

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0801924-0 A2**



(22) Data de Depósito: 30/05/2008
(43) Data da Publicação: 17/02/2010
(RPI 2041)

(51) *Int.Cl.:*
A01H 5/00 (2010.01)
C12N 15/29 (2010.01)
C12N 15/82 (2010.01)

(54) Título: **MÉTODOS PARA MODIFICAÇÃO DA MORFOLOGIA DA PLANTA**

(30) Prioridade Unionista: 30/05/2007 JP 2007-143317

(73) Titular(es): OJI PAPER CO.,LTD.

(72) Inventor(es): Hisako Koita, Takashi Hibino, Tetsuya Sonoda

(57) Resumo: MÉTODOS PARA MODIFICAÇÃO DA MORFOLOGIA DA PLANTA. A presente invenção refere-se a DNAs que codificam reguladores de xilogênese de planta e DNAs promotores destes, e objetiva proporcionar métodos de modificação de morfologia de planta, tais como morfologia de flor, morfologia de folha, e altura, pela expressão dos DNAs ectopicamente em órgãos diferentes. Os presentes inventores decidiram expressar ectopicamente reguladores transcricionais derivados de eucalipto que regulam a morfogênese de células de madeira, e analisar seus efeitos de modificação de órgãos em uma planta. Para analisar os efeitos de expressão ectópica, os presentes inventores introduziram promotores que podem acionar uma sobreexpressão constitutiva de gene em todos os órgãos de uma planta, e reguladores transcricionais de formação de xilema de eucalipto em tabaco e eucalipto; em seguida, eles analisaram os efeitos. Como um resultado, eles obtiveram sucesso na modificação de morfologia, tais como morfologia de flor, morfologia de folha, e altura. Desse modo, os presentes inventores descobriram que não somente a morfologia do xilema, mas também a morfologia do corpo da planta, pode ser modificada pela expressão ectópica do regulador transcricional de formação de xilema de eucalipto.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**MÉTODOS PARA MODIFICAÇÃO DA MORFOLOGIA DA PLANTA**".

CAMPO DA INVENÇÃO

5 A presente invenção refere-se a métodos para produção de plantas nos quais morfologia de flor, morfologia de folha, e altura foram modificadas. A presente invenção também refere-se a plantas obtidas pelo uso destes métodos, e aos usos destes.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

10 A modificação da morfologia de flores, folhas e altura em plantas pode conduzir a criação de novas flores, plantas ornamentais e plantas de horticultura, e pode alcançar produção eficiente de grãos, biomassas e similares. Portanto, tal modificação é altamente útil na agricultura e indústria. Métodos convencionais para modificação da morfologia da planta inclui geração por cruzamento da mesma espécie ou espécie proxima-
15 nada e geração de mutação através de tratamento mutagênico por radiação. Contudo, com tal geração convencional, a produção de plantas tendo uma morfologia desejada requer muitos anos e muita perícia; portanto, existe uma necessidade de métodos simples e seguros para modificação da morfologia de plantas.

20 Nos anos recentes, geração molecular por métodos de recombinação genética (transformação) é amplamente praticada como um método para modificar eficientemente a morfologia da planta. Exemplos de métodos de morfologia de flor por engenharia genética conhecidos até aqui incluem o método de suprimir a expressão do gene APETALA3 (AP3) de *Arabidopsis*
25 *thaliana*, que é um dos genes que regulam formação de pétala, usando um repressor que se liga à região promotora do gene AP3 para obter fenótipos similares a mutantes de gene AP3 (Documento de Não-Patente 1). Além disso, exemplos conhecidos de métodos de modificação de morfologia de folha por engenharia genética são os métodos que introduzem um gene
30 quimérico contendo um fator regulatório que é presumido para ser envolvido na morfogênese de folha, e ao qual um domínio inibitório estava ligado (Documento de Não-Patente 1 a 3). Em adição, um exemplo conhecido de

métodos para modificação da altura por engenharia genética é o método de introduzir o gene citoquina hidroxilase, que é um dos genes envolvidos na síntese de hormônio de planta (Documento de Patente 4). Contudo, visto que plantas transformadas obtidas por tecnologia conhecida freqüentemente exibem morfologias que são anormais, ou não são industrialmente úteis, elas estão longe de produzir efeitos comercialmente valiosos.

Nos anos recentes, vários fatores regulatórios transcricionais (reguladores transcricionais) envolvidos em xilogênese foram reportados. O Documento de Não-Patente 2 descreve o regulador transcricional MYB de um grupo de genes de enzima envolvido em uma trajetória sintética para fenilpropanóide (por exemplo, lignina), que é um dos componentes na parede de célula secundária em células de xilema. O Documento de Não-Patente 3 descreve os fatores regulatórios da família NAC envolvidos na diferenciação de células de vaso xilema em plantas herbáceas. A sobreexpressão destes genes tem conduzido à observação de algum tipo de mudança em cada uma das células no xilema. Contudo, com relação aos efeitos de expressão ectópica destes fatores regulatórios em outros órgãos, existem somente uns poucos relatórios descrevendo ocorrência de leve impedimento de crescimento (Documentos de Não-Patente 2 e 3), e não existem relatórios descrevendo que podem ter utilidade industrial particular. Conseqüentemente, existem conhecimentos muito limitados sobre efeitos de expressão ectópica de reguladores de xilogênese, ou mais especificamente, efeitos na modificação morfológica de flores, folhas, altura.

Os Documentos que descrevem tecnologias conhecidas em relação a presente invenção são listados abaixo.

[Documento de Patente 1] Publicação Kokai de Pedido de Patente Japonês Nº (JP-A)2005-204573 (pedido de patente japonês publicado não-examinado).

[Documento de Patente 2] JP-A (Kokai) 2006-6248.

[Documento de Patente 3] JP-A (Kokai) 2006-20607.

[Documento de Patente 4] JP-A (Kokai)2006-314206.

[Documento de Patente 5] WO2006/109424.

[Documento de Não-Patente 1] Guan, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99:13296-13301 (2002).

[Documento de Não-Patente 2] Goicoechea *et al*, Plant Journal 43, 553-567 (2005).

5 [Documento de Não-Patente 3] Kubo *et al*, GENES & DEVELOPMENT 19:1855-1860 (2005).

[Documento de Não-Patente 4] Zhong *et al*, Plant Cell 18:3158-3170 (2006).

10 [Documento de Não-Patente 5] Tamagnone *et al*, The Plant Cell 10:135-154 (1998).

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Os presentes inventores encontraram uma ampla variedade de fatores regulatórios transcricionais (reguladores transcricionais) que regulam a morfogênese de células de xilema em eucalipto (WO2006/109424). Aqueles versados na técnica podem imaginar facilmente que estes reguladores transcricionais têm efeitos de modificar a formação de xilema (xilogênese); contudo, quando os reguladores transcricionais são produzidos para funcionarem ectopicamente, seus efeitos na modificação morfológica são completamente desconhecidos, e existe a necessidade substancial de elucidar tais efeitos para desenvolver uso industrial de plantas.

15

20

A presente invenção foi alcançada em vista das circunstâncias acima, objetivando em proporcionar novos usos de reguladores xilogênicos.

Como um resultado de pesquisa dedicada, os presentes inventores alcançaram à conclusão que de modo a solucionar o atual problema, é desejável expressar ectopicamente os reguladores transcricionais derivados de eucalipto que regulam a morfogênese de células de xilema, e analisar seus efeitos de modificar tais órgãos em uma planta.

25

Para analisar os efeitos de expressão ectópica, os presentes inventores consideraram usar o promotor 35S derivado de vírus de mosaico de couve-flor que pode direcionar sobreexpressão constitutiva de genes em todos os órgãos de uma planta. Mais especificamente, foi esperado que a análise nos efeitos de expressão ectópica em todos os órgãos pode ser feita

30

imediatamente por clonagem de um regulador transcricional de xilogênese de eucalipto a jusante ao promotor 35S, e introduzindo o mesmo em uma planta para produzir um modelo.

Em seguida, os presentes inventores consideraram o uso de tabaco e eucalipto ao invés de *Arabidopsis thaliana* como a planta que servirá como um modelo. As características morfológicas da planta *Arabidopsis thaliana* são, por exemplo, que as folhas são folhas Rosetta, e as flores desenvolvem a formação de hastes proeminentes de flor. Esta morfologia é levemente diferente da morfologia de plantas ordinárias que têm caules e folhas e flores se formando em suas pontas. Por outro lado, o tabaco e eucalipto exibem uma morfologia ordinária de plantas, e desde que eles também têm similaridades muito grandes com plantas arborizadas conforme observado na formação de xilema secundário, eles são considerados como o modelo de plantas mais adequado para analisar os efeitos de expressão ectópica em cada órgão.

Conseqüentemente, os presentes inventores introduziram no tabaco e no eucalipto um promotor que pode direcionar sobreexpressão constitutiva de um gene em todos os órgãos de uma planta, e um regulador transcricional de formação de xilema (xilogênese), e analisados seus efeitos. Como um resultado, os presentes inventores foram bem-sucedidos na descoberta dos efeitos de modificação de xilema de uma planta, bem como, os efeitos de modificação da morfologia da flor, morfologia da folha, e altura de uma planta.

Conforme descrito, a presente invenção é baseada na descoberta que expressão ectópica de reguladores transcricionais de xilogênese de eucalipto pode modificar a morfologia da planta. Mais especificamente, a presente invenção refere-se à DNAs que codificam reguladores transcricionais de plantas, seu promotor de fragmentos de DNA, e usos deste, e proporciona os seguintes [1] a [23]:

[1] Uma planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual uma ou mais morfologias da planta selecionada a partir do grupo consistindo em morfologia de flor,

morfologia de folha, e a altura é modificada:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8;

5 (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NO: 5 a 8; e

10 (d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4.

[2] Uma planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual a altura da planta é diminuída:

15 (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2;

20 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6; e

25 (d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2.

[3] Uma planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual morfologia de fibra em xilema da planta é modificada, e/ou uma quantidade de crescimento da planta é aumentada:

30 (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da se-

seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

[4] Uma planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual a morfologia em xilema da planta é modificada, e/ou a morfologia da flor da planta é modificada:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

[5] Uma planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual a morfologia em xilema da planta é modificada, e/ou o número de folhas na planta é aumentado:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA

compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

[6] A planta de acordo com qualquer um de [1] a [5], no qual a planta é selecionada a partir do grupo consistindo em tabaco, eucalipto, álamo, pinho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, tulipa, rosa, cravo, orquídea, monstera, *Alocasta odora*, arroz, trigo, milho, soja e cana-de-açúcar.

[7] Uma célula isolada a partir da planta de acordo com qualquer um de [1] a [6].

[8] Um material de propagação da planta de acordo com qualquer um de [1] a [6].

[9] Um órgão isolado a partir da planta de acordo com qualquer um de [1] a [6].

[10] Um método de modificação de uma ou mais características de uma planta selecionada a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e a altura, o método compreendendo as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4.

[11] Um método de diminuir a altura de uma planta, o método compreendendo as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

5 (b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2.

[12] Um método de aumentar uma quantidade de crescimento de uma planta, o método compreendendo as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

25 no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições

e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estringentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

5 [13] Um método de modificar a morfologia da flor de uma planta, o método compreendendo as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a
10 qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;

15 (ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:

20 7; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estringentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

[14] Um método de aumentar o número de folhas em uma planta, o método compreendendo as etapas de:

25 (a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i)

30 a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições
5 e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

[15] Um método de modificar a morfologia de fibra no xilema de
10 uma planta, o método compreendendo as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

15 no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7
20 ou 8; e

25 (iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

[16] Um método de acordo com qualquer um de [10] a [15], no qual a planta é selecionada a partir do grupo consistindo em tabaco, eucalipto, álamo, pinho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, tulipa, rosa,
30 cravo, orquídea, monstera, *Alocasta odora*, arroz, trigo, milho, soja e cana-de-açúcar.

[17] Um agente para modificação de uma ou mais morfologias

de uma planta selecionada a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e a altura, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

5 (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4;

10 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NO: 5 a 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID
15 NOs: 1 a 4.

[18] Um agente para diminuir a altura de uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

20 (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2;

25 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2.

30 [19] Um agente para aumentar uma quantidade de crescimento de uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um

vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

5 (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

10 (d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

[20] Um agente para modificação da morfologia da flor de uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor
15 compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

20 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA
25 compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

[21] Um agente para aumentar o número de folhas em uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

30 (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da se-

seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

[22] Um agente para modificação da morfologia de fibra no xilema de uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

[23] Um agente de acordo com qualquer um de [17] a [22], no qual a planta é selecionada a partir do grupo consistindo em tabaco, eucalipto, álamo, pinho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, tulipa, rosa, cravo, orquídea, monstera, *Alocasta odora*, arroz, trigo, milho, soja e cana-de-açúcar.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 é uma fotografia mostrando uma planta de tabaco transformada por fator regulatório de eucalipto ID Nº 77629 CCAAT. As plantas na sexta semana após naturalização são mostradas. Comparado à cepa tipo selvagem (Wt), o tabaco transformado por fator regulatório (GM) mostrou diminuição na altura, e foi impedido de crescer.

A Figura 2 mostra fotografias de uma planta de tabaco transformada por fator regulatório de eucalipto ID Nº 77062 WRKY. A fotografia A mostra as plantas na sexta semana após naturalização. Comparado à cepa tipo selvagem (Wt), o tabaco transformado por fator regulatório (GM) mostrou diminuição na altura, e foi impedido de crescer. A fotografia B mostra as folhas na sexta semana após naturalização. Comparado à cepa tipo selvagem (Wt), o tabaco transformado por fator regulatório (GM) tem folhas menores.

A Figura 3 mostra fotografias de uma planta de tabaco transformada por fator regulatório de eucalipto ID Nº 73448 HD-Zip. A fotografia A mostra as plantas na sexta semana após naturalização. Comparado à cepa tipo selvagem (Wt), o tabaco transformado por fator regulatório (GM) mostrou altura e crescimento aumentados. As fotografias B e C mostram as mudanças morfológicas de folhas de tabaco transformadas na sexta semana após naturalização. Pecíolos de folhas de tabaco transformadas aderidos ao caule, conforme indicado pela seta, e botões de flores auxiliares foram desenvolvidos conforme indicado pela seta (B). Além disso, nas folhas da planta transformada, a região de pecíolo estava faltando conforme indicado pela seta, e, ao invés, a área de folha aderida ao caule se difundiu na porção basal (C). As fotografias D e E mostram cada flor de Wt e GM (a barra de escala corresponde a 1 cm). Comparado a Wt, GM tem flores com largura e comprimento maiores (D e E), e as constrições das pétalas indicadas pelas setas foram quase perdidas em GM (E).

A Figura 4 mostra uma fotografia de uma planta de tabaco transformada por fator regulatório de eucalipto ID Nº 74387 MYB. As plantas na sexta semana após naturalização são mostradas. Comparado à cepa tipo selvagem (Wt), o tabaco transformado por fator regulatório (GM) mostrou altura aumentada e crescimento aumentado.

A Figura 5 é um gráfico mostrando um resultado da comparação na altura entre plantas de tabaco transformadas por fator regulatório de eucalipto e a cepa tipo selvagem. A altura de cada tabaco transformado por fator regulatório é mostrada como percentagem comparada àquela da cepa

tipo selvagem (100%) crescida no mesmo local.

A Figura 6 é uma fotografia mostrando plantas de eucalipto transformadas por fator regulatório de eucalipto ID Nº 73448 HD-Zip II (a barra de escala corresponde 5 cm). As plantas tipo selvagens (wt) e as plantas transformadas (GM) são plantas de eucalipto na oitava semana de naturalização. Comparado às cepas tipos selvagens, o eucalipto transformado (GM) tem número maior de folhas com tamanho maior.

A Figura 7 é uma fotografia mostrando uma planta de eucalipto transformada por fator regulatório de eucalipto ID Nº 73448 HD-Zip II (a barra de escala corresponde 5 cm). A cepa tipo selvagem (wt) e a planta transformada (GM) são plantas de eucalipto na oitava semana de naturalização. Comparado à cepa tipo selvagem, o eucalipto transformado (GM) mostrou altura aumentada e crescimento aumentado.

A Figura 8 é uma fotografia mostrando plantas de eucalipto transformadas por fator regulatório de eucalipto ID Nº 74387 MYB (a barra de escala corresponde 5 cm). As plantas na sexta semana após naturalização são mostradas. Comparado às plantas tipos selvagens (wt), as plantas de eucalipto transformadas por fator regulatório (GM) tinham grande número de folhas com dimensão maior.

A Figura 9 é uma fotografia mostrando plantas de eucalipto transformadas por fator regulatório de eucalipto ID Nº 74387 MYB (a barra de escala corresponde 5 cm). As plantas na sexta semana após naturalização são mostradas. Comparado à cepa tipo selvagem (wt), o eucalipto transformado por fator regulatório (GM) mostrou altura aumentada e crescimento aumentado.

A Figura 10 é um gráfico mostrando um resultado de comparação na altura entre plantas de eucalipto transformadas por fator regulatório de eucalipto e a cepa tipo selvagem. A altura de cada eucalipto transformado por fator regulatório é mostrada como percentagem comparada àquela da cepa tipo selvagem (100%) crescida no mesmo tempo. "73448 HD-Zip II" indica a altura média da cepa transformada por ID Nº 73448 HD-Zip tendo alta taxa de crescimento. "74387 MYB" indica a altura média das plantas

transformadas por ID Nº 74387 MYB.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

O uso de DNAs da presente invenção não somente produz efeitos de modificação das propriedades de xilema em plantas, mas também torna possível regular artificialmente a formação de traços morfológicos, tais como morfologia de flor, morfologia de folha, e altura para modificar a morfologia de plantas. Mais especificamente, os DNAs da presente invenção são altamente úteis na agricultura e indústria, visto que eles podem ser usados para criar novas flores, plantas ornamentais, e plantas de horticultura, que têm valor estético, e/ou para produção eficiente ou aumentada de grãos e biomassa.

A presente invenção proporciona plantas transformadas com um DNA que codifica regulador transcricional envolvido em xilogênese, e compreendendo modificação em uma ou mais morfologias selecionadas a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e altura.

Se a morfologia da planta tiver sido modificada, ela pode ser determinada por comparação a um controle. Na presente invenção, um "controle" refere-se a uma planta que pertence à mesma espécie como uma planta transformada da presente invenção, e que não tenha sido artificialmente introduzida com um DNA da presente invenção. O controle na presente invenção não é particularmente limitado, considerando-se que é uma planta que pertence à mesma espécie como a planta transformada da presente invenção, e que não tenha sido artificialmente introduzida com um DNA da presente invenção. Portanto, o controle da presente invenção inclui plantas as quais um DNA outro do que um DNA da presente invenção tenha sido introduzido. Exemplos de tais plantas incluem plantas pertencentes à mesma espécie como a planta transformada da presente invenção, e tendo sido transformada com um DNA que outro do que um DNA da presente invenção, que é um DNA com uma mutação de perda de função em um DNA da presente invenção, que é uma forma de DNA funcionalmente suprimida convertida de um DNA da presente invenção, ou que é um fragmento de DNA produzido de uma região em um DNA da presente invenção cuja região é insu-

ficiente para expressão funcional. Contudo, as plantas não estão limitadas a estes exemplos.

Um exemplo de fatores regulatórios transcricionais (reguladores transcricionais) da presente invenção envolvidos em xilogênese é o regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT. Exemplos de DNAs que codificam o regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT incluem:

- (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5;
- (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1;
- (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5; e
- (d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1.

Outro exemplo de reguladores transcricionais da presente invenção envolvidos em xilogênese é o regulador ID Nº 72062 WRKY. Exemplos de DNAs que codificam o regulador ID Nº 72062 WRKY incluem:

- (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 6;
- (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 2;
- (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 6; e
- (d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 2.

Outro exemplo de reguladores transcricionais da presente invenção envolvidos em xilogênese é o regulador ID Nº 73448 HD-Zip II. Exemplos de DNAs que codificam o regulador ID Nº 73448 HD-Zip II incluem:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

5 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA
10 compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

Outro exemplo de reguladores transcricionais da presente invenção envolvidos em xilogênese é o regulador ID Nº 74387 MYB. Exemplos de DNAs que codificam o regulador ID Nº 74387 MYB incluem:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições
20 e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 4.

As regiões que codificam aminoácido das sequências de nucleotídeo de SEQ ID NO:1 a 4 acima mencionadas são como segue.
25

Regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT:

Na sequência de nucleotídeo mostrada em SEQ ID NO:1, a sequência entre posições 87 e 662 corresponde à região de codificação de aminoácido (SEQ ID NO:5).

30 Regulador ID Nº 72062 WRKY:

Na sequência de nucleotídeo mostrada em SEQ ID NO:2, a sequência entre posições 48 e 2300 corresponde à região de codificação de

aminoácido (SEQ ID NO:6).

Regulador ID Nº 72448 HD-Zip II:

Na seqüência de nucleotídeo mostrada em SEQ ID NO:3, a seqüência entre posições 23 e 778 corresponde à região de codificação de aminoácido (SEQ ID NO:7).

Regulador ID Nº 74387 MYB:

Na seqüência de nucleotídeo mostrada em SEQ ID NO:4, a seqüência entre posições 128 e 790 corresponde à região de codificação de aminoácido (SEQ ID NO:8).

Conforme aqui usado, os termos "consistindo em" e "compreendendo" são concretizados no termo "compreendendo".

A presente invenção também proporciona plantas transformadas com um DNA que codifica o regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT, ou um DNA codificando o regulador ID Nº 72062 WRKY, e tendo altura diminuída.

Na presente invenção, "altura" refere-se à altura acima do solo de uma planta. Se a altura é diminuída ou não pode ser determinada pela medição da altura acima do solo comparando-os a um controle. Na presente invenção, a altura é referida para ser "diminuída", considerando-se que ela é diminuída mesmo em uma quantidade pequena. Os DNAs da presente invenção que codificam o regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT têm as características de diminuir somente a altura de uma planta (Figura 1). Os DNAs que codificam regulador ID Nº 72062 WRKY têm as características de diminuir a altura e tamanhos da folha (Figura 2). Os DNAs que codificam o regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT, e os DNAs que codificam o regulador ID Nº 72062 WRKY, ambos não afetam a morfologia da flor. Quando impedimento de crescimento de uma planta ocorre, todos os órgãos ordinários suportam impedimento de crescimento. Contudo, os DNAs que codificam o regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT e os DNAs que codificam o regulador ID Nº 72062 WRKY têm as características de causar impedimento de crescimento somente na altura, e em certos órgãos, tais como as folhas.

As plantas transformadas da presente invenção com um DNA

que codifica o regulador de ligação ID N° 77629 CCAAT, e as plantas transformadas com um DNA que codifica o regulador ID N° 72062 WRKY não são particularmente limitadas, considerando-se que sua altura é diminuída, e podem ser modificadas com relação a outras partes no corpo da planta. Exemplos de modificações de outras partes incluem, por exemplo, diminuição na largura e/ou comprimento de flores, diminuição no número de folhas, diminuição na largura e/ou comprimento de folhas, diminuição na área e/ou espessura de folhas, diminuição no comprimento e/ou espessura de raízes, diminuição na largura e/ou comprimento do caule, diminuição no tamanho das sementes, e diminuição no número de frutos, mas não limitam estes.

A presente invenção também proporciona plantas que são transformadas com um DNA que codifica o regulador ID N° 73448 HD-Zip II, ou um DNA que codifica o regulador ID N° 74387 MYB, no qual morfologia de fibra no xilema das plantas é modificada, e uma quantidade de crescimento é aumentada.

Na presente invenção, "morfologia de fibra no xilema é modificada" significa que pelo menos um comprimento de fibra, largura de fibra, e espessura de parede no xilema da planta é aumentado, comparado àqueles antes da transformação. Alternativamente, também significa que a razão de Runkel varia comparada àquela antes da transformação. Na presente invenção, a razão de Runkel significa o valor obtido pela divisão da espessura de parede dupla pelo diâmetro do lúmen da célula.

Se o comprimento de fibra, largura de fibra, e/ou espessura de fibra é aumentado ou não pode ser determinado pela medição do comprimento de fibra, largura de fibra, e/ou espessura de fibra. Se a razão de Runkel varia ou não pode ser determinada pela medição da espessura de paredes e diâmetro de lúmen de célula, e calcula-se a razão de Runkel. Na presente invenção, a morfologia de fibra em xilema é referida para ser "modificada", considerando-se que pelo menos um de comprimento de fibra, largura de fibra e espessura de parede em xilema de uma planta é aumentado mesmo em uma pequena quantidade, ou considerando-se que a razão de Runkel varia mesmo em uma pequena quantidade.

Na presente invenção, um "aumento em uma quantidade de crescimento" refere-se a um aumento na altura, alargamento de diâmetro de caule, um aumento no número de folhas, um aumento na área das folhas, um aumento no número de flores, e um aumento na massa de secagem. Se a quantidade de crescimento é aumentada ou não pode ser determinada pela medição da altura, diâmetro de caule, número de folhas, área de folha, número de flores, e massa de secagem, e comparando-os àqueles de um controle. Na presente invenção, uma quantidade de crescimento é referida para ser "aumentada" considerando-se que ela é aumentada mesmo em uma pequena quantidade.

Além disso, a presente invenção proporciona plantas que são transformadas com um DNA que codifica o regulador ID Nº 73448 HD-Zip II, no qual a morfologia de fibra no xilema das plantas é modificada, e/ou a morfologia de flor das plantas é modificada.

Uma "modificação da morfologia da flor" na presente invenção inclui aumento na largura da flor, aumento no comprimento da flor, modificações na morfologia da pétala, mas não está limitada a estes. Na presente invenção, largura de flor refere-se ao diâmetro máximo do órgão da flor composto de pétalas. Se a largura da flor é aumentada ou não pode ser determinada pela medição do diâmetro máximo do órgão da flor, e comparando-os a um controle. Na presente invenção, uma largura de flor é referida para ser "aumentada" considerando-se que ela é aumentada mesmo em uma pequena quantidade.

Na presente invenção, o comprimento da flor refere-se à distância a partir do limite entre o cálice e o pedúnculo à ponta da pétala mais distal. Se o comprimento da flor é aumentado ou não pode ser determinado pela medição da distância a partir do limite entre o cálice e pedúnculo à ponta da pétala mais distante, e comparando-os a um controle. Na presente invenção, um comprimento de flor é referido para ser "aumentado" considerando-se que ele é aumentado mesmo em uma pequena quantidade.

Uma "modificação da morfologia da flor" na presente invenção inclui modificações de morfologia da flor associadas com modificações na

morfologia da pétala. Um exemplo é o caso onde uma modificação na morfologia da pétala faz com que uma região constricta entre as pétalas desapareça, modificando, desse modo, a morfologia da flor. Mais especificamente, uma "modificação da morfologia da flor" na presente invenção é, por exemplo, conversão de uma morfologia em forma de estrela total da flor devido a 5 constrictões entre pétalas em um pentágono quase circular, conforme indicado pelas setas na Figura 3E. Contudo, as modificações não estão limitadas a estas.

Além disso, a presente invenção proporciona plantas que são transformadas com um DNA que codifica o regulador ID Nº 73448 HD-Zip II, 10 ou o regulador ID Nº 74387 MYB, no qual a morfologia de fibra em xilema das plantas é modificada, e/ou o número de folhas nas plantas é aumentado.

Na presente invenção, o número de folhas refere-se ao número de folhas formadas durante um dado período de tempo em uma planta, ou o 15 número de folhas formadas durante a vida útil de uma planta (até morte). Se o número de folhas aumenta ou não pode ser determinado pela medição do número de folhas e comparando-o a um controle. Na presente invenção, o número de folhas é referido para ser "aumentado" considerando-se que ele é aumentado mesmo em uma pequena quantidade.

20 Não existe restrição particular na forma do "DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese" na presente invenção, considerando-se que ele pode codificar um regulador transcricional que pode participar na xilogênese em eucaliptos, ou em plantas outras do que eucalipto; e o DNA inclui DNAs genômicos, DNAs quimicamente sintetizados, bem 25 como cDNAs. Além disso, DNAs compreendendo uma sequência de nucleotídeo arbitral baseado na degeneração de código genético são também incluídos, considerando-se que eles codificam um regulador transcricional envolvido em xilogênese.

Um versado na técnica pode preparar DNAs e cDNAs genômicos pelo uso de meios convencionais. DNAs genômicos podem ser preparados, por exemplo, pela extração de DNAs genômicos de uma planta; construção de uma biblioteca genômica (um plasmídeo, fago, cosmídeo, BAC, 30

PAC, ou similares podem ser usados como um vetor); desenvolvimento dos mesmos; e realização de hibridização de colônia ou hibridização de placa usando-se uma sonda preparada baseada em um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese (por exemplo, um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de uma de SEQ ID Nos: 1 a 4). Alternativamente, DNAs genômicos podem ser preparados pela preparação de iniciadores específicos para um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese, e realização de PCR pelo uso destes iniciadores. cDNAs podem ser preparados, por exemplo, pela sintetização de cDNAs baseados em mRNAs extraídos de eucalipto ou plantas outras do que eucalipto, inserindo-os em vetores tais como λ ZAP, para criar uma biblioteca de cDNA; desenvolvendo-os; e realizando hibridização de colônia ou hibridização de placa conforme descrito acima. Eles podem também ser preparados por realização de PCR.

Além disso, como os DNAs da presente invenção, não somente DNAs que codificam a seqüência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NO: 5 a 8, mas também DNAs que codificam uma proteína estruturalmente similar àquelas proteínas (por exemplo, mutantes, derivados, alelos, variantes, e homólogos) podem ser usados, considerando-se que eles são DNAs que codificam um regulador transcricional envolvido em xilogênese. Tais DNAs incluem, por exemplo, DNAs cada que codificam uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções na seqüência de aminoácido de qualquer de uma de SEQ ID Nos: 1 a 4.

Métodos para isolamento de tais DNAs bem-conhecidos a um versado na técnica incluem a técnica de hibridização (Southern E.M., *Journal of Molecular Biology*, Vol. 98, 503, 1975), e a técnica de reação de cadeia polimerase (PCR) (Saiki, R. K., *et al.* *Science*, vol. 230, 1350-1354, 1985; Saiki, R.K. *et al.*, *Science*, vol. 239, 487-491, 1988). Especificamente, um versado na técnica pode usualmente isolar DNAs que codificam uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções na seqüência de aminoácido de

qualquer de uma de SEQ ID Nos: 1 a 4 de várias plantas, pelo uso como uma sonda total ou uma parte da seqüência de nucleotídeo (por exemplo, as seqüências de qualquer uma de SEQ ID Nos: 1 a 4) de um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese em eucalipto, ou em
5 plantas outras do que eucalipto, ou pelo uso como oligonucleotídeos iniciadores que hibridizam especificamente a um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese em eucalipto, ou plantas outras do que eucalipto.

Para isolar tais DNAs, a reação de hibridização é usualmente
10 realizada sob condições estridentes. As condições de hibridização estridentes podem ser selecionadas apropriadamente por aqueles versados na técnica. Por exemplo, uma pré-hibridização é realizada durante toda a noite a 42°C em uma solução de hibridização compreendendo 25% de formamida ou 50% de formamida, sob condições mais estridentes, 4x SSC, 50 mM de
15 Hepes pH 7,0, 10x de solução de Denhart, e 20 µg/ml de DNA de esperma de salmão desnaturado; em seguida, uma sonda etiquetada é adicionada; e hibridização é realizada por incubação durante toda a noite a 42°C. A lavagem subsequente pode ser realizada sob solução de lavagem e condições de temperatura de "1xSSC, 0,1% de SDS, 37°C" ou, desse modo, condições
20 mais estridentes de "0,5x SSC, 0,1% de SDS, 42°C", ou, desse modo, e condições ainda mais estridentes de "0,2x SSC, 0,1% de SDS, 65°C", ou, desse modo. O isolamento de DNAs como homologia mais alta para a seqüência de sonda pode ser esperado pelo uso de condições de lavagem de hibridização com estringência mais alta, conforme descrito. Contudo, as
25 combinações acima mencionadas de SSC, SDS e condições de temperatura são exemplares, e aqueles versados na técnica podem alcançar as mesmas estringências conforme aquelas descritas acima pela combinação adequadamente dos elementos acima mencionados, ou outros elementos que determinam a estringência de hibridização (por exemplo, concentração da sonda, comprimento da sonda e tempo de reação de hibridização). A homologia
30 de DNAs isolados indica uma identidade de seqüência de pelo menos 50% ou mais, mais preferivelmente 70% ou mais, ainda mais preferivelmente 90%

ou mais (por exemplo, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou mais) sobre a sequência de aminoácido total. A homologia de sequência pode ser determinada usando-se programas de BLASTIN (nível de ácido nucléico), ou BLASTX (nível de aminoácido) (Altschul et al. *J. Mol. Biol.* 215:403-410, 1990). Os programas são baseados no algoritmo BLAST por Karlin e Altschul (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:2264-2268, 1990; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:5873-5877, 1993). Quando se analisa uma sequência de nucleotídeo por BLASTIN, os parâmetros são ajustados para, por exemplo, contagem = 100 e comprimento de palavra = 12. Quando se analisa uma sequência de aminoácido por BLASTX, os parâmetros são, por exemplo, ajustados para contagem = 50 e comprimento de palavra = 3. Alternativamente, uma sequência de aminoácido pode ser analisada usando-se programa BLAST com Folga conforme indicado por Altschul et al (*Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402, 1997). Quando programas BLAST e BLAST com Folga são usados, os parâmetros de falha de cada programa são usados. Os procedimentos específicos destes métodos de análise são conhecidos.

Preferivelmente, as proteínas codificadas por DNAs isolados pela técnica de hibridização cada compreende as seguintes características estruturais (domínios):

20 776629CCAAT compreende um domínio de CBF e um domínio de HAP2;

 72062WRKY compreende um domínio WRKY;

 7244HD-Zip II contém um domínio homeo e um domínio leucina zipper; e

25 74387MYB compreende um domínio SANT, um domínio de ligação de Myb DNA, e um domínio REBI.

As plantas transformadas podem ser produzidas usando-se um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese, pela introdução nas células da planta de um vetor inserido com o DNA, e regeneração de plantas de células de planta transformadas resultantes.

Os vetores na presente invenção são preferivelmente aqueles que podem expressar genes inseridos nas células de planta. Exemplos in-

cluem vetores, tais como pLH1 e pMH2, mas os vetores não são particularmente limitados a estes. Os vetores da presente invenção podem conduzir, por exemplo, um promotor para expressão de gene constitutivo em células de planta (por exemplo, um promotor do gene SK2 quitanase da batata, e
5 promotor de vírus de mosaico de couve-flor 35S). Particularmente na presente invenção, o uso de promotores, tais como aqueles que induzem expressão na planta total, promotores específicos de ápice de broto, promotores específicos de folha, ou promotores específicos de flor, é preferido, a partir do ponto de vista de expressão dos genes da presente invenção ecto-
10 picamente. Quando tais promotores são usados, DNAs são designados de modo que um DNA da presente invenção que codifica um regulador transcricional envolvido na xilogênese é operavelmente ligado à jusante de um promotor. Em seguida, um vetor compreendendo um DNA designado é introduzido nas células de planta. As plantas transformadas em que um gene da
15 presente invenção é expresso ectopicamente podem ser obtidas através da regeneração a partir das células de planta transformadas resultantes. Dessa maneira, a presente invenção também proporciona DNAs em que um DNA da presente invenção que codifica um regulador transcricional envolvido na xilogênese é operavelmente ligado à jusante de um promotor. Aqui, "opera-
20 velmente ligado" significa que uma sequência de promotor e um DNA da presente invenção que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese são ligados de modo que a expressão deste DNA é induzida pela ligação de um fator de transcrição à sequência de promotor.

Além destes vetores, vetores que conduzem um promotor que
25 seja ativado indutivamente por estimulação externa, pode também serem usados.

Aqueles versados na técnica podem introduzir DNAs da presente invenção em células por métodos conhecidos, tais como métodos de propileno glicol, método de eletroporação, métodos mediados por *Agrobacteri-*
30 *um*, e métodos de canhão de partícula.

Em adição, a regeneração de plantas é também possível usando-se métodos conhecidos àqueles versados na técnica, de acordo com o

tipo de célula de planta (Toki *et al.*, Plant Physiol., 100: 1503-1507, 1995). Por exemplo, um número de técnicas para produção de plantas transformadas são já estabelecidos, e são amplamente usados no campo técnico da presente invenção. Este métodos incluem o método de introduzir genes em

5 protoplastos usando-se polietileno glicol e, em seguida, regeneração de plantas (Datta *et al.*, In Gene Transfer To Plants. Petrykus e Spangenberg, G. Eds, pp, 66-74, 1995), o método para introduzir genes em protoplastos usando-se pulso elétrico e, em seguida, regeneração de plantas (Toki *et al.*, Plant Physiol. 100: 1503-1507, 1992), o método de introdução diretamente

10 de genes em células usando-se o método de canhão de partícula e, em seguida, regeneração de plantas (Christou *et al.*, Bio/technology, 9: 957-962, 1991), e o método para introdução de genes, via uma *Agrobacterium*, e, em seguida, regeneração de plantas (Hier *et al.*, Plant J., 6: 271-282, 1994). Estes métodos podem ser apropriadamente usados na presente invenção.

15 Quando se usa o método de *Agrobacterium* acima, o método de Nagel *et al.* (Microbiol. Lett. 67: 325, 1990) é usado, por exemplo. Neste método, um vetor recombinante é transformado em um *Agrobacterium*, e subsequentemente, o *Agrobacterium* é introduzido em uma célula por método conhecido, tal como o método de disco de folha. O vetor acima mencionado

20 compreende um promotor de expressão de modo que, por exemplo, o DNA da presente invenção que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese é expresso em uma planta após introdução na planta. Geralmente, o DNA da presente invenção que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese está localizado a jusante do promotor, e um terminador está localizado adicionalmente a jusante de tal DNA. O vetor recombinante usado para este propósito é adequadamente selecionado por um versado na técnica, dependendo do tipo de planta ou método de introdução. Os

25 promotores acima mencionados incluem, por exemplo, CaMV355 derivado de vírus de mosaico de couve-flor, e o promotor de ubiquitin de milho (JP-A

30 (KOkai) H2-79983).

A geração de eucalipto transformado é possível usando-se, por exemplo, métodos descritos na Patente Japonesa Registrada N° 356284 e

JP-A (Kokai) 2002-281851, conforme mencionado nos Exemplos abaixo; contudo, os métodos não são limitados a estes.

Exemplos do terminador acima mencionado podem ser um terminador derivado de vírus de mosaico de couve-flor, e o terminador do gene nopalina sintase; contudo, o promotor e terminador não são limitados a estes, considerando-se que eles funcionam em uma planta.

As plantas em que o DNA da presente invenção que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese é introduzido podem ser explantes, ou o DNA pode ser introduzido nas células cultivadas preparadas a partir destas plantas. As "células de planta" na presente invenção incluem, por exemplo, células de planta de uma folha, raiz, caule, flor e *scutellum* em uma semente; *calluses*; e células cultivadas em suspensão.

De modo a selecionar eficientemente as células transformadas pela introdução do DNA da presente invenção que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese, o vetor recombinante é introduzido nas células de planta, preferivelmente junto com um gene marcador de seleção adequado, ou um vetor de plasmídeo compreendendo um gene marcador de seleção. Os genes marcadores de seleção usados para esta proposta incluem, por exemplo, o gene higromicina fosfotransferase resistente ao antibiótico higromicina, o gene neomicina fosfotransferase resistente a canamicina, ou gentamicina, e o gene acetiltransferase resistente ao herbicida fosfitricin.

As células em que o vetor recombinante foi introduzido são colocadas em um meio de seleção conhecido contendo um agente de seleção adequado dependendo do tipo de gene marcador de seleção introduzido, e em seguida, cultivadas. Desse modo, as células cultivadas de planta transformadas podem ser obtidas.

As plantas regeneradas das células transformadas são, em seguida, cultivadas em um meio de aclimatização. Em seguida, quando as plantas regeneradas aclimatizadas são desenvolvidas sob condições de cultivo normais, as plantas em que uma ou mais morfologias selecionadas a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de flor e altura

foram modificadas são obtidas. As plantas obtidas tornam-se maduras e dão frutos, e dão sementes. Mais especificamente, a presente invenção proporciona métodos para produção de plantas transformadas, que compreendem as etapas de:

5 (a) introdução em uma célula de planta de um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese, ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula de planta a qual o DNA ou o vetor foi introduzido em (a).

10 A presença dos DNAs estranhos introduzidos nas plantas transformadas que são regeneradas e desenvolvidas dessa maneira pode ser confirmada pelo método de PCR conhecido, ou método de hibridização de Southern, ou por análise das seqüências de nucleotídeo dos DNAs em plantas. Neste caso, a extração dos DNAs a partir das plantas transformadas
15 pode ser efetuada de acordo com o método conhecido por J. Sambrook *et al.* (Molecular Cloning, 2ª edição, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989). Quando se analisa os genes estranhos que estão presentes nas plantas regeneradas e incluem os DNAs da presente invenção, usando-se o método de PCR, uma reação de amplificação é efetuada usando-se como um
20 gabarito os DNAs extraídos a partir das plantas regeneradas. Uma reação de amplificação pode também ser realizada em uma mistura de reação contendo como iniciadores de oligonucleotídeos sintetizados que compreendem seqüências de nucleotídeo adequadamente selecionadas de acordo com as seqüências de nucleotídeo dos DNAs da presente invenção. Na reação de
25 amplificação, reações de desnaturação, recozimento e extensão de DNAs podem ser repetidas várias dez vezes para obter produtos amplificados de fragmentos de DNA compreendendo as seqüências de DNA da presente invenção. Sujeitando-se a mistura de reação compreendendo os produtos amplificados, por exemplo, a eletroforese de agarose, os vários tipos de
30 fragmentos de DNA amplificados são fracionados, capacitando, desse modo, a confirmação de se um certo fragmento de DNA corresponde a um DNA da presente invenção.

Uma vez que uma planta transformada que compreende um DNA da presente invenção que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese em uma forma introduzida no cromossomo é obtida, progênies podem ser obtidas a partir da planta por reprodução sexuada ou assexuada. Adicionalmente, células, órgãos e materiais de propagação (por exemplo, sementes, frutos, panículas, tubérculos, raízes tuberosas, tocos, *calluses* e protoplastos) podem ser isolados da planta ou suas progênies ou clones, e as plantas podem ser produzidas em massa baseado nestes materiais. A presente invenção inclui células de planta em que um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese foi introduzido; plantas compreendendo as células; órgãos das plantas (por exemplo, flores, folhas, raízes e caules); progênies e clones das plantas; e materiais de propagação das plantas e suas progênies e clones. Tais células de planta, plantas compreendendo as células, órgãos das plantas (por exemplo, flores, folhas, raízes e caules), progênies e clones das plantas, e materiais de propagação das plantas, e suas progênies e clones, podem ser usados em métodos para modificação de uma ou mais morfologia das plantas selecionadas a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e altura.

Exemplos das plantas da presente invenção incluem plantas ornamentais, plantas a serem usadas como alimento, e plantas para uso industrial. Estas plantas incluem plantas arborizadas e plantas herbáceas. Exemplos de plantas arborizadas incluem eucalipto, álamo, pinho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, *Broussonetia kazinoki* x *B. papyrifera*, e *Edgeworthia chrysantha*; contudo, as plantas não estão limitadas a estas. Exemplos de plantas herbáceas incluem "Kenaf", papiro, tabaco, tulipa, rosa, cravo, orquídea, monstera, *Alocasia odora*, arroz, trigo, milho, soja, e cana-de-açúcar; contudo, as plantas não estão limitadas a estas.

A presente invenção proporciona adicionalmente métodos para modificação de morfologia de uma planta, que compreendem as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese, ou um vetor compre-

endendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula de planta a qual o DNA ou o vetor foi introduzido em (a).

O termo "modificar" na presente invenção não somente significa
5 modificar a morfologia de uma planta tipo selvagem, mas também significa modificar a morfologia de uma planta em que algum tipo de mutação já foi introduzido. Aqui, não existe limitação do tipo ou extensão de mutação na planta em que algum tipo de mutação já foi introduzido.

Na presente invenção, não existem limitações particulares para
10 as plantas cuja morfologia é para ser modificada, e exemplos incluem as plantas acima mencionadas.

Nos métodos acima descritos, vetores compreendendo um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese incluem aqueles acima mencionados. Além disso, a introdução de um vetor compre-
15 endendo um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese em células de plantas, e regeneração de plantas a partir de células de plantas, podem ser efetuadas pelos métodos acima descritos.

Exemplos das plantas incluem plantas arborizadas e plantas herbáceas. Exemplos de plantas arborizadas incluem eucalipto, álamo, pi-
20 nho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, *Broussonetia kazinoki* x *B. papyrifera*, e *Edgeworthia chrysantha*; contudo, as plantas não estão limitadas a estas. Exemplos de plantas herbáceas incluem "Kenaf", papiro, tabaco, tulipa, rosa, cravo, orquídea, monstera, *Alocasia odora*, arroz, trigo, milho, soja, e cana-de-açúcar; contudo, as plantas não estão limitadas a es-
25 tas.

Além disso, a presente invenção proporciona métodos para modificação de uma ou mais morfologias de uma planta selecionada a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e altura, no qual o método compreende as etapas de:

30 (a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula de planta a

qual o DNA ou o vetor foi introduzido em (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4.

A presente invenção também proporciona métodos para diminuir a altura de uma planta, que compreende as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona métodos para aumentar uma quantidade de crescimento de uma planta, que compreende as etapas de:

5 (a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

10 (i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

15 (iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

20 Adicionalmente, a presente invenção proporciona métodos para modificar a morfologia da flor de uma planta, na qual o método compreende as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

25 (b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

30 (i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7; e

5 (iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona métodos para aumentar o número de folhas em uma planta, na qual o método compreende as etapas de:

10 (a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i)
15 a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

20 (iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA
25 compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona métodos para modificar a morfologia de fibra no xilema de uma planta, no qual o método compreende as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor
30 compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

5 (ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7
10 ou 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

A presente invenção também proporciona agentes para modificação de morfologia de planta. Os agentes da presente invenção podem ser
15 usados, por exemplo, para produção de uma planta cuja morfologia é modificada, ou para modificação da morfologia da planta.

Mais especificamente, a presente invenção proporciona agentes para modificar uma ou mais morfologias de uma planta selecionadas a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e altura, no
20 qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8;

25 (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de qualquer uma
30 de SEQ ID NO: 5 a 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID

NOs: 1 a 4.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona agentes para diminuir a altura de uma planta, no qual os agentes compreendem como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a

5 (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2;

10 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA

15 compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona agentes para aumentar uma quantidade de crescimento de uma planta, no qual os agentes compreendem como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o

20 DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

25 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA

30 compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona agentes para modificação da morfologia da flor de uma planta, no qual os agentes com-

preendem como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;

5 (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO:

10 7; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estringentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona agentes para aumentar o número de folhas em uma planta, no qual os agentes compreendem como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

15 (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

20 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

25 (d) um DNA que hibridiza sob condições estringentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona agentes para modificação da morfologia de fibra no xilema de uma planta, no qual os agentes compreendem como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

30 (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições
5 e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

Nos agentes da presente invenção para modificar a morfologia
10 de planta, exemplos de vetores compreendendo um DNA que codifica um regulador transcricional envolvido em xilogênese incluem aqueles descritos acima. Exemplos das plantas incluem plantas arborizadas e plantas herbáceas. Exemplos de plantas arborizadas incluem eucalipto, álamo, pinho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, *Broussonetia kazinoki* x *B.*
15 *papyrifera*, e *Edgeworthia chrysantha*; contudo, as plantas não estão limitadas a estas. Exemplos de plantas herbáceas incluem "Kenaf", papiro, tabaco, tulipa, rosa, cravo, orquídea, monstera, *Alocasia odora*, arroz, trigo, milho, soja, e cana-de-açúcar; contudo, as plantas não estão limitadas a estas.

EXEMPLOS

20 Aqui abaixo, a presente invenção será especificamente descrita com referência aos Exemplos, mas não é para ser construída como estando limitada a estes. A menos que de outro modo notado, experimentos foram realizados de acordo com manuais de laboratório tais como "Cloning and Sequence" (editado por Lasahiro Sugiura e supervisionado por Itaru Watanabe, Nosonbunka Company (1989)), e "Molecular Cloning (Sambrook *et al.*
25 (1989), Cold Spring Harbor Laboratory Press)".

EXEMPLO 1

Produção de tabaco transformado introduzido por fator regulatório

30 Os presentes inventores descobriram que a introdução de cada um de quatro tipos de genes entre onze tipos de genes de fator regulatório descritos em WO2006/109424 em tabaco causa mudanças nas morfologias de flor e de folha, que eram efeitos inesperados. Os detalhes desta desco-

berta são descritos nos presentes Exemplos.

O tabaco é classificado como herbáceo, mas sua estrutura de tecido básica e ciclo de vida são muito mais similares a plantas econômicas convencionais (plantas de horticultura, colheitas e madeira para matéria-prima industrial) do que a *Arabidopsis thaliana* que é conhecida como uma planta modelo, e é geralmente usada para verificar efeitos de introdução de genes para uso prático (Gray-Mitsumune *et al.*, Plant Mol. Biol. 1999, 39:657-669; Patzlaff *et al.*, 2003, Plant Journal 36:743-754). Portanto, nos Exemplos, os efeitos da presente invenção serão descritos usando-se tabaco. Contudo, a espécie de planta não é limitada a tabaco, e aqueles versados na técnica podem prontamente compreender que os efeitos podem ser amplamente usados em plantas em geral. Aqueles versados na técnica podem facilmente obter efeitos descritos neste Exemplo em outra espécie de planta pela introdução de um gene de fator transcricional da presente invenção.

(1) Construção de construções para transformação

Construções para transformação foram construídas por subclonagem de cada um dos DNAs dos fatores regulatórios (SEQ ID Nos: 1 a 4) a jusante do promotor 35S no vetor gabarito pB121 (Bevan, M., Nucleic Acids Res. 12, 8711-8721, 1984). O método de subclonagem foi, por exemplo, síntese de iniciadores que pode amplificar o comprimento total de um cDNA, fosforilação e enfraquecimento das extremidades de fragmentos amplificados por PCR, e ligando-os a jusante do promotor 35S de um vetor pB121 do qual a porção de gene GUS foi removida usando-se enzimas de restrição, e cujas extremidades foram enfraquecidas em avanço. Desde que a expressão aciona o promotor 35S dos fatores regulatórios, os efeitos no xilema que é o local original de função, bem como os efeitos devido à expressão ectópica em outros locais, podem ser verificados. Estas construções foram introduzidas em *Agrobacterium* (cepa LBA4404) por eletroporação, e os transformantes foram selecionados em um meio LB agar (25 µg/ml cada de kanamicin e higromicin, e 1,0% de agar). Colônias simples foram selecionadas a partir da placa de *Agrobacterium* transformado, e eles foram individual-

mente cultivados (28,5°C, 240 rpm) durante toda a noite em um meio líquido de LB contendo antibiótico (25 µg/ml cada de kanamicina e higromicina). Após cultura, a solução de cultura de *Agrobacterium* foi centrifugada (5°C, 8000 rpm, 5 minutos) para coletar células. O sobrenadante foi removido, e
5 meio líquido de MS foi adicionado a precipitados brandamente suspensos. A suspensão foi coletada em um tubo de 50 ml, e esta foi diluída usando-se meio líquido de MS para ajustar o OD550 da suspensão para 0,5. Esta suspensão foi usada para procedimentos de infecção.

(2) Transferência de gene em tabaco

10 Folhas jovens de tabaco crescidas sob condições estéreis com um meio de crescimento (MS, 3% de sacarose, NAA 10^{-7} M, BA 10^{-5} M, 1% de agar, pH 5,6) foram usadas como amostras para infecção. As folhas foram colocadas em um prato contendo água estéril, o perímetro das folhas e as veias maiores foram removidos, e as porções remanescentes foram cor-
15 tadas em seções de aproximadamente 7 mm quadrados usando um escalpe. Estas seções foram pressionadas entre KimTowels esterilizados e levemente secadas. Em seguida, as seções foram assentadas no meio de pré-cultura (MS, 3% de Sacarose, NAA 10^{-7} M, BA 10^{-5} M, 1% de agar, pH 5,6) com seu faceamento para cima indesejável, e pré-cultivadas durante toda a noite a
20 25°C.

As seções de folhas pré-cultivadas foram embebidas na suspensão de *Agrobacterium*, e cultivadas por 20 minutos com agitação branda, e, em seguida, as seções foram pressionadas entre KimTowels esterilizados e levemente secadas, assentadas em um meio de co-cultura com seu face-
25 amento para cima indesejável, e co-cultivadas no escuro a 25°C por dois a três dias. As seções co-cultivadas foram transferidas para um meio de seleção usando-se um par de pinças, e este foi cultivado sob luz a 25°C. Após a cultura ser iniciada, as folhas foram transferidas para um meio de seleção fresco de duas em duas semanas. Quando os brotos foram rediferenciados,
30 as seções foram transplantadas em um meio de enraizamento livre de hormônio (1/2 MS 1,5% de sacarose, 1% de agar, pH 5,6, Claforan 200 µg/ml, Hyg, 30 µg/ml), e os transformantes foram selecionados.

Caudas de transformantes desenvolvidas suficientemente no meio de enraizamento foram cortadas em cortes de nodo simples, e subcultivados com um meio de arazamento fresco. Após subcultivo por três a quatro semanas, e quando as plantas de tabaco transformadas tinham crescido a uma altura de planta de aproximadamente 10 cm, as plantas foram transplantadas em solo de pote, e elas foram desenvolvidas em uma estufa por seis semanas, e até a coleta da semente. Ao mesmo tempo, plantas de tabaco tipo selvagem foram também desenvolvidas da mesma maneira para comparação. Até a sexta semana durante o período de crescimento, a altura da planta, diâmetro do caule, e o número de folhas foram examinados toda semana.

EXEMPLO 2

Modificação de morfologias de flor e de folha e altura por reguladores de xilogênese

(1) Efeitos de regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT

O efeito obtido pela introdução de regulador de ligação ID Nº 77629 CCAAT de SEQ ID NO:1 é mostrado nas Figuras 1 e 5. O tabaco transformado desenvolvido por seis semanas em estufa mostrou diminuição de aproximadamente 20% na altura comparado à cepa tipo selvagem, desse modo um efeito de impedimento de crescimento foi mostrado (Figuras 1 e 5). Contudo, desde que o tamanho das folhas foi o mesmo conforme aquele da cepa tipo selvagem, este efeito de impedimento de crescimento não foi um efeito de impedimento de crescimento da planta total, mas um efeito que diminui a altura somente. A partir dos resultados acima, os presentes inventores descobriram que quando regulador de ligação Nº ID 77629 CCAAT é feito funcionar ectopicamente em partes outras do que o xilema, ele mostra um efeito de modificação de altura.

(2) Efeitos de regulador ID Nº 72062 WRKY

O efeito obtido pela introdução de regulador ID Nº 72062 WRKY de SEQ ID NO:2 é mostrado nas Figuras 2 e 5. O tabaco transformado desenvolvido por seis semanas em uma estufa mostrou diminuição de aproximadamente 20% na altura comparado à cepa tipo selvagem, desse modo

um efeito de impedimento de crescimento foi mostrado (Figuras 2A e 5). As folhas na sexta semana após naturalização estavam menores para o tabaco transformado por ID Nº 72062 WRKY comparadas à cepa tipo selvagem (Figura 2B). A partir dos resultados acima, os presentes inventores descobriram que quando regulador Nº ID 72062 WRKY é feito funcionar ectopicamente em partes outras do que o xilema, ele mostra um efeito de impedimento de crescimento.

(3) Efeitos de regulador ID Nº 73448 HD-Zip II

O efeito obtido pela introdução de regulador ID Nº 73448 HD-Zip II de SEQ ID NO:3 é mostrado nas Figuras 3 e 5. O tabaco transformado desenvolvido por seis semanas em uma estufa mostrou aumento de aproximadamente 50% na altura comparado à cepa tipo selvagem, desse modo um efeito de aumento de crescimento significativo foi mostrado (Figuras 3A e 5). As folhas de tabaco transformadas na sexta semana após naturalização mostraram adesão do pecíolo e haste, e desenvolvimento significativo dos botões de flores auxiliares (Figura 3B). Além disso, as folhas dos transformantes foram formadas tal que elas esticam para cima (Figura 3A). Morfológicamente elas eram levemente estreitas e alongadas, carecidas de região de pecíolo, e, ao invés, tinham área aderida à haste e difundida na porção basal (Figura 3C). Após nove a dez semanas de cultivo, o tabaco cresceu em uma estufa iniciada para dar flores. As diferenças morfológicas foram também observadas para as flores da cepa tipo selvagem e o tabaco transformado. Comparado à cepa tipo selvagem, o tabaco transformado por ID Nº 73448 HD-Zip II tinha flores com largura e comprimento significativamente aumentados (Figuras 3D e 3E). Além disso, outras mudanças morfológicas foram observadas: o estame foi alongado com relação ao pistilo. A comparação das pétalas mostrou que a cepa tipo selvagem tinha uma morfologia em forma de estrela, visto que existiam constrições, pelo que o transformante tinha uma morfologia modificada de um pentágono regular ou uma forma quase redonda similar a resplendores matinais, visto que as constrições das pétalas foram quase perdidas (Figura 3E). Com relação à morfologia de fibra da cepa tipo selvagem e o tabaco transformado neste caso, a cepa tipo sel-

vagem tinha comprimento de fibra de 0,683 mm, largura de fibra de 20,4 μ m, espessura de parede de 3,4 μ m, e razão de Runkel de 49,6% (0,496), pelo que, o tabaco transformado tinha comprimento de fibra de 0,813 mm, largura de fibra de 24,5 μ m, espessura de parede de 5,5 μ m, e razão de Runkel de 82,1% (0,821); portanto, o efeito de modificação de xilema foi alcançado conforme esperado. A partir dos resultados acima, os presentes inventores descobriram que quando regulador ID Nº 73448 HD-Zip II é feito funcionar ectopicamente em partes outras do que o xilema, ele mostra, em adição aos efeitos de modificação de xilema, efeitos de modificação, tais como efeitos de aumento de altura, aumento de crescimento, modificação da morfologia da folha, e modificação da morfologia da flor.

(4) Efeito de regulador ID Nº 74387 MYB

Os efeitos obtidos pela introdução de regulador ID Nº 74387 MYB de SEQ ID NO:4 são mostrados nas Figuras 4 e 5. O tabaco transformado desenvolvido por seis semanas em uma estufa mostrou aumento de aproximadamente 20% na altura comparado à cepa tipo selvagem, desse modo um efeito de aumento de crescimento foi mostrado (Figuras 4 e 5). Além disso, enquanto o tamanho das folhas era o mesmo da cepa tipo selvagem, o número de folhas foi aumentado. Com relação à morfologia da fibra da cepa tipo selvagem e tabaco transformado neste caso, a cepa tipo selvagem tinha um comprimento de fibra de 0,800 mm, largura de fibra de 24,1 μ m, espessura de parede de 5,6 μ m, e razão de Runkel de 86,8% (0,868), pelo que, o tabaco transformado tinha comprimento de fibra de 1,010 mm, largura de fibra de 29,2 μ m, espessura de parede de 6,5 μ m, e razão de Runkel de 80,2% (0,802); portanto, o efeito de modificação de xilema foi alcançado conforme esperado. A partir dos resultados acima, os presentes inventores descobriram que quando regulador ID Nº 74387 MYB é feito funcionar ectopicamente em partes outras do que o xilema, ele mostra, em adição aos efeitos de modificação de xilema, efeitos de mudança de altura, aumento de crescimento, e aumento do número de folhas.

EXEMPLO 3

Produção de eucalipto transformado introduzido por fator regulatório

Os presentes inventores confirmaram que introdução de dois tipos de genes (ID Nº 73448 HP-Zip II e ID Nº 74387 MYB), de entre os quatro tipos de genes de fator regulatório que mostram efeitos no tabaco, no eucalipto produz efeitos similares. Os detalhes são descritos nos presentes Exemplos.

Para transformação de eucalipto, as construções descritas no Exemplo 1 foram usadas. A transformação foi realizada usando *Agrobacterium*, e com referência a Patente Japonesa Registrada Nº 356284 "Methods for producing transformed *Eucalyptus* plants". A rediferenciação em plantas foi realizada de acordo com JP-A (Kokai) 2002-281851 "Methods for redifferentiating woody plants from calluses".

Mais especificamente, ramificações prematuras de um cruzamento entre *E. grandis* e *E. urophylla* crescidas em meio B5 (1% de sacarose, 2 rpm) foram usadas como a amostra para infecção. As ramificações foram co-cultivadas com *Agrobacterium* por dois dias em um meio de cocultura (meio basal B5, 2 mg/l NAA, 0,2 mg/l 4-PU, 3% de sacarose, 10 µM de acetosiringone, galactose a 1 mM, 2,5 mg/l de DTT). Em seguida, bactérias foram removidas das ramificações por cultura por sete dias com meio de esterilização (meio basal B5, 2 mg/l de NAA, 0,2 mg/l 4-PU, 3% de sacarose, 6,25 µg/ml de meropenem). Em seguida, cultura seletiva foi realizada para um total de 20 a 30 dias por subcultura em intervalos de sete dias com um meio de seleção (meio basal B5, 0,04 mg/l de NAA, 0,25 mg/l 4-PU, 3% de sacarose, 10 µg/ml de higromocin) para selecionar calluses transformados. De modo a induzir broto primordia a partir dos calluses transformados obtidos, cultura foi realizada com um meio de indução (meio basal B5, 0,04 a 0,06 mg/l de NAA, 2 mg/l 4-PU, 3% de sacarose, 25000 lux, 24 horas na claridade). Em seguida, para induzir rediferenciação de brotos a partir do broto primordia obtido, cultura foi realizada com um meio de broto (meio basal B5, 0,02 mg/l de NAA, 0,2 mg/l de BA, 1% de sacarose, 0,2% de Gelrite, 5000 lux, 16 horas na claridade). Finalmente, após transferência dos brotos cultivados para um meio de enraizamento (1/4 meio basal B5, 0,01 mg/l de NAA, 1% de sacarose, 0,4% de agar, 5000 lux, 16 horas na claridade), plantas

jovens transformadas foram obtidas.

EXEMPLO 4

Modificação de altura de planta de eucalipto por reguladores de xilogênese

(1) Efeitos de regulador ID Nº 73448 HD-Zip II

5 Transformantes de eucalipto aos quais regulador ID Nº 73448 HD-Zip II de SEQ ID NO:3 foi introduzido são mostrados nas Figuras 6 e 7. O eucalipto transformado desenvolvido por oito semanas em uma estufa tinha grande número de folhas, mostrou grande morfologia de folha, e exibiu aumento de aproximadamente 20% na altura comparado à cepa tipo selvagem (Figuras 6, 7 e 10), desse modo um efeito de aumento de crescimento similar àquele observado para tabaco descrito no Exemplo 2 foi mostrado. Com relação à morfologia da fibra da cepa tipo selvagem e do eucalipto transformado neste caso, a cepa tipo selvagem tinha um comprimento de fibra de 0,705 mm, largura de fibra de 14,4 µm, espessura de parede de 4,2
10 µm, e razão de Runkel de 140% (1,4), pelo que, o eucalipto transformado tinha comprimento de fibra de 0,814 mm, largura de fibra de 16,2 µm, espessura de parede de 5,3 µm, e razão de Runkel de 189,3% (1,893); portanto, o efeito de modificação de xilema foi alcançado conforme esperado.

A partir dos resultados acima, os presentes inventores mostraram que quando regulador ID Nº 73448 HD-Zip II é feito funcionar ectopicamente em partes outras do que o xilema, ele mostra efeitos de modificação de altura, aumento de crescimento, e aumento do número de folhas no eucalipto em uma planta arborizada, justamente como nos resultados obtidos com tabaco que é uma planta herbácea.

(2) Efeito de regulador ID Nº 74387 MYB

25 Transformantes de eucalipto aos quais regulador ID Nº 74387 MYB de SEQ ID NO:4 foi introduzido são mostrados nas Figuras 8 e 9. O eucalipto transformado desenvolvido por seis semanas em uma estufa tinha grande número de folhas, mostrou maior morfologia de folha, e exibiu aumento de aproximadamente 40% na altura comparado à cepa tipo selvagem, desse modo um efeito de aumento de crescimento similar àquele observado para o tabaco descrito no Exemplo 2 foi mostrado (Figuras 8, 9 e 10). Com
30

relação à morfologia da fibra da cepa tipo selvagem e eucalipto transformado neste caso, a cepa tipo selvagem tinha um comprimento de fibra de 0,694 mm, largura de fibra de 14,4 μ m, espessura de parede de 4,2 μ m, e razão de Runkel de 140% (1,4), pelo que, o eucalipto transformado tinha comprimento
5 de fibra de 0,785 mm, largura de fibra de 15,8 μ m, espessura de parede de 4,8 μ m, e razão de Runkel de 154,8% (1,5448); portanto, o efeito de modificação de xilema foi alcançado conforme esperado.

A partir dos resultados acima, os presentes inventores descobriram que quando regulador ID Nº 74387 MYB é feito funcionar ectopicamente
10 em partes outras do que o xilema, ele mostra efeitos de modificação de altura, aumento de crescimento, e aumento do número de folhas no eucalipto que é uma planta arborizada, justamente como nos resultados obtidos com tabaco que é uma planta herbácea.

A ampla faixa de efeitos de modificação morfológica por cada
15 um dos fatores regulatórios antes mencionados pode ser induzida pelo uso de promotores que induzem expressão em uma planta total (por exemplo, promotores 35S e ubiquitina). Os efeitos podem também serem induzidos em uma maneira limitada pelo uso, por exemplo, de promotores específicos de ápice de broto quando da modificação da altura, promotores específicos
20 de folha quando da modificação da morfologia da folha, e promotores específicos de flor quando da modificação da morfologia da flor. Isto é facilmente concebível por aqueles versados na técnica.

Conforme descrito acima, os presentes inventores demonstraram que efeitos de modificação quantitativa e qualitativa nas flores, folhas e
25 altura podem ser obtidos em ambas plantas arborizadas e herbáceas tendo-se reguladores de xilogênese que funcionam ectopicamente. Estes efeitos de modificação podem ser usados para aumentar a produção de grãos e/ou biomassa; criação de novas flores, plantas ornamentais e plantas de horticul-
tura.

Listagem de Sequências

<110> OJI PAPER CO., LTD.

<120> MÉTODOS PARA MODIFICAÇÃO DA MORFOLOGIA DA PLANTA

<130> OJI-AD701Y1

<150> JP 2007-143317

<151> 2007-05-30

<170> Patentin version 3.4

<210> 1

<211> 987

<212> DNA

<213> Eucalyptus camaldulensis

<400> 1

```

aacggtcatt gatcattca aaatgtatc aaatttata taaaaaatg aattattca      60
gtaacctagt tcaattaga ttataaatg acttttcat atattcatc ttttgtagt      120
tgattgcac ttccaaatt gatctgctg cagagcaatt taacctaat atttttgga      180
ttgtaccga totttaagg gttaattga gaatgcctt gcccttcaa atggcggag      240
agccagttta tgaattgct aagcaatgc atgtattct gagcggaga cgaatcagag      300
caaaggcaga acttgataga aagccgtaa aggcagaaa gcaatcttc caagatcaa      360
gaccacggca tgcgataga agcccaagg gttaaggag cagctttct aacacaaaa      420
agctggatg tgaattcc agctttgag cagaaaaag tgaattcc agtattgat      480
tgccacaca atttgtaaag acatcaatg ctaaggctt taaaattag tcatgagag      540
cagattcaac agctcaaat ggaatgcta gtccaatgk gctctcatc caagtataa      600
gtgccttgg taccgagaag gaaacottg agctataga gggcctaatt gggcctaac      660
aatagctana cctctotaag tggggctcc atggagctc acattgctt tctacogtc      720
ttttatttc gtaagaata gcagatgtg gcaaggatc gggctttcc agattggag      780
accctcagtt tgotgtgct cggcaattc ttcttggct ataogtcto tttaatatc      840
tatgttcto aggaagagag ttctactgg ctgcttato aagttgccag cgttctgt      900
agtgaatgt tgaataatc ctcttcgct catgtttat ttctgagga ttogggaca      960
agtttatta tgotgtctg cgtcaaa      987

```

<210> 2

<211> 2485

<212> DNA

<213> Eucalyptus camaldulensis

<400> 2

```

gatagtitto cgtctatct cacttgagc taagggtag ctacatcat agtgggacg      60
atgaattgt tgcctgatt ggtgattgg tgctcccaag tcaagccca agaaccttt      120
taaccgcat gcttggtat gaattgatt tgaagtcag actggaagt tctggaaca      180
ataagacagg gggcttttt ctaggatct aagagaggt gacgatgga aacttgaaa      240
acaaggacac aaaaagatt gctcctagt gtgtgaca ctaagtgaa tctgcttgg      300
ctgccagaa gaaagggtat tgcgtgcat gcttgagga aaggttgca gcccgagct      360
ggtttacgc ccaagatta aatacagag gaattagat tctgatcta tcttgnato      420
ctgatgttg gctccttat ttgaatcc ctctggtt aagtcctac acattctog      480

```

attccccagt tttccctotg astacgttgz ctoagccctc tccagcccca gnaagttcc 540
 ctttcattca taacaataat agoaggagct cgggtttgat gttagatgca aatacaarta 600
 aagataacc actigaggag aaoagttott catcctttgc tttomagcct ctggaggagt 660
 cgggttctgc ctttttttgt gctggagaca aatgastoa agotaoattt cctcagcagt 720
 cttacacag aatogaggtt tcaattcagt cagaaattc tctcaattot cgtaatgtg 780
 aagcaaccaa attgcaatcc cagaatgaa gtgcttcca atttcaggga gacttttcca 840
 ggtcatcagc agaaatgtt gctgtctatg atgggttgc agotgatca aggaattca 900
 gtaotgtac tgggtatctt gaoattoto cgcgcttga cagacacag gatgatgag 960
 gagaaccaag aatcagcga gattccttgg taggtgtta tgggtgcagc ccttctgag 1020
 atggtatata cggagaaaa tatggacaga aaoagttca ggaagggag tatccagaa 1080
 gttattaca gtgcactcat cccagctgtc aagtaaaaa gaaggtgaa cgtctcatg 1140
 agggccatct tacagaatc atctacaagg gggccacaa tcaocogaaa cctccacga 1200
 accgogato tctcatgttg gtagctaat cctttgtga cgtcagtg gacaatccag 1260
 aaoagttgg cttgcagat gctacggaca ctgactctg ttggctaat atgagaaaa 1320
 ctgctgtat gtaggatac gattggagc aggataacct ttaggtcac tctacocat 1380
 ctgttgcc cgaatttgc aatgctcga cctcttaca ggcacagat ggtgtaato 1440
 aattgaaac agggatcag gtggtgtgt cctctactt ttcactgat gattgtatg 1500
 atgagagca gacgacagt aggttatott tggcttatg tggagaaa gatgaatctg 1560
 attcagagc aggaaaatt gaagctatg caactgat gattggct tcaagagca 1620
 ttctgagcc gagagtgtg gtccagaga ccagttagt agatattt gacgatgtt 1680
 atcgttgcc caagtatga cagaaagt tgaaggaaa cccgaacca aggattact 1740
 aaoagttcac agtctgtc tgcacgtta ggaagcagt agagaggag tocatgaac 1800
 ttaagtcagt aattaotag tatgaaggga agontatca tgaattct gctgtctga 1860
 atagcagca tgcactct gtgcatac ggcctatac aaoacagt accactctg 1920
 oagttcagc tcagttcat aggcaggag cctcaagat ocatagatg atgggaggt 1980
 atgagggccc oggttoattg gtttgttta gctacctg agacagcaa ctaggccctg 2040
 gtccoggatt ttctctgca ataatccac ccagactgc gaattttgca atggctgga 2100
 tgggtcttgc ccaggcaat ottccgatgt tgcctgtta toattttc gtcagcagc 2160
 accaagtaca tgaattgga ttcatgtac cgaaggaga accaaggct gagccatgt 2220
 ctgagcctg tcaaacctg tctacact cctogttta toagatatt atgagtagc 2280
 tgcctgttg aotogatg taatttcac ctttttgtt tttgtttaa gagaagaaac 2340
 atacotgat aatataata gttttcaat agcgtacat atttttgtt tgtttgtta 2400
 acttctag ttotgattg agttcttcc tggtttgao aatatagtac tctccattc 2460
 cgttcagtg atgcgcag ctca 2485

<210> 3
 <211> 889
 <212> DNA
 <213> Eucalyptus camaldulensis

<400> 3
 gattcaaccc gttattgtg acatgtgccc tatcatttg agcgtctct togaacagag 60

ccttagtctc ggtttaggot gttatggga tctgaagat cagagatca agtcaagaa 120
 aocgtctgca aagctcagtg gtaactccac gtgootcacc ataggcttgo oaggcgggaa 180
 ggcttgccgg ctggatccg cagtgggga ogagtoagg aatattccca gcaagtgggc 240
 atogtcttgc toaaactcaa gcagttcgaa gaggagagag gaggagcaag gagaggaga 300
 agcaggttag agaggagcgg gctcgcgag ggcgactatc aatctogaag atgaagatga 360
 gtttagcccc aggaagaagc tcaggcttgc taaagcaca agttccattt tggagagag 420
 cttaagagcg cacacaaccg tcaacactaa acanaagcac gatttggcaa atogttgaa 480
 tctccggcca cggcaagtgg aagtgtggtt ocagaatagg agagccagaa ctactataa 540
 acanaactga gtagagtgog agatgtgaa gaattgtgc gaaccccaa aagaagagaa 600
 cagaaggttg aagaaggagt tgcaagagot caagtcatg aagcagactg cgtcgttta 660
 taggcagatt cctgcagctg ctctccctct atgccttctt tctgaagaa ttgccatcc 720
 agaattcccg ttctcagctg aatctogaot ttggootgct catccctcag cagcttgta 780
 aacatcatct ttaaggogag aaccttgcat agttatacta gttttgattt ttctctctc 840
 tgcataaat actcactgg cctctctgct ttattaatog gtagtga 880

<210> 4
 <211> 930
 <212> DNA
 <213> Eucalyptus camaldulensis

<400> 4
 gaagaccttc acaacctatc agaaaaggag tagacttttc cccctccct ctctctctct 60
 ctctctctct ctctctctct ctctctctct gtacagagag caotgaato ataggcttga 120
 cagcaagatg aaggagagaa agaaagaca cagaaagaa cgttgacag cagaggagga 180
 caggcttctg cggactacg tgagggtgaa tggcaagggg aagtggatc goattccca 240
 gatgacaggo ctgaaaagat gtggaagag otgaggtg aagtggatga attacctgag 300
 oocgagctg aagcagagtg atttctcgga gaaagagac gaccicatca tcagactcca 360
 caatcttctt gaaacagat agtogattat tgcggggga gttcctgga gaaccataa 420
 tcaagtgaag aacatttga aactcattt gagcaagaga ctgggttca aaaaaggcaa 480
 cggcagggct gatgacatc gtccagagac caacctcaa agggagagg agaatoatgo 540
 catggtgctg gctcagagct tggagcaacc otcaagagao cacttagaag aaactgctog 600
 gaaatocag gggatgaca agtctctcg gggagcactg gtgaatgag attctcaca 660
 gaaatggct actccagca atgagttcca gaaccttct tggtttcta acagtgattt 720
 gaactttat agtccgatt tcacagacag atggggag tagactttag atctgtato 780
 ggttggttg taaagaatt ttcttagaa gcaattatc tctcttcc ottoagttot 840
 ctatgiggao gtgaaaaago tagtcatgt ttctctgga aggaactag ootgtacag 900
 gtaccgattc aggtgacaa aagaatgc 930

<210> 5
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> Eucalyptus camaldulensis

<400> 5

Met His Phe Phe Ile Tyr Ser Ser Phe Trp Trp Leu Asp Cys Thr Ser
1 5 10 15

Lys Ile Asp Leu Met Ser Glu Gln Phe Thr Leu His Ile Leu Trp Ile
20 25 30

Val Pro His Leu Tyr Gly Val His Gly Arg Met Pro Leu Pro Leu Glu
35 40 45

Met Ala Glu Glu Pro Val Tyr Val Asn Ala Lys Gln Tyr His Gly Ile
50 55 60

Leu Arg Arg Arg Arg Ile Arg Ala Lys Ala Glu Leu Asp Arg Lys Ala
65 70 75 80

Val Lys Gly Arg Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Arg His Arg His Ala
85 90 95

Met Arg Arg Pro Arg Gly Ser Gly Gly Arg Phe Leu Asn Thr Lys Arg
100 105 110

Leu Asp Gly Asp Asp Ser Ser Phe Ala Ala Glu Lys Ala Val Asn Ser
115 120 125

Ser Val Asp Leu Pro Thr Gln Phe Val Lys Thr Ser Thr Ala Gln Gly
130 135 140

Phe Gln Thr Arg Ser Met Arg Ala Asp Ser Thr Gly Ser Asn Gly Asn
145 150 155 160

Ala Ser Ala Asn Gly Leu Ser Tyr Gln Gly Ile Ser Cys Leu Gly Ala
165 170 175

Glu Lys Glu Thr Leu Gln Leu Tyr Glu Gly Pro Asn Gly Ala Tyr Lys
180 185 190

<210> 6
<211> 751
<212> PRT
<213> Eucalyptus camaldulensis

<400> 6

Met Ser Gly Ala Asp Asp Asn Val Ala Val Ile Gly Asp Trp Val Pro
1 5 10 15

Pro Ser Pro Ser Pro Arg Thr Phe Phe Thr Ala Met Leu Gly Asp Asp
20 25 30

Ile Gly Leu Arg Ser Gly Leu Glu Ala Ser Gly Asn Asn Lys Thr Gly
35 40 45

Gly Leu Phe Leu Gly Ser Gln Glu Arg Val Thr Met Gly Asn Phe Glu
50 55 60

Asn Lys Asp Thr Lys Arg Val Gly Pro Ser Gly Gly Asp His Ser Ser
65 70 75 80

Glu Ser Gly Leu Ala Ala Glu Gln Lys Gly Tyr Ser Arg Gly Cys Leu

85	90	95
Gly Glu Arg Leu Ala Ala Arg Ala Gly Phe Asn Ala Pro Arg Leu Asn 100 105 110		
Thr Glu Gly Ile Arg Ser Ala Asp Leu Ser Ser Asn Pro Asp Val Arg 115 120 125		
Ser Pro Tyr Leu Thr Ile Pro Pro Gly Leu Ser Pro Thr Thr Leu Leu 130 135 140		
Asp Ser Pro Val Phe Leu Ser Asn Thr Leu Ala Gln Pro Ser Pro Thr 145 150 155 160		
Thr Gly Lys Phe Pro Phe Ile His Asn Asn Asn Ser Arg Ser Ser Gly 165 170 175		
Leu Met Leu Asp Ala Asn Thr Ser Lys Asp Asn Pro Leu Glu Glu Asn 180 185 190		
Ser Ser Ser Ser Phe Ala Phe Lys Pro Leu Gly Glu Ser Ser Ser Ser 195 200 205		
Phe Phe Gly Ala Gly Ser Lys Met Asn Gln Ala Thr Phe Pro Gln Gln 210 215 220		
Ser Tyr His Arg Ile Glu Val Ser Val Gln Ser Glu Asn Ser Val Gln 225 230 235 240		
Ser Arg Asn Val Glu Ala Thr Lys Leu Gln Ser Gln Asn Gly Ser Gly 245 250 255		
Phe Gln Phe Gln Gly Asp Phe Ser Arg Ser Ser Ala Glu Asn Val Ala 260 265 270		
Gly His Asp Gly Val Pro Ala Asp Gln Arg Asn Phe Ser Thr Val Thr 275 280 285		
Gly Asp Pro Glu His Ser Pro Pro Leu Asp Glu Gln Gln Asp Asp Glu 290 295 300		
Gly Asp Gln Arg Ile Ser Gly Asp Ser Leu Val Gly Val Asn Gly Gly 305 310 315 320		
Ser Pro Ser Glu Asp Gly Tyr Asn Trp Arg Lys Tyr Gly Gln Lys Gln 325 330 335		
Val Lys Gly Ser Glu Tyr Pro Arg Ser Tyr Tyr Lys Cys Thr His Pro 340 345 350		
Ser Cys Gln Val Lys Lys Lys Val Glu Arg Ser His Glu Gly His Ile 355 360 365		
Thr Glu Ile Ile Tyr Lys Gly Ala His Asn His Pro Lys Pro Pro Pro 370 375 380		
Asn Arg Arg Ser Val Ile Gly Gly Ala Asn Pro Phe Gly Asp Met Gln		

385	390	395	400
Leu Asp Asn Pro Glu Gln Met Gly Leu Gln Asn Ala Thr Asp Thr Asp	405	410	415
Pro Ala Trp Ala Asn Met Gln Lys Thr Ala Gly Met Gly Gly Ser Glu	420	425	430
Trp Arg Gln Asp Asn Leu Glu Val Thr Ser Ser Pro Ser Asp Gly Pro	435	440	445
Glu Phe Ser Asn Ala Pro Thr Ser Leu Gln Ala Gln Asn Gly Gly Asn	450	455	460
Gln Leu Glu Ser Gly Asp Gln Val Asp Ala Ser Ser Thr Phe Ser Asn	465	470	475
Asp Glu Cys Asp Asp Glu Gln Gln Thr His Gly Ser Val Ser Leu Ala	485	490	495
Tyr Asp Gly Glu Glu Asp Glu Ser Asp Ser Lys Arg Arg Lys Ile Glu	500	505	510
Ala Tyr Ala Thr Asp Met Ser Gly Ala Ser Arg Ala Ile Arg Glu Pro	515	520	525
Arg Val Val Val Gln Thr Thr Ser Glu Val Asp Ile Leu Asp Asp Gly	530	535	540
Tyr Arg Trp Arg Lys Tyr Gly Gln Lys Val Val Lys Gly Asn Pro Asn	545	550	555
Pro Arg Ser Tyr Tyr Lys Cys Thr Ser Pro Gly Cys Thr Val Arg Lys	565	570	575
His Val Glu Arg Ala Ser His Asp Leu Lys Ser Val Ile Thr Thr Tyr	580	585	590
Glu Gly Lys His Asn His Asp Val Pro Ala Ala Arg Asn Ser Ser His	595	600	605
Val Asn Ser Gly Ala Ser Ser Ala Ile Pro Thr Gln Cys Thr Thr Ser	610	615	620
Ala Val Gln Thr Gln Val His Arg Pro Glu Pro Ser Gln Val His Ser	625	630	635
Met Met Gly Arg Tyr Glu Gly Pro Gly Ser Leu Gly Ser Phe Ser Leu	645	650	655
Pro Gly Arg Gln Gln Leu Gly Pro Gly Pro Gly Phe Ser Phe Ala Met	660	665	670
Asn Pro Pro Arg Leu Ala Asn Phe Ala Met Ala Gly Met Gly Pro Gly	675	680	685
Gln Gly Asn Leu Pro Met Leu Pro Val His Pro Phe Leu Ala Gln Gln			

690

695

700

His Gln Val His Glu Met Gly Phe Met Leu Pro Lys Gly Glu Pro Lys
705 710 715 720

Ala Glu Pro Met Ser Glu Pro Gly Pro Asn Leu Ser Asn Asn Ser Ser
725 730 735

Val Tyr Gln His Ile Met Ser Arg Leu Pro Leu Gly Pro Gln Met
740 745 750

<210> 7
<211> 252
<212> PRT
<213> *Eucalyptus camaldulensis*

<400> 7

Met Cys Pro Ile Asp Ser Gly Arg Ser Phe Asp Thr Ser Leu Ser Leu
1 5 10 15

Gly Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Pro Glu Asp His Glu Ile Lys Ile Lys
20 25 30

Lys Pro Leu Ala Lys Leu Ser Gly Asn Ser Thr Cys Leu Thr Ile Gly
35 40 45

Leu Pro Gly Gly Lys Ala Cys Gly Leu Gly Ser Ala Ser Gly Asp Glu
50 55 60

Val Arg Asn Ile Pro Ser Arg Ser Ala Ser Ser Phe Ser Asn Ser Ser
65 70 75 80

Ser Ala Lys Arg Glu Lys Ala Glu Gln Gly Glu Glu Glu Ala Val Glu
85 90 95

Arg Gly Thr Gly Ser Pro Arg Ala Thr Ile Asn Ile Glu Asp Glu Asp
100 105 110

Glu Phe Ser Pro Arg Lys Lys Leu Arg Leu Ser Lys Ala Gln Ser Ser
115 120 125

Ile Leu Glu Glu Ser Phe Lys Ala His Thr Thr Leu Asn Thr Lys Gln
130 135 140

Lys His Asp Leu Ala Asn Arg Leu Asn Leu Arg Pro Arg Gln Val Glu
145 150 155 160

Val Trp Phe Gln Asn Arg Arg Ala Arg Thr Lys Leu Lys Gln Thr Glu
165 170 175

Val Glu Cys Glu Met Leu Lys Lys Cys Cys Glu Thr Leu Lys Glu Glu
180 185 190

Asn Arg Arg Leu Lys Lys Glu Leu Gln Glu Leu Lys Ser Leu Lys Pro
195 200 205

Thr Ala Ser Val Tyr Arg Gln Ile Pro Ala Ala Ala Leu Pro Leu Cys
210 215 220

Pro Ser Cys Glu Arg Ile Ala His Pro Glu Phe Pro Phe Ser Thr Glu
225 230 235 240

Ser Arg Leu Trp Pro Ala His Pro Ser Ala Ala Cys
245 250

<210> 8
<211> 221
<212> PRT
<213> Eucalyptus camaldulensis

<400> 8

Met Lys Gly Glu Lys Lys Glu His Arg Lys Gly Leu Trp Thr Ala Glu
1 5 10 15

Glu Asp Arg Leu Leu Ala Asp Tyr Val Arg Val His Gly Lys Gly Lys
20 25 30

Trp Asn Arg Ile Pro Gln Met Thr Gly Leu Lys Arg Cys Gly Lys Ser
35 40 45

Cys Arg Leu Arg Trp Met Asn Tyr Leu Ser Pro Ser Val Lys Arg Gly
50 55 60

Asp Phe Ser Glu Glu Glu Asp Asp Leu Ile Ile Arg Leu His Asn Leu
65 70 75 80

Leu Gly Asn Arg Trp Ser Leu Ile Ala Gly Arg Val Pro Gly Arg Thr
85 90 95

Asp Asn Gln Val Lys Asn His Trp Asn Thr His Leu Ser Lys Arg Leu
100 105 110

Gly Phe Lys Lys Gly Asn Gly Arg Ala Asp Asp His Arg Pro Arg Thr
115 120 125

His Leu Lys Lys Glu Lys Glu Asn His Ala Met Val Leu Gly Ser Ser
130 135 140

Leu Glu Pro Pro Ser Ser Asp His Leu Glu Glu Thr Ala Arg Lys Ile
145 150 155 160

Thr Gly Asp Asp Lys Ser Ser Arg Gly Ala Leu Val Glu Cys Asp Ser
165 170 175

Ser Gln Gln Leu Ala Thr Pro Ser Asn Glu Phe Gln Asn Pro Phe Trp
180 185 190

Phe Phe Asn Ser Asp Leu Asn Leu Tyr Ser Pro Asp Phe Thr Asp Arg
195 200 205

Leu Gly Glu Tyr Thr Leu Asp Leu Val Ser Asp Gly Leu
210 215 220

REIVINDICAÇÕES

1. Planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual uma ou mais morfologias da planta selecionada a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e a altura é modificada:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NO: 5 a 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4.

2. Planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual a altura da planta é diminuída:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2.

3. Planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual morfologia de fibra em xilema da planta é modificada, e/ou uma quantidade de crescimento da planta é aumentada:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

5 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA
10 compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

4. Planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual a morfologia em xilema da planta é modificada, e/ou a morfologia da flor da planta é modificada:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;
15

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7; e
20

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

5. Planta transformada com um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, no qual a morfologia em xilema da planta é modificada, e/ou o número de folhas na planta é aumentado:
25

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;
30

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições

e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estringentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

5 6. Planta de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, no qual a planta é selecionada a partir do grupo consistindo em tabaco, eucalipto, álamo, pinho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, tulipa, rosa, cravo, orquídea, monstera, *Alocasta odora*, arroz, trigo, milho, soja e cana-de-açúcar.

10 7. Célula isolada a partir da planta como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 6.

8. Material de propagação da planta como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 6.

15 9. Órgão isolado a partir da planta como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 6.

10. Método de modificação de uma ou mais características de uma planta selecionada a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e a altura, o método compreendendo as etapas de:

20 (a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

25 (i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4;

30 (iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estringentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4.

5 11. Método de diminuir a altura de uma planta, o método compreendendo as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

10 no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6;

15 (ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6; e

20 (iv) um DNA que hibridiza sob condições estringentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2.

12. Método de aumentar uma quantidade de crescimento de uma planta, o método compreendendo as etapas de:

25 (a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

30 (i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da se-

seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

13. Método de modificar a morfologia da flor de uma planta, o método compreendendo as etapas de:

10 (a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

20 (iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7; e

25 (iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

14. Método de aumentar o número de folhas em uma planta, o método compreendendo as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor compreendendo o DNA; e

30 (b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i)

a (iv) abaixo:

(i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

5 (ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

10 (iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

15 15. Método de modificar a morfologia de fibra no xilema de uma planta, o método compreendendo as etapas de:

(a) introdução em uma célula de planta de um DNA ou um vetor
15 compreendendo o DNA; e

(b) regeneração de uma planta a partir da célula da planta a qual o DNA ou o vetor tenha sido introduzido na etapa (a);

no qual o DNA é selecionado a partir do grupo consistindo em (i) a (iv) abaixo:

20 (i) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(ii) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

25 (iii) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(iv) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

30 16. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 10 a 15, no qual a planta é selecionada a partir do grupo consistindo em tabaco, eucalipto, álamo, pinho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, tuli-

pa, rosa, cravo, orquídea, monstera, *Alocasta odora*, arroz, trigo, milho, soja e cana-de-açúcar.

17. Agente para modificação de uma ou mais morfologias de uma planta selecionada a partir do grupo consistindo em morfologia de flor, morfologia de folha, e a altura, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NOs: 5 a 8;

10 (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de qualquer uma de SEQ ID NO: 5 a 8; e

15 (d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de qualquer uma de SEQ ID NOs: 1 a 4.

18. Agente para diminuir a altura de uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6;

25 (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 5 ou 6; e

30 (d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 1 ou 2.

19. Agente para aumentar uma quantidade de crescimento de

uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

5 (a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

10 (c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

15 20. Agente para modificação da morfologia da flor de uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 7;

20 (b) um DNA compreendendo uma região de codificação da sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma sequência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 25 7; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a sequência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3.

30 21. Agente para aumentar o número de folhas em uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a se-

seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

22. Agente para modificação da morfologia de fibra no xilema de uma planta, no qual o agente compreende como um ingrediente ativo um DNA selecionado a partir do grupo consistindo em (a) a (d) abaixo, ou um vetor compreendendo o DNA:

(a) um DNA que codifica uma proteína compreendendo a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8;

(b) um DNA compreendendo uma região de codificação da seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4;

(c) um DNA que codifica uma proteína compreendendo uma seqüência de aminoácido com uma ou mais substituições, retiradas, adições e/ou inserções de aminoácido na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO: 7 ou 8; e

(d) um DNA que hibridiza sob condições estridentes a um DNA compreendendo a seqüência de nucleotídeo de SEQ ID NO: 3 ou 4.

23. Agente de acordo com qualquer uma das reivindicações 17 a 22, no qual a planta é selecionada a partir do grupo consistindo em tabaco, eucalipto, álamo, pinho, acácia, cedro japonês, cipreste japonês, abeto, tulipa, rosa, cravo, orquídea, monstera, *Alocasta odora*, arroz, trigo, milho, soja e cana-de-açúcar.

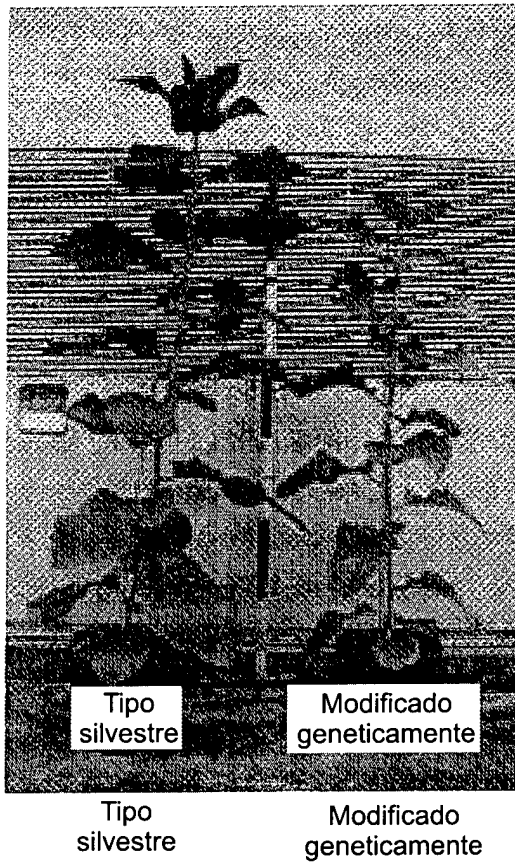


Tipo
silvestre

Modificado
genéticamente

FIG. 1

A



B

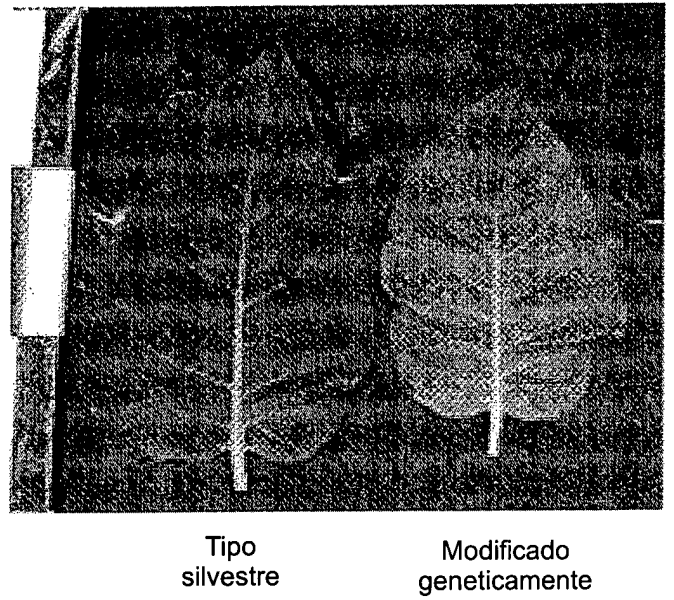


FIG. 2

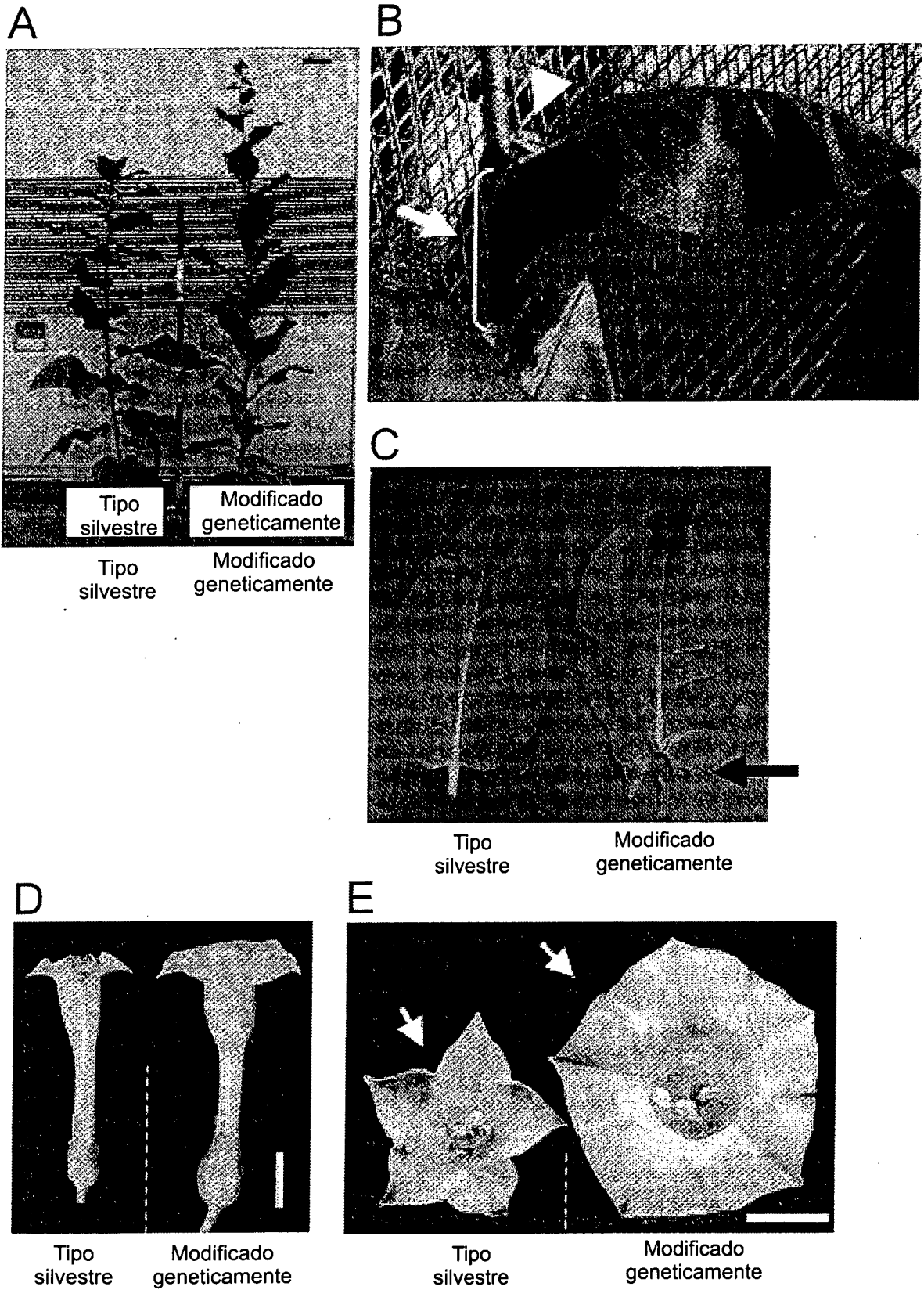
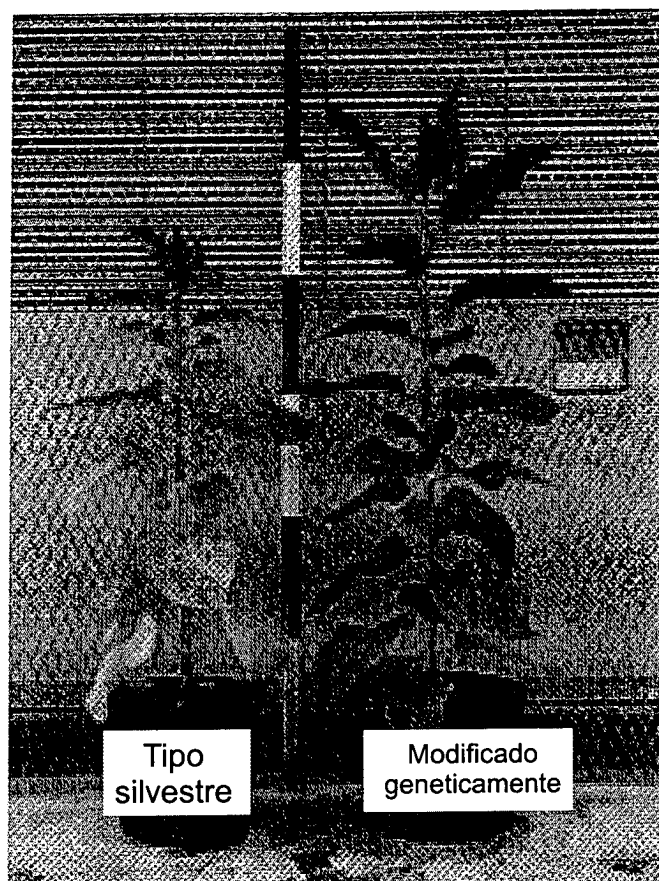


FIG. 3



Tipo
silvestre

Modificado
genéticamente

FIG. 4

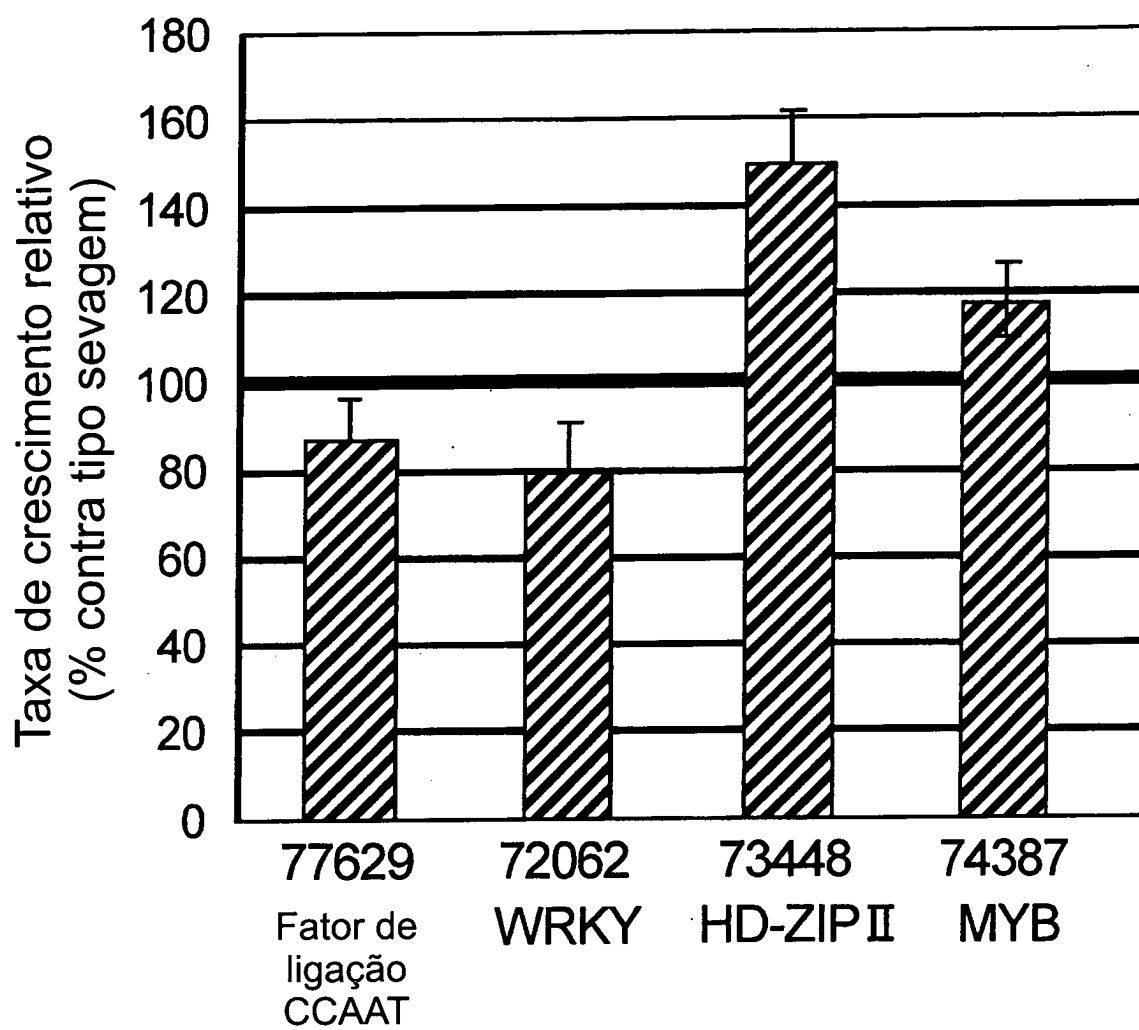


FIG. 5

Tipo
silvestre

Modificado
geneticamente

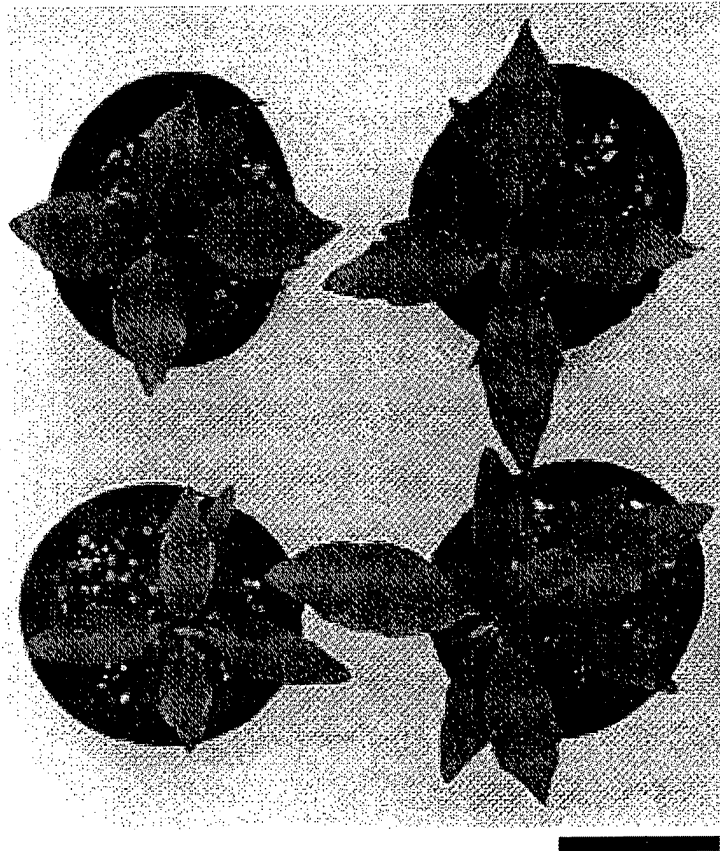


FIG. 6

Tipo
silvestre

Modificado
geneticamente



FIG. 7

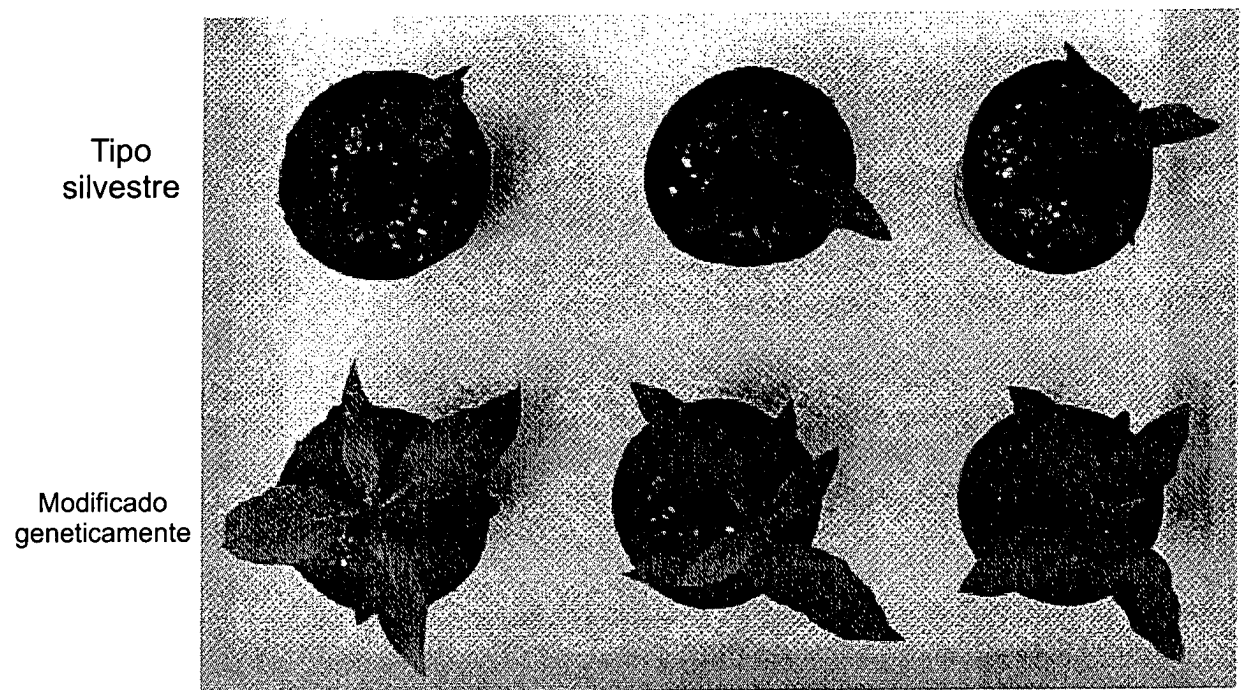


FIG. 8

Tipo
silvestre

Modificado
geneticamente

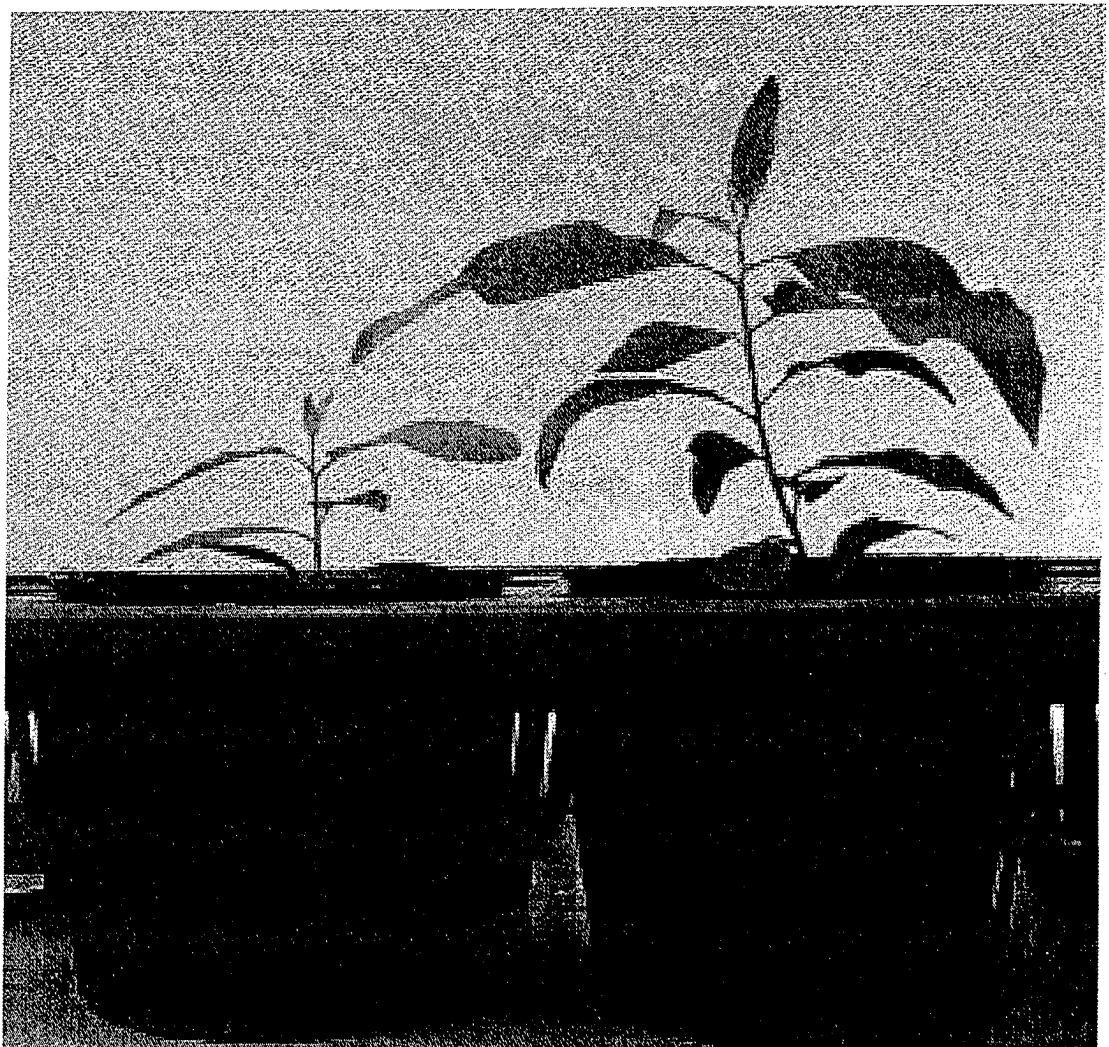


FIG. 9

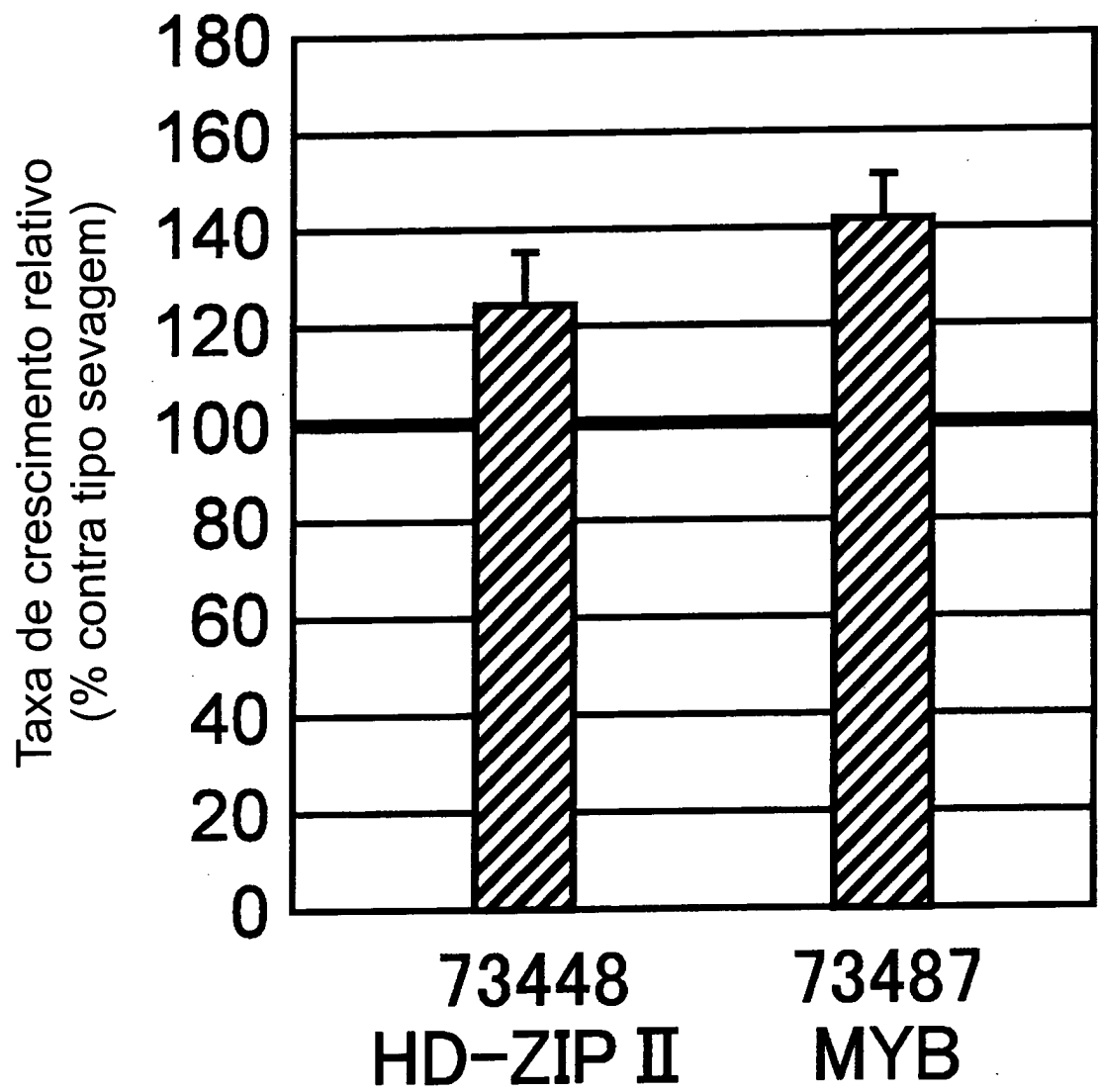


FIG. 10

RESUMO

Patente de Invenção: **"MÉTODOS PARA MODIFICAÇÃO DA MORFOLOGIA DA PLANTA"**.

A presente invenção refere-se a DNAs que codificam reguladores de xilogênese de planta e DNAs promotores destes, e objetiva proporcionar métodos de modificação de morfologia de planta, tais como morfologia de flor, morfologia de folha, e altura, pela expressão dos DNAs ectopicamente em órgãos diferentes. Os presentes inventores decidiram expressar ectopicamente reguladores transcricionais derivados de eucalipto que regulam a morfogênese de células de madeira, e analisar seus efeitos de modificação de órgãos em uma planta. Para analisar os efeitos de expressão ectópica, os presentes inventores introduziram promotores que podem acionar uma sobreexpressão constitutiva de gene em todos os órgãos de uma planta, e reguladores transcricionais de formação de xilema de eucalipto em tabaco e eucalipto; em seguida, eles analisaram os efeitos. Como um resultado, eles obtiveram sucesso na modificação de morfologia, tais como morfologia de flor, morfologia de folha, e altura. Desse modo, os presentes inventores descobriram que não somente a morfologia do xilema, mas também a morfologia do corpo da planta, pode ser modificada pela expressão ectópica do regulador transcricional de formação de xilema de eucalipto.