreensão da não efetividade da transformação em *Acacia mearnsii*.

Uma técnica alternativa para aumentar a virulência de *Agrobacterium tumefaciens*, é a utilização de sonicação para a formação de pequenos ferimentos na parede celular da cultura de células a ser infectada. Assim, a célula alvo produz acetoceringona, estimulando a virulência do vetor de transformação. O metabolismo de opinas de *Acacia mearnsii* é outro foco de interesse em futuros trabalhos vinculado à dificuldade de expressão de insertos genéticos (TINLAND, 1996; BRASILEIRO & CARNEIRO, 1998; FINER & TRICK, 1998; QUOIRIN *et al.*, 2000).

EXPLORAÇÃO COMERCIAL

Produção de biomassa e condições de sítio

Levando-se em conta os fins comerciais da acácia negra, pode-se considerar importante a produção de biomassa, principalmente de duas estruturas vegetais: lenho e casca. O lenho para a produção tanto de polpa de celulose, carvão vegetal, ou energia representa 45,93% do peso da árvore acima do solo; e a casca, importante para a produção de taninos, representa 11,8% do peso de biomassa acima do solo (CALDEIRA *et al.*, 2001). Deve-se ressaltar que 42,27% da massa acima do solo de acácias negras atualmente representa biomassa sem valor algum, à exceção das folhas (19,91%); o restante, representado por galhos vivos (19,51%) e galhos mortos (2,85%) não têm nenhum valor comercial (CALDEIRA *et al.*, 2001).

As condições de espaçamento e a idade das plantas de acácia negra têm influência sobre a produção de taninos e biomassa, sendo a idade das plantas fator preponderante. A densidade de plantas por área tem relação positiva com a altura e negativa com o diâmetro, entretanto, quanto maior a densidade, em linhas gerais, maior a produção de lenha na acácia negra. Já para a produção de tanino, quanto maiores os espaçamentos entre as plantas, maiores são as concentrações de tanino na casca das plantas. A população de 4.445 a

10.000 árvores/ha é ideal para que as plantas tenham uma adequada produção de biomassa aproveitável e de tanino (CAMILLO, 1997; SCHNEIDER *et al.*, 2001).

Sob o ponto de vista do melhoramento das cultivares de acácia negra, a fim de se obter um maior ganho em biomassa e que a mesma seja aproveitável, destacamos algumas técnicas: seleção de fenótipos "elite" e desenvolvimento destes explantes em laboratório com a finalidade de se obter várias plantas de um genótipo superior e a utilização de técnicas de melhoramento genético, tais como fusão de protoplastos e transformação genética.

A propagação clonal através da cultura de tecidos oferece uma alternativa para as práticas vegetativas utilizadas no passado e possui potencial para fornecer uma alta taxa de multiplicação de genótipos uniformes. A significância de florestas clonais tem aumentado como uma alternativa para a propagação vegetativa convencional. A seleção de fenótipos elite de interesse, como uma maior produção de biomassa, e o cultivo de seus explantes para estabelecer um programa clonal de produção de mudas de alta qualidade se tornaram um processo viável (BECK *et al.*, 1998; QUOIRIN *et al.*, 2001).

Na transformação genética, entre várias vantagens, a princípio é possível incorporar um gene de qualquer organismo em um organismo receptor distinto, assim sendo, teríamos condições de controlar a expressão de um determinado gene através de mecanismos anti-senso reprimindo ou facilitando alguma rota sintética (ALBERTS *et al.*, 2004; CHAVES, 2006). ERIKSSON *et al.* (2000) citam a utilização de um gene para a super-expressão do regulador de crescimento vegetal, a giberelina, que quando aplicada em plantas lenhosas pode induzir ao aumento da produção de biomassa. BOUDET *et al.* (2003), descrevem alguns dos avanços no controle da síntese de compostos lignocelulósicos, bem como da lignina em plantas, o que pode levar a um aumento da biomassa útil e adição de valor ao lenho de plantas.

Impacto ambiental

Ecologia

A acácia negra é uma planta natural da Austrália e atualmente é largamente cultivada na África do Sul e no Brasil em plantios comerciais. Vale ressaltar que nesses países essa espécie não

é nativa, assim sendo, trata-se de uma espécie invasora, que causa impactos ambientais. A retirada de mata nativa para a introdução de uma monocultura representa um impacto ambiental pela diminuição da diversidade de espécies que ocorrem na região.

Ao longo dos anos, as florestas nativas têm sido substituídas em grande parte por monoculturas florestais de espécies como *Acacia sp.*, *Pinus sp.* ou *Eucaliptus sp.*, porém, o cultivo destas monoculturas introduzidas pelo homem, tem afetado o nível de água de rios e córregos pelo excesso de consumo de água do solo, representando danos ambientais como erosão e degradação do solo (MAITRE *et al.*, 2002; NEERGAARD *et al.*, 2005).

Por outro lado, as espécies de *Acácia spp.* são leguminosas e podem ser consorciadas com outras culturas, surgindo interações ecológicas, econômicas e sociais, as quais não ocorreriam no cultivo solteiro. Assim, as espécies leguminosas podem servir para a remediação de solos ou áreas degradadas (ANSELMO & JONES, 2005).

SPATHELF *et al.* (2001), trabalhando na recuperação de área de mineração com *Acácia mearnsii*, *Pinus sp.* e grama para a cobertura vegetal, comprovaram a possibilidade do uso da acácia negra na fitorremediação da referida área. Após uma avaliação econômica comparativa do povoamento com as três espécies citadas, foi verificada uma vantagem econômica muito superior no plantio de espécies florestais comerciais para a recobertura vegetal no lugar da grama. Além disso, a acácia negra quando comparada ao *Pinus sp.* e à grama, teve um melhor custo/benefício, sendo que apresentou também vantagens em relação ao plantio de *Pinus sp.* em função da idade de rotação e da maior quantidade de produtos que podem ser extraídos de seu cultivo.

Fixação de nitrogênio

Em estudos sobre a diversidade biológica de rizóbios que nodulam raízes de acácias negras, observou-se uma grande variabilidade genética do gênero *Bradyrhizobium*, que tem por característica causar um incremento na alcalinidade do solo, demonstrando a potencialidade dessa associação para a remediação de solos ácidos (VARGAS *et al.*, 2004).

Uma possibilidade viável para facilitar a utilização da propriedade de fixação de nitrogênio das leguminosas do gênero *Acacia*, é a produção

de mudas noduladas com rizóbios e fungos micorrízicos. Em pesquisa realizada com a espécie *Acacia mangium*, concluiu-se que a inoculação de rizóbios e micorrizas incrementa a produção de matéria seca nas mudas (SCHIAVO & MARTINS, 2003).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A acácia negra é uma espécie de grande importância para a economia, uma vez que a partir dela são obtidos vários produtos, como madeira para construção, biomassa para produção de polpa de celulose e de papel, energia industrial, taninos para o curtimento de peles e couros. Entretanto, as espécies arbóreas apresentam um longo ciclo de vida, o que é uma limitação ao melhoramento clássico tradicional, sendo um processo muito demorado para se obter resultados, devido a características intrínsecas como, por exemplo, a necessidade de sucessivos cruzamentos dirigidos e longa fase juvenil. Para contornar este inconveniente pode-se lançar mão de técnicas da moderna biotecnologia, como a tecnologia do DNA recombinante, para transformar geneticamente espécies lenhosas, em um período relativamente mais curto, sendo o tempo para a obtenção de plantas comparável às culturas anuais. A eliminação da barreira do grande porte das árvores, pelo uso de métodos biotecnológicos (plantas transgênicas), requer o conhecimento das rotas biossintéticas de flavonas, ligninas, antocianinas e taninos condensados. Dispondo-se dessas informações, é possível a introdução de genes de interesse em uma única geração. Com isso, pode-se promover a alteração de rotas metabólicas, visando a melhoria de características como propriedades da parede celular, teores de lignina, taninos, maior produção de biomassa, resistência a insetos, patógenos e herbicidas. O melhoramento biotecnológico da qualidade da madeira e fibras vegetais representa um grande potencial de utilização, tanto para o melhor aproveitamento industrial da espécie, quanto para o avanço da fronteira do conhecimento, em termos de pesquisa científica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J. *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 4ª ed. Porto Alegre. Artmed. 2004. 1496 p.

- ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K. et al. **Fundamentos da Biologia Celular**. 2^a ed. Porto Alegre. Artmed, 2006. 740p.
- ALMEIDA, E.; ASSALIN, M.R.; ROSA, M.A. Tratamentos de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.5, p.818-824, 2004.
- ANSELMO, A.L.F.; JONES, C.M. Fitorremediação de solos contaminados – O estado da arte. In: XXV Encontro Nac. de Eng. de Produção, 2005, Porto Alegre, **Anais**. Porto Alegre, 2005. p.5273-5280.
- BECK, S.L.; DUNLOP, R.; VAN STADEN, J. Rejuvenation and micropropagation of adult *Acacia mearnsii* using coppice material. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v.26, p.149-153, 1998.
- BECK, S.L.; DUNLOP, R.W.; FOSSEY, A. Stomatal length and Frequency as a Measure of Ploidy level in Black Wattle, *Acacia mearnsii* (de Wild). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.141, p.177-181, 2003a.
- BECK, S.L.; DUNLOP, R.W.; FOSSEY, A. Evaluation of Induced Polyploidy in *Acacia mearnsii* Through Stomata Counts and Guard Cell Measurements. **South African Journal of Botany**, South Africa, v.69, n.4, p.563-567, 2003b.
- BORGES JÚNIOR, N.; SOBROSA, R.C.; MARTINS-CODER, M.P. Multiplicação *in vitro* de Gemas Axilares de Acácia Negra (*Acacia mearnsii* de Wild). **Revista Árvore**, Viçosa, v.28, n.4, p.493-498, 2004a.
- BORGES JÚNIOR, N.; MARTINS-CORDER, M.P.; SOBROSA, R.C. et al. Rebrotas de Cepas de Árvores Adultas de Acácia-Negra (*Acacia mearnsii* de Wild). **Revista Árvore**, Viçosa, v.28, n.4, p.611-615, 2004b.
- BOUDET, A. M.; KAJITA, S.; GRIMA-PETTENATI, J. et al. Lignins and Lignocellulosics: a Better control of Synthesis for New and Improved Uses. **Trends in Plant Science**, London, v.8, n.12, p.576-581, 2003.
- BRASILEIRO, A.C.M.; CARNEIRO, V.T.C. **Manual de Transformação Genética de Plantas**, Brasília, EMBRAPA SPI/Embrapa-Cenargen, 1998, 309 p.
- BRASILEIRO, A.C.M.; LACORTE, C.; STUDART-GUIMARÃES, C. Transformação Genética em Espécies Florestais. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.13, n.1, p.167-178, 2003.
- CALDEIRA, M.V.W.; SCHMACHER, M.V.; RONDON-NETO, R.M. et al. Quantificação da Biomassa acima do Solo de *Acacia mearnsii* De Wild - Procedência Batemans Bay – Austrália. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.11, n.2, p.79-91, 2001.
- CALIXTO, M.C. Hibridação Somática entre *Citrus sinensis* e *C. grandis*. Piracicaba, 2003. 99p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz ESALQ, Universidade de São Paulo USP.
- CAMILLO, S.B.A. Influência dos Fatores de Sítio, Espaçamento e Idade na Concentração e Produção de Taninos em Povoamento de *Acacia mearnsii* De Wild. Santa Maria, 1997. 49p. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria.
- CAMILLO, S.B.A.; SCHNEIDER, P.R.; SILVA, M.C.M. et al. Determinação do Ponto de Amostragem para Obtenção da Concentração Média de Tanino em Acácia. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.8, n.1, p.109-113, 1998.
- CAMILLO, S.B.A.; SCHNEIDER, P.R.; FINGER, C.A.G. et al. Determinação de Equação da Produção de Tanino de Acácia Negra, *Acacia mearnsii* De Wild. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v.9, n.1, p.103-113, 1999.
- CHAVES, A.L.S. **Biologia Molecular para Iniciantes**. 2^a ed. Pelotas: UFPEL. Ed. Universitária, 2006. 160p.
- CHO, M.J.; CHOI, H.W.; OKAMOTO, D. et al. Expression of Green Fluorescent Protein and its Inheritance in Transgenic Oat Plants Generated from Shoot Meristematic Cultures. **Plant Cell Reports**, Berlin/Heidelberg, v.21, p.467-474, 2003.
- CLACK, M.S.; POTTER, R.H.; JONES, M.G.K. **Plant Molecular Biology: A Laboratory Manual. Genetic Engineering: Methodology and Analysis, Plant Gene Transfer**. 1st ed. Berlin. 1997.
- DAI, S.; ZHENG, P.; MARMEY, P.; ZHANG, S.; TIAN, W.; CHEN, S.; BEACHY, R.N.; FAUQUET, C. Comparative analysis of transgenic rice plants obtained by *Agrobacterium*-mediated transformation and particle bombardment. **Molecular Breeding**, Netherlands, v.7, p.25–33, 2001.
- DIXON, R.A.; XIE, D.; SHARMA, S.B. et al. Role of Anthocyanidin Reductase Encoded by *Banyuls* in Plant Flavonoid Biosynthesis. **Science**, London, v.299, p.396-399, 2003.
- ERIKSSON, M.E.; ISRAELSSON, M.; OLSSON, O. et al. Increased Gibberellin Biosynthesis in Transgenic Trees Promotes Growth, Biomass Production and Xylem Fiber Length. **Nature Biotechnology**, New York, v.18, p.784-788, 2000.
- FARIA, M.P.; SIQUEIRA, J.O.; VALE, F.R. et al. Crescimento Inicial de Acácia em Resposta a Fósforo, Nitrogênio, Fungos Micorrízicos e Rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.20, p.209-216, 1996.
- FERREIRA, D.; MARAIS, J.P.J.; SLADE, D. Heterogeneity of Interflavanyl Bond in Proanthocyanidins from Natural Sources Lacking C-4 (C-ring) Deoxy Flavonoid Nucleophiles. **Phytochemistry**, Weinheim, v.66, p.2216-2237, 2005.
- FINER, J.J.; TRICK, H.N. Sonication-assisted *Agrobacterium*-Mediated Transformation of Soybean (*Glycine max* L. Merrill) Embryogenic Suspension Culture Tissue. **Plant Cell Reports**, Berlin/Heidelberg, v.17, p.482-488, 1998.
- HOINACKI, E.; MOREIRA, M.V.; KIEFER, C.G. **Peles e Couros**. 1^a ed. Porto Alegre. SENAI/RS. 1994, 402p.

- KAO, Y.; HARDING, S.A.; TSAI, C. Differential Expression of Two Distinct Phenylalanine Ammonia-Lyase Genes in Condensed Tannin-Accumulation and Lignifying Cell of Quaking Aspen. **Plant Physiology**, Bethesda, v.130, p.796-807, 2002.
- KITAMURA, S.; SHIKAZONO, N.E.; TANAKA, A. Transparent Testa 19 is involved in the accumulation of both anthocyanins and proanthocyanidins in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, Rockville, v.37, p.104-114, 2004.
- LACERDA, R.S. Teores de Lignina Estimados Através de Método Espectrofotométrico "Lignina solúvel em Brometo de Acila". Pirassununga, 2001. 75p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.
- LANDIM, A.S.; RUGGIERO, R. Caracterização e estudo da fotodegradação de poliguaiacóis sintetizados por catálise oxidativa, como modelos macromoleculares de lignina. 2002. Disponível em: <<http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/edicao2002/A/CARACTERIZACAO.PDF>>. Acesso em 7 abril 2008.
- LEE, W.J.; LAN, W.C. Properties of Resorcinol-Tannin-Formaldehyde Copolymer Resins Prepared from the Bark Extracts of Taiwan Acacia and China Fir. **Bioresource Technology**, Fayetteville, v.97, p.257-264, 2006.
- MAITRE, D.C.; WILGEN, B.W.; GELDERBLOM, C.M. et al. Invasive Alien Trees and Water Resources in South Africa: Case Studies of the Costs and Benefits of Management. **Forest Ecology and Management**, Oxford, v.160, p.143-159, 2002.
- MARCHANT, R.; SOUTHGATE, E.M.; DAVEY, M.R. et al. Factors Affecting the Genetic Engineering of Plants by Microprojectile Bombardment. **Biotechnology Advances**, Oxford, v.13, n.4, p.631-651. 1995.
- MELLO-FARIAS, P.C. Biotecnologia no Melhoramento Genético de Citros. In: MELLO-FARIAS, P.C. et al. **Educação, Ambiente e Tecnologia: Tópicos Relevantes**. Porto Alegre, Ed. P.C.M. et al., 2005, cap. 6, p. 147-183.
- NEERGAARD, A.; SAARNAK, C.; HILL, T. et al. Australian Wattle Species in the Drakensberg Region of South Africa – An Invasive Alien or a Natural Resource? **Agricultural Systems**, Washington, v.85, p.216-233, 2005.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 4ª.ed, 2006, São Paulo, 1200p.
- PETERS, D.J.; CONSTABEL, C.P. Molecular analysis of herbivore-induced condensed tannin synthesis: cloning and expression of diflavanol reductase from trembling aspen (*Populus tremuloides*). **The Plant Journal**, Rockville, v.32, p.701-712, 2002.
- QUOIRIN, M.; HAGIWARA, W.E.; ZENETTE, F. et al. *In Vitro* Susceptibility of two tropical Acacia Species to *Agrobacterium tumefaciens*. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n.58, p.91-97, 2000.
- QUOIRIN, M.; SILVA, M.C.; MARTINS K.G. et al. Multiplication of Juvenile Black Wattle by Microcuttings. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v.66, p.199-205, 2001.
- QUOIRIN, M.; FRANCHE, C.; KOEHLER, H. Transient Expression of Reporter Genes Introduced in Tissues of Acacia Species Using a Biobalistic Method. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Berlin/Heidelberg, v.38, n.5, p.487-492, 2002.
- ROBBINS, M.P.; BAVAGE, A.D.; STRUDWICKE, C. et al. Genetic Manipulation of Condensed Tannins in Higher Plants. **Plant Physiology**, Waterbury, v.116, p.1133-1144, 1998.
- SCHIAVO, J.A.; MARTINS, M.A. Produção de Mudas de Acácia Negra com Micorrizas e Rizóbios em Diferentes Recipientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.2, p.173-178, 2003.
- SCHNEIDER, P.R.; FLEIG, F.D.; FINGER, C.A.G. et al. Produção de Madeira e Casca Verde por Índice de Sítio e Espaçamento Inicial em Acácia Negra (*Acacia mearnsii* De Wild). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.11, n.1, p.151-165, 2001.
- SPATHELF, P.; SELING, I.; BORGES, R.Z. Avaliação Econômica da Recuperação de Áreas Mineradas na Empresa COPELMI Mineração S.A., Butiá, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.5, p.881-883, 2001.
- TAKAGI, K.; MITSUNAGA, T. Tyrosinase Inhibitory Activity of Proanthocyanidins from Woody Plants. **Journal of Wood Science**, Tokyo, v.49, p.461-465, 2003.
- TANNER, G.J.; FRANCKI, K.T.; ABRAHAMS, S. et al. Proanthocyanidin Biosynthesis in Plants. **The Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.278, n.34, p.31647-31656, 2003.
- TINLAND, B. The Integration of T-DNA into Plant Genomes. **Trends in Plant Science**, London, v.1, n.6, p.178-184, 1996.
- VARGAS, L.K.; LISBOA, B.B.; CARVALHO, F.G. Diversidade genética de rizóbios noduladores de acácia-negra nativos de solos do Rio Grande do Sul. In: **V REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO**, 2004, Florianópolis. Resumos Expandidos - V Reunião Sul-Brasileira de Ciência do Solo. 2004, v.1, p.382.
- WRIGHT, M.; DAWSON, J.; DUNDER, E. et al. Efficient Biolistic Transformation of Maize (*Zea mays L.*) and Wheat (*Triticum aestivum L.*) using the Phosphomannose Isomerase Gene, *pmi*, as the Selectable Marker. **Plant Cell Reports**, Berlin/Heidelberg, v.20, p.429-436, 2001.