

FRANCIS JULIO FAGUNDES LOPES

**CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE UMA XILOGLUCANO
GALACTOSILTRANSFERASE DE *Eucalyptus grandis* E UMA RAMNOSE
SINTASE DE *Arabidopsis thaliana*: EFEITOS SOBRE A ESTRUTURA E
COMPOSIÇÃO DA PAREDE CELULAR PRIMÁRIA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de “Doctor Scientiae”

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008**

RESUMO

LOPES, Francis Julio Fagundes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2008. **Caracterização funcional de uma xiloglucano galactosiltransferase de *Eucalyptus grandis* e uma ramnose sintase de *Arabidopsis thaliana*: Efeitos sobre a estrutura e composição da parede celular primária.** Orientador: Marcelo Ehlers Loureiro. Co-orientadores: Andréa Miyasaka de Almeida, Sérgio Hermínio Brommonschenkel e Nairam Félix de Barros.

A parede celular vegetal tem sido associada a várias funções biológicas importantes. Ela delimita o corpo da planta, protegendo-o contra injúrias mecânicas, estresses bióticos e abióticos. Além disso, a parede celular determina a forma e as taxas de crescimento celular. Os principais constituintes da parede celular vegetal são: celulose, hemicelulose, pectina, lignina e proteínas, os quais variam de acordo com o tipo celular, idade e condições do ambiente.

Para avaliar o impacto de genes envolvidos no metabolismo da parede celular, uma estratégia comum consiste em super-expressar ou silenciar genes candidatos em plantas modelo ou na espécie de interesse. Em seguida, analisa-se a parede celular para se determinar o impacto da manipulação gênica sobre os constituintes da parede celular.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar funcionalmente genes de *Eucalyptus grandis* e *Arabidopsis thaliana* envolvidos no metabolismo de parede celular. No primeiro capítulo, a clonagem e a caracterização de um gene que codifica uma xiloglucano galactosiltransferase de *E. grandis* (*EgMUR3*) é descrita. O gene complementou a mutação *mur3* em *A. thaliana*, restaurando os padrões de fucosilação e galactosilação ausentes no mutante *mur3*. No segundo capítulo, mostrou-se que o gene *UER1*, que codifica uma enzima bifuncional (3, 5-epimerase e 4-ceto redutase), é requerido para o desenvolvimento normal dos grãos de pólen em *A. thaliana*. Como esse gene apresenta alta homologia de seqüência com os genes *RHM* (ramnose sintases), o conteúdo dos compostos pécticos foi investigado em grãos de pólen. Análises citoquímicas mostraram uma redução no conteúdo de compostos pécticos em grãos de pólen *uer1*. Grãos de pólen mutantes apresentam uma morfologia alterada e são inviáveis. Dois modelos são apresentados para se explicar o papel de *UER1* durante o desenvolvimento dos grãos de pólen em *A. thaliana*.

ABSTRACT

LOPES, Francis Julio Fagundes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2008. **Functional characterization of a xyloglucan galactosyltransferase of *Eucalyptus grandis* and a rhamnose synthase of *Arabidopsis thaliana*: Effects upon the structure and composition of the primary cell wall.** Adviser: Marcelo Ehlers Loureiro. Co-advisers: Andréa Miyasaka de Almeida, Sérgio Hermínio Brommonschenkel and Nairam Félix de Barros.

The plant cell wall has been associated with several important biological functions. It surrounds the plant, protecting it against mechanical injuries, biotic and abiotic stresses. In addition, plant cell walls determine cell shape and growth rates. The main constituents of plant cell walls are: cellulose, hemicellulose, pectine, lignin and proteins, which vary according to cell type, age and environmental conditions.

To evaluate the impact of genes involved in cell wall metabolism, a common strategy consists in overexpressing or silencing candidate genes in plant models or in the species of interest. Afterwards, a cell wall analysis is performed to determine the impact of the gene manipulation in the cell wall constituents.

The aim of this work was to functionally characterize genes from *Eucalyptus grandis* and *Arabidopsis thaliana* involved in cell wall metabolism. In the first chapter, the cloning and characterization of a xyloglucan galactosyltransferase gene of *E. grandis* (*EgMUR3*) is described. The gene successfully complemented the *mur3* mutation in *A. thaliana*, restoring the missing galactosylation and fucosylation in the xyloglucan component of *mur3* mutant. In the second chapter, the gene *UER1* encoding a bifunctional enzyme (3, 5-epimerase and 4-keto reductase) was shown to be required for the normal pollen grain development in *A. thaliana*. *UER1* exhibits high degree of homology with *RHM* (rhamnose synthase) genes, and therefore, the content of pectic compounds was investigated in pollen grains from *UER1/uer1* heterozygotes. Cytochemical analysis showed a reduction of pectic compounds in *uer1* pollen. Mutant pollens also exhibited an altered morphology and were unviable, suggesting that *UER1* plays an important role in pollen grain development in *A. thaliana*. Two models are proposed to explain why *uer1* mutant pollen grains become unviable during the pollen grain development in *A. thaliana*.