

LA CUTÍCULA VEGETAL: ESTRUCTURA Y FUNCIONES

A. HEREDIA¹, C.G. CASADO¹, L. LAGUNA¹, J.J. REINA¹, J.M. SERRANO¹ & E. DOMÍNGUEZ¹

«...*hi praeparunt posteris terram*»

LINNEO

RESUMEN

En el presente trabajo se lleva a cabo una revisión actualizada sobre la cutícula vegetal. Se describe la morfología, ultraestructura, composición química y principales propiedades físico-químicas haciendo especial énfasis en aquéllas que condicionan el papel fisiológico de la cutícula. Entre estas funciones fisiológicas se discuten los aspectos más importantes de la interacción de la membrana cuticular con insectos y patógenos tales como hongos y bacterias, el papel de la absorción y permeabilidad de agua y su comportamiento como barrera molecular protectora frente a contaminantes medioambientales.

Palabras clave: cutícula vegetal, cutina, ceras, contaminantes ambientales, permeancia.

ESTRUCTURA Y COMPOSICION DE LA CUTÍCULA VEGETAL

Como consecuencia de la evolución química y biológica, los organismos vivos han desarrollado una serie de estructuras de naturaleza polimérica que los aíslan y protegen del medio externo que les rodea. En los animales dicha función la llevan a cabo fundamentalmente proteínas especializadas, mientras que en las plantas superiores la función de aislamiento y protección de las partes aéreas, desde hace 400 millones de años, está asumida por la denominada cutícula vegetal o membrana cuticular.

La cutícula cubre la pared celular más externa de las células epidérmicas. En algunas especies, la pectina de la lamela subcuticular constituye una capa entre la pared celular y la cutícula. Esta capa puede ser degradada química o enzimáticamente, permitiendo de este modo el aislamiento de la membrana cuticular. A pesar de la heterogeneidad observada en la naturaleza química de las cutículas, se puede diferenciar una serie de capas que constituyen la totalidad de la membrana, estando cada una de ellas definida en función de su posición y composi-

ción química. Sin embargo, el número, grosor y demarcación de cada capa depende de la especie vegetal y del estadio de desarrollo en el que se encuentre la misma. De forma general, desde el interior al exterior, la membrana está constituida por la cutícula secundaria (capa cuticular o cutinizada), la cutícula primaria (capa cuticularizada o cutícula propiamente dicha) con ceras embebidas y, en la parte más externa, las ceras epicuticulares. La Figura 1 representa un esquema del corte transversal de un modelo de membrana cuticular donde pueden diferenciarse los distintos componentes básicos de la cutícula.

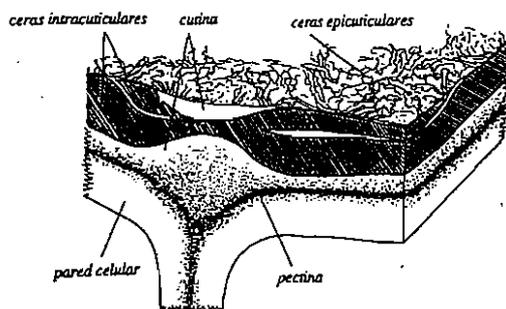


Fig. 1. Esquema de un corte transversal de una cutícula vegetal mostrando los principales componentes que la constituyen (según BUKOVAC *et al.*, 1981).

¹ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, 29071 Málaga.

HOLLOWAY (1982a) ha propuesto una clasificación de las cutículas vegetales basada en la taxonomía y en estudios realizados a nivel ultraestructural con microscopía electrónica de transmisión. Esta clasificación, revisada recientemente por JEFFRE (1996), comprende seis grandes tipos morfológicos de membranas cuticulares:

– Tipo 1. Región externa o cutícula primaria multilaminar y netamente separada de una cutícula secundaria principalmente reticulada (Hojas: *Clivia miniata*, *Libertia elegans*, *Agave americana*, *Iris germanica*,...).

– Tipo 2. Cutícula primaria laminar no claramente separada de una región interna reticulada en su mayor parte (Hojas: *Lactuca sativa*, *Hedera helix*, *Ficus elastica*, *Phaseolus vulgaris*,...).

– Tipo 3. Cutículas primaria y secundaria reticuladas en su mayor parte (Hojas: *Prunus persica*, *Malus pumila*, *Plantago major*,...).

– Tipo 4. Cutículas primaria y secundaria reticuladas (Hojas: *Avena fatua*, *Pinus sylvestris*,...; frutos: *Lycopersicon esculentum*, *Malus pumila*,...).

– Tipo 5. Cutículas primaria y secundaria laminares (Hojas: *Beta vulgaris*, *Taraxacum officinale*,...).

– Tipo 6. Membranas cuticulares en su mayor extensión amorfas (Hojas: *Vicia faba*, *Zea mays*, *Stellaria media*,...).

El grosor de la membrana cuticular varía entre 0.25 μm en tejidos vegetales jóvenes y varios milímetros en algunas plantas tropicales. Generalmente, la cutícula de hoja presenta un grosor que oscila entre 0.25 y 2 μm , mientras que el rango para la cutícula de frutos es 10 veces superior. En peso, de un modo general, la cutícula varía entre 20 y 600 $\mu\text{g cm}^{-2}$. No obstante, el grosor de la membrana cuticular no es constante sobre toda la superficie vegetal, suele ser más delgada sobre las paredes sinclinales de las células epidérmicas, a menudo, se proyecta entre las paredes anticlinales de dichas células. En algunos casos, la cutícula desarrollada en frutos maduros puede ser tan extensa que las células epidérmicas y algunas subyacentes quedan incrustadas en el polímero matriz (ESAU, 1977; HOLLOWAY, 1982b).

Las ceras cuticulares constituyen el primer componente básico de la membrana cuticular y pueden ser extraídas, con elevado rendimiento y escasa contaminación, usando disolventes orgánicos tales como cloroformo, metanol o mezclas de estos a temperatura ambiente. Sin embargo, las ceras incrustadas o embebidas en el polímero matriz necesitan condiciones más drásticas para su extracción. De este modo, convencionalmente, se distinguen las denominadas ceras epicuticulares de las intracuticulares, aunque tal y como algunos autores indican la distinción es meramente operacional (SCHÖNHERR & RIEDERER, 1989).

Desde el punto de vista de la composición química, las ceras cuticulares son normalmente una mezcla compleja de diversos tipos de compuestos alifáticos donde cada uno de ellos puede contener varias series homólogas de compuestos (Hamilton, 1996). La cantidad y tipo de los distintos componentes presentes en las ceras cuticulares es realmente amplia, pero una visión general sobre este punto puede obtenerse examinando la Tabla I.

El biopolímero cutina constituye el soporte estructural de la cutícula vegetal y es el componente básico de la membrana cuticular. Se trata de un polímero insoluble de estructura amorfa en el cual están incrustados y depositados materiales diversos. Desde un punto de vista químico, la cutina es un poliéster formado a partir de hidroxíácidos de cadena larga.

El análisis cuantitativo y cualitativo, llevado a cabo en un amplio número de cutículas de hojas y frutos, revela que los principales ácidos grasos que forman parte de la cutina son los recogidos en la Figura 2.

De este modo, puede hablarse de ácidos cutínicos pertenecientes a la familia C_{16} o a la familia C_{18} . Los productos de la despolimerización química y enzimática de la mayoría de cutinas están formados casi exclusivamente por ácidos grasos pertenecientes a la familia C_{16} en la cual el ácido 10,16-dihidroxihexadecanoico y su isómero posicional 9,16-dihidroxihexadecanoico constituyen los principales componentes. Sólo una pequeña fracción de las cutinas investigadas hasta el momento están formadas por ácidos grasos pertenecientes a la familia C_{18} (KOLATU-

TABLA I
PRINCIPALES COMPONENTES QUÍMICOS DE LAS CERAS CUTICULARES

Componente	Estructura general	Rango	Compuestos mayoritarios	Especies
Hidrocarburos	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$	C_{21} a C_{35}	C_{29} , C_{31}	Casi todas
Cetonas	R_1COR_2	C_{25} a C_{33}	C_{29} , C_{31}	<i>Brassica</i> , <i>Rosaceae</i> , <i>Leptochloa digitata</i>
Alcoholes secundarios	$\text{R}_1\text{CH}(\text{OH})\text{R}_2$	C_9 a C_{33}	C_{29} , C_{31}	<i>Pinum sativum</i> , <i>Brassica</i> , <i>Rosaceae</i> , <i>Malus</i>
β -dicetonas	$\text{R}_1\text{COCH}_2\text{COR}_2$	C_{27} a C_{33}	C_{29} , C_{31} , C_{33}	<i>Eucalyptus</i> , <i>Poa colenasia</i>
Monoésteres	R_1COOR_2	C_{30} a C_{60}	C_{44} , C_{46} , C_{48} , C_{50}	Casi todas
Poliésteres		M_p 800-1500		Gimnospermas
Alcoholes primarios	RCH_2OH	C_{12} a C_{36}	C_{26} , C_{28}	Casi todas
Aldehídos	RCHO	C_{14} a C_{34}	C_{26} , C_{28} , C_{30}	<i>Vitis</i> , <i>Malus</i>
Ácidos carboxílicos	RCOOH	C_{12} a C_{36}	C_{24} , C_{26} , C_{28}	Casi todas
Terpenos y esteroides			ácidos ursólico y oleanólico, betulina	<i>Vitis</i> , <i>Lycopersicon</i>

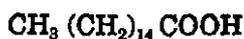
KUDY, 1996). Entre ellos, los ácidos 9,10-epoxi-18-hidroxiocetadecanoico y 9,10,18-trihidroxiocetadecanoico son los más abundantes, aunque algunos derivados insaturados pueden estar presentes como componentes minoritarios de algunas cutinas (Figura 2).

La información relativa a la estructura de la cutina es muy limitada y prácticamente relegada al análisis del grado de entrecruzamiento intermolecular que existe entre los monómeros que constituyen las cutinas del tipo C_{16} . Trabajos efectuados en esta dirección han demostrado que, mientras aproximadamente la mitad de los grupos

hidroxilo secundarios están involucrados en la formación del entrecruzado del polímero, la casi totalidad de los hidroxilos primarios están presentes formando enlaces tipo éster, indicando de este modo la práctica inexistencia de grupos ácido carboxílico libres.

Teniendo en cuenta el conjunto de investigaciones realizadas sobre la constitución química de cutinas de diversas especies, resulta evidente que la estructura intermolecular de la cutina no puede ser la misma en todas las especies ya que la formación del poliéster está gobernada, en última instancia, por el número y la posición de los

Familia C_{16}



Familia C_{18}

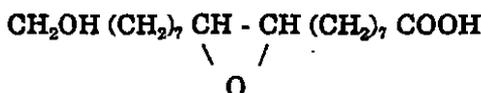
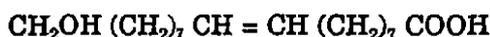


Fig. 2. Principales ácidos grasos de cadena larga constituyentes de la cutina de plantas superiores.

grupos funcionales esterificables. En este sentido es de destacar el trabajo de WILSON & STERLING (1976) quienes, utilizando técnicas de difracción de rayos X, establecieron que cutículas aisladas presentaban una estructura mayoritariamente amorfa. Más recientemente, LUQUE *et al.* (1995) han demostrado la presencia de cierto grado de ordenamiento a nivel estructural en cutinas purificadas de frutos de tomate.

Un aspecto importante y que, inequívocamente, tiene que influir en la estructura de la cutina, radica en el hecho de que cutinas obtenidas a partir de membranas cuticulares aisladas pueden presentar en mayor o menor proporción compuestos de naturaleza no lipídica tales como fenoles o polisacáridos. Ácidos fenólicos como los ácidos *p*- y *m*-cumárico y felúrico han sido identificados después de la despolimerización de diversas cutinas. Así, flavonoides como naringenina y quercitina, al igual que determinados taninos, han sido encontrados en cutinas de cutículas de frutos (HUNT & BAKER, 1980). Por otro lado, la existencia de componentes de naturaleza polisacárida, principalmente celulosa, en cutículas aisladas ha sido comprobada por varios autores (HOLLOWAY, 1982b). El modo de incorporación y el papel fisiológico de estos compuestos en la cutícula vegetal aún quedan por ser aclarados definitivamente.

Desde un punto de vista meramente operativo el conjunto de compuestos químicos anteriormente citados (fenoles libres, polisacáridos, flavonoides, taninos) suele denominarse compuestos hidrolizables, dado que son extraídos de las membranas cuticulares aisladas tras un reflujo a alta temperatura en medio fuertemente ácido. La proporción de estos compuestos hidrolizables es muy variable y depende, principalmente, de la naturaleza y del estadio de desarrollo de la especie investigada (BAKER *et al.*, 1982). Estos hechos pueden observarse en la Tabla II donde aparece resumida la proporción de ceras, cutina y compuestos hidrolizables de distintas cutículas de hojas y frutos.

A nivel estructural y morfológico la presencia de los denominados compuestos hidrolizables confiere a la cutícula vegetal las características de una membrana asimétrica. En este sentido, la presencia de material polisacárido localizado fundamentalmente en la parte interna de la cutícula le confiere a ésta una menor hidrofobicidad que la que presenta la superficie externa cubierta de ceras epicuticulares. Podría hablarse, pues, de una especie de gradiente de polaridad desde el interior al exterior de la membrana cuticular. Por otro lado, la existencia de determinados fenoles incrustados o enlazados en la cutina, le otorgan a ésta una moderada capacidad de intercambio

TABLA II
TANTO POR CIENTO DE PESO SECO POR UNIDAD DE AREA Y CANTIDAD, DE LOS DISTINTOS COMPONENTES DE DIFERENTES MEMBRANAS CUTICULARES AISLADAS DE FRUTOS Y HOJAS (RIEDERER & SCHÖNHERR, 1984)

Especie		Cutícula (mg cm ⁻²)	Ceras (%)	Cutina (%)	C.H.* (%)
<i>Capsicum annuum</i>	fr ^b	1971	10	61	29
<i>Lycopersicon esculentum</i>	fr ^b	2173	7	69	24
<i>Clivia miniata</i>	ad ^c	530	20	64	16
<i>Clivia miniata</i>	ab ^c	466	18	66	16
<i>Ficus elastica</i>	ad ^c	458	25	56	19
<i>Ficus elastica</i>	ab ^c	493	37	52	11
<i>Hedera helix</i>	ad ^c	450	19	60	21
<i>Hedera helix</i>	ab ^c	430	17	61	22
<i>Olea europaea</i>	ad ^c	836	29	50	21

* C.H.: compuestos hidrolizables.

^b cutícula aislada de frutos.

^c cutícula aislada de la parte adaxial (ad) y abaxial (ab) de la hoja.

iónico la cual fue puesta de manifiesto por primera vez por SCHÖNHERR & BUKOVAC (1973) y que ha sido fundamental para explicar la permeabilidad del agua y de diversos solutos e iones a través de cutículas aisladas de hojas y frutos (SCHÖNHERR, 1976; TYREE *et al.*, 1990; HEREDIA & BENAVENTE, 1991; MUÑOZ-BALLESTA, 1995).

Como se indicó al comienzo, la cutícula vegetal constituye una auténtica barrera química protectora que actúa como interfase entre la célula vegetal y el medio externo. Durante los últimos veinte años nuestro conocimiento acerca de las funciones y propiedades de la cutícula vegetal ha progresado notablemente pudiendo establecerse con bastante detalle, Tabla III, el cuadro de las funciones fisiológicas de la misma.

En los siguientes apartados se desarrollarán con mayor detalle algunas de las funciones más importantes de la cutícula.

UNA BARRERA A LA DIFUSION

Cutícula vegetal y agua

Existe la idea, ampliamente difundida, de que las cutículas cuanto más gruesas mayor resistencia ofrecen a la pérdida de agua. Sin embargo, esto es un error. La principal barrera a la difusión de agua y otros solutos en la cutícula la constituyen las ceras, tanto las localizadas en la superficie más externa, como las embebidas en la matriz de cutina. La extracción de estos compuestos con un disolvente orgánico, provoca un aumento de la capacidad de difusión de la cutícula del orden de 10 a más de 1.000 veces.

El hecho de que las ceras cuticulares constituyan la principal barrera limitante a la difusión de solutos a través de la cutícula se debe principal-

mente a la estructura molecular y composición química de las mismas. De acuerdo con el modelo propuesto por RIEDERER & SCHREIBER (1995), las ceras cuticulares consisten en tres zonas estructurales con distinto grado de ordenación y composición. Estas tres regiones son: una zona cristalina, una zona sólida amorfa y una zona de naturaleza amorfa. La zona cristalina es la principal responsable del transporte a través de las ceras. Esta fracción forma láminas en el seno de las ceras. Las cadenas alifáticas que forman dichas láminas no presentan todas la misma longitud, por lo que algunas no se acomodan totalmente en esta región y sobresalen por los extremos del cristal. Como consecuencia de esto aparece la antes denominada zona sólida amorfa que se define como la región comprendida entre dos láminas adyacentes de la zona cristalina. Los componentes de las ceras cuticulares que, bien por su bajo punto de fusión o por impedimentos estéricos (por ejemplo la presencia de compuestos cíclicos), no pueden incorporarse en la zona más ordenada, constituyen la denominada región amorfa. Esta zona puede ser, dependiendo de la temperatura, sólida o líquida, y podría rellenar los huecos existentes entre las zonas cristalinas, formando *clusters* o agregados moleculares alrededor de éstas.

Debido a esta disposición de las ceras a modo de mosaico, la difusión a través de ellas no es homogénea. Mientras que las zonas cristalinas son prácticamente inaccesibles al paso de moléculas de cualquier tamaño debido a la enorme rigidez de la estructura que impide cualquier movimiento, las zonas amorfas, localizadas en los huecos dejados por las anteriores, sí permiten el movimiento de compuestos, creando así un camino extremadamente tortuoso al paso de moléculas. Sólo las moléculas cuyo tamaño sea igual o menor que el

TABLA III
PRINCIPALES FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE LA CUTÍCULA

-
- Reducir la pérdida incontrolada de agua y solutos.
 - Constituir una barrera mecánica que impida la penetración de las hifas de hongos y el ataque de insectos.
 - Proteger los tejidos de posibles daños mecánicos.
 - Reflejar y atenuar la radiación ultravioleta.
 - Actuar como compartimento estanco de compuestos lipofílicos.
 - Actuar como medio de percepción, para insectos y microbios, de las señales químicas emitidas por la planta.
 - Actuar como hábitat para los microorganismos que viven en la superficie de las hojas (filosfera).
-

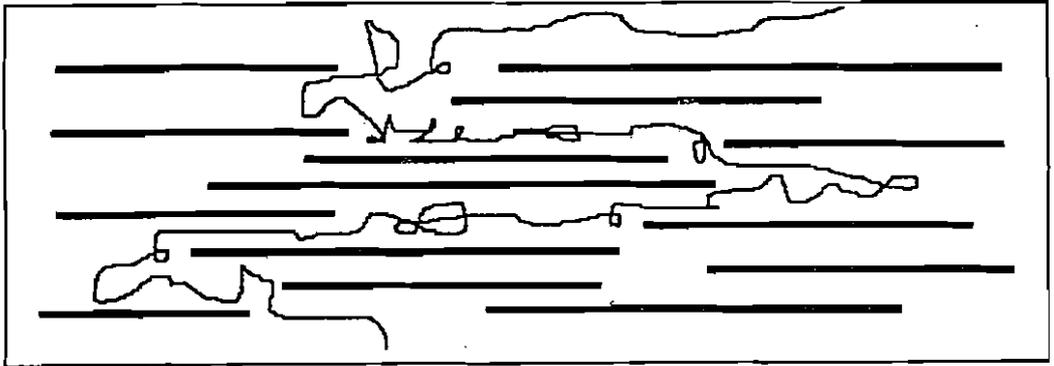


Fig. 3. Representación esquemática del proceso de difusión en las ceras cuticulares. La barrera de ceras consiste en láminas impermeables de zona cristalina que están embebidas en una matriz de material amorfo. Las láminas reducen el volumen permitido para la difusión y, por otro lado, hacen muy tortuosa la ruta de difusión a través de la barrera. Ambos factores disminuyen la difusión efectiva de un soluto que se mueva a través de las ceras.

huevo ocupado por las zonas amorfas mencionadas anteriormente, podrán atravesar la membrana cuticular. Esto implica una reducción del volumen donde se permite la difusión y un incremento drástico de la ruta de difusión (Figura 3), lo que afecta a la movilidad efectiva o coeficiente de difusión de una molécula a través de las ceras. Como consecuencia de todo esto, el camino real que una molécula, bien sea de agua o cualquier compuesto orgánico, tiene que atravesar, es mucho mayor que el grosor propio de la capa de ceras o la cutícula.

La cutícula es una barrera casi perfecta al paso del agua permitiendo a las plantas colonizar hábitats áridos y fríos donde la cantidad de agua disponible tanto en el suelo como en la atmósfera es muy reducida. Esta capa actúa como una membrana de disolución-difusión en la que la permeabilidad de un compuesto en la cutícula dependerá de su solubilidad y movilidad en la membrana. Se define la transpiración cuticular como la difusión existente en una hoja cuando los estomas están cerrados y cualquier pérdida a través de ellos es despreciable si se compara con la difusión en la cutícula. Si no está claro que haya una contribución de los estomas a la pérdida de agua se debe hablar de conductancia mínima. La pérdida de agua debida a la transpiración cuticular, aunque muy baja, podría ser importante para las plantas que habitan en sistemas muy estresados.

El estudio del movimiento del agua a través de la cutícula presenta una serie de inconvenientes, sobre todo a la hora de medir tasas de permeabilidad o transpiración. Estos problemas son, en primer lugar, la presencia de estomas en la cutícula, que obliga a utilizar cutículas libres de estomas (por ejemplo la superficie abaxial de algunas hojas). Sin embargo, esto no siempre es posible. Además, la presencia de estomas, no permite estudiar la dinámica del sistema *in vivo*, por lo que hay que aislar la cutícula del resto de la hoja. Otro inconveniente lo presentan las especies cuyas cutículas no se pueden aislar o se ven seriamente dañadas durante el tratamiento.

La permeabilidad de un sistema es un parámetro muy difícil de medir, por lo que generalmente se suele emplear la permeancia como un estimador cuantitativo del mismo. Los datos obtenidos de permeancia cuticular oscilan entre 0.1 y 100 10^{-5} $m s^{-1}$ según las especies estudiadas tal y como puede observarse en la Tabla IV, recogida de la revisión de KERSTIENS (1996).

Las cutículas vegetales, a pesar de ser estructuras fundamentalmente hidrofóbicas, son capaces de absorber hasta un 20% de su peso seco en agua. La mayor parte de este agua absorbida se asocia con los compuestos hidrolizables, principalmente celulosa, ya que su extracción hace que disminuya drásticamente la capacidad de absorción.

TABLA IV
VALORES DE PERMEANCIA CUTICULAR ($\times 10^{-5} \text{ m s}^{-1}$) DE DIVERSAS ESPECIES VEGETALES

Especie	Permeancia	Especie	Permeancia
<i>Abies alba</i>	14	<i>Lycopersicon esculentum</i>	52-55
<i>Avena sativa</i>	10	<i>Malus sylvestris</i>	8
<i>Beta vulgaris</i>	5	<i>Medicago sativa</i>	7
<i>Betula pubescens</i>	12	<i>Nerium oleander</i>	0.3-2.3
<i>Capicum annuum</i>	49	<i>Nicotiana tabacum</i>	67
<i>Citrus aurantium</i>	0.6	<i>Olea europaea</i>	5.5
<i>Citrus limon</i>	2	<i>Oryza sativa</i>	15-26
<i>Clivia miniata</i>	0.1-0.5	<i>Phaseolus vulgaris</i>	5
<i>Coffea arabica</i>	0.2	<i>Picea abies</i>	0.3-6.4
<i>Corylus avellana</i>	1.7-2	<i>Pinus sylvestris</i>	4.6-11
<i>Eucalyptus pauciflora</i>	8	<i>Populus tremula</i>	5
<i>Fagus sylvatica</i>	2.5-3.7	<i>Prunus laurocerasus</i>	0.6-1.7
<i>Ficus benjamina</i>	0.6	<i>Pyrus communis</i>	1.2-2.1
<i>Ficus elastica</i>	0.4	<i>Quercus alba</i>	7.4
<i>Faxinus excelsior</i>	4.8	<i>Quercus coccifera</i>	10
<i>Gingko biloba</i>	2.3	<i>Quercus ilex</i>	3.6
<i>Gossypium hirsutum</i>	5.6-15	<i>Quercus macrocarpa</i>	47
<i>Hedera helix</i>	0.3-0.6	<i>Quercus robur</i>	2.2-3
<i>Helianthus annuus</i>	8	<i>Sorghum bicolor</i>	8.6-9.7
<i>Hordeum vulgare</i>	10-23	<i>Tilia aestivum</i>	9.4-15
<i>Juglans regia</i>	2	<i>Zea mays</i>	4.8-8.9

En este sentido, se ha podido observar que la cantidad de agua presente en la cutícula afecta en algunos casos su permeabilidad al agua, aumentando con el contenido hídrico de la cutícula. Parece ser que los polisacáridos de la cutícula son los responsables de esta dependencia de la permeabilidad en la humedad. Podría ser que las microfibrillas de polisacáridos contribuyeran al transporte de agua a través de la membrana, proporcionando una ruta de transporte de capacidad limitada y paralela a la de las ceras. De esta forma, el cambio en el contenido hídrico de los polisacáridos afectaría al transporte a lo largo de las fibrillas creando, en última instancia, una dependencia de la permeabilidad en la humedad relativa. Para que esto ocurriera sería necesario que las fibrillas de celulosa llegaran hasta la superficie externa de la cutícula es decir, que no existiera cutícula propia. Aunque los datos a este respecto son todavía escasos, parecen confirmar esta hipótesis (KERSTEINS & LEDZIAN, 1989).

Recientemente, algunos autores han desarrollado una serie de correlaciones que permiten estimar la permeancia al agua de una cutícula

empleando un compuesto orgánico como sonda, eliminando así los problemas de estomas o imposibilidad de extracción de cutículas. En este sentido, SCHREIBER & RIEDERER (1996) basándose en el hecho de que la capa de ceras es la principal barrera al transporte a lo largo de la cutícula, han mostrado la existencia de una correlación entre la permeabilidad al agua de la cutícula y el coeficiente de difusión del ácido octadecanoico en las ceras aisladas. El hecho de que la difusión de moléculas de agua (pequeñas y polares) se correlacione con la difusión de un ácido orgánico como el octadecanoico (lipofílico y de mayor tamaño), indica que hay un solo camino de difusión que deben tomar todas las moléculas que quieran atravesar la cutícula. Este método permitirá estudiar las propiedades de transporte de toda la cutícula empleando tan sólo las ceras reconstituidas. Es importante en aquellos casos en los que no se puede aislar la cutícula o ésta presenta un gran número de estomas. Por otro lado, NIEDERL *et al.* (1998) han observado una correlación lineal entre la permeabilidad al agua de la cutícula y el transporte del ácido benzoico a lo largo de la misma. Con esta

metodología se puede estimar la transpiración cuticular al agua según su permeabilidad al ácido benzoico. Ya que este ácido no atraviesa los estomas y sólo entraría en la planta difundiendo en la cutícula, se puede así trabajar con cutículas con estomas y en hojas intactas. Es evidente que los progresos en la predicción de la movilidad de un determinado compuesto a través de la cutícula vegetal, conducirá en el futuro a una aplicación mejor y más racional de herbicidas, fungicidas y agentes emulsionantes.

Contaminantes medio ambientales

Por último, una función muy importante de la cutícula, aunque a menudo no tenida en cuenta, es su interacción con contaminantes atmosféricos, la mayoría de origen antropogénico. La cutícula se encuentra continuamente en contacto con compuestos tóxicos presentes en la atmósfera. Dichos contaminantes interactúan con la cutícula degradándola y afectando así seriamente su función de barrera protectora. Estos compuestos pueden dividirse en antropogénicos (SO_2 , NO_x , CO_2 , derivados fluorados y O_3 , principalmente), biogénicos (CO_2 , agua, etileno, isopreno, ...) y compuestos originados como consecuencia de la reducción biológica de contaminantes (H_2S a partir de SO_2 y NH_3 a partir de NO_x).

En la región de la cutícula en contacto con la atmósfera, hay una transición brusca desde un régimen turbulento, la atmósfera, a un régimen de difusión laminar donde se establece una resistencia a la deposición y circulación de compuestos químicos. Los contaminantes atmosféricos y otros gases quedan temporalmente confinados en esta interfase o capa límite, donde coexisten tres fases. Una primera fase líquida debida a la deposición de agua. Este agua moja la superficie cuticular externa de la hoja o fruto, pudiendo unirse a grupos polares de la cutina o formar agregados moleculares o *clusters* dentro de la cutícula. La segunda fase sería de naturaleza lipídica, y estará formada por las ceras cuticulares y la cutina. Por último, la tercera fase, fase gaseosa, se localiza *sensu stricto* justo en la zona de contacto entre la superficie cuticular y la atmósfera. En la Figura 4 se muestran con detalle estas tres fases y los principales compuestos que pueden encontrarse en cada una de ellas.

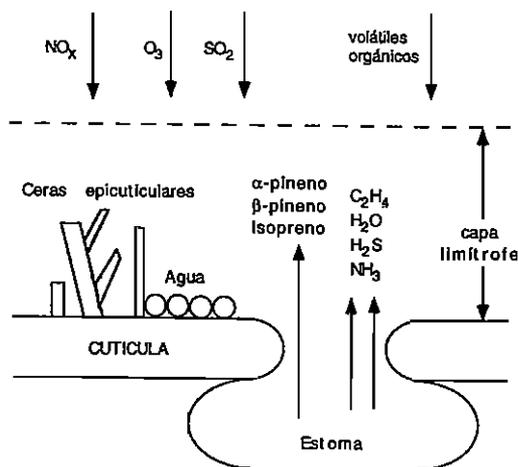


Fig. 4. Contaminantes atmosféricos tales como NO_x , O_3 , SO_2 y otros compuestos orgánicos de bajo peso molecular inciden directamente sobre la superficie cuticular donde la presencia de agua origina diversas reacciones químicas. Por otro lado, los estomas de las hojas son la estructura especializada en el intercambio y emisión de gases y volátiles orgánicos biogénicos (compuestos terpenoides), los cuales pueden también reaccionar con especies oxidantes en la fase gaseosa.

La fase líquida actúa principalmente facilitando el lavado hacia el interior de la planta de una gran variedad de contaminantes solubles en agua, aunque también puede ocurrir en ella la formación de nuevos compuestos químicos. Así, se ha descrito la formación de sales de amonio a partir de NH_3 y SO_2 , la formación de ácidos minerales fuertes y la formación de especies oxidantes muy reactivas como el peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo. La fase lipídica es un sumidero de microcontaminantes de naturaleza orgánica que se acumulan, fundamentalmente, en las ceras epicuticulares. En este sentido, se han descrito reacciones del ácido sulfúrico formado en la fase líquida con los grupos hidroxilo de los alcoholes primarios y secundarios de cadena larga presentes en las ceras epistomáticas de coníferas. También son importantes las reacciones de ozono con las parafinas de algunas ceras epicuticulares y la acumulación de óxidos de nitrógeno, NO_x , a nivel de la cutina de determinadas cutículas vegetales. A nivel epicuticular, la reacción de los óxidos de nitrógeno con las ceras produce en éstas una pérdida notable de su cris-

ralinidad lo cual modifica considerablemente su capacidad de retención de agua. Por último, en la fase gaseosa se ha podido observar la formación de oxidantes fuertes a partir de la producción de ozono por reacción de los óxidos de nitrógeno con oxígeno molecular atmosférico.

Todo esto muestra claramente que el estudio de la interacción de los contaminantes ambientales con la cutícula vegetal es de primordial importancia para entender cómo entran dichos compuestos en la planta, qué factores afectan la entrada (temperatura, humedad relativa...) y en qué estadio las plantas son más susceptibles. Además, la degradación de la cutícula no sólo facilita la entrada posterior de otros contaminantes sino también la invasión de las plantas por patógenos u otros organismos oportunistas. Una vez que estos compuestos han conseguido penetrar y degradar la cutícula, las condiciones para una ulterior modificación del metabolismo a nivel intracelular, están servidas.

Para una revisión más profunda de la relación cutícula vegetal-contaminantes ambientales, puede consultarse la monografía editada por PERCY *et al.* (1994).

UNA BARRERA A LA PENETRACION

La cutícula constituye además una barrera mecánica que impide, o al menos dificulta, la penetración de patógenos y el ataque de plagas de insectos. Generalmente, las cutículas más gruesas son más resistentes a la penetración de hongos o al ataque de insectos. Resulta lógico pensar que cuanto más gruesa sea la cutícula mayor dificultad tendrán estos organismos para romperlas. En este sentido, se ha podido observar que el grosor de la cutícula aumenta con la vida media de la hoja, obteniéndose así hojas más protegidas contra cualquier daño mecánico.

Interacción cutícula-patógeno

Los procesos que tienen lugar durante la interacción cutícula vegetal-hongo patógeno están mediados, en gran medida, por las características físico-químicas del biopolímero. Así, cuando las esporas de un hongo patógeno se posan en la superficie de una planta son dichas características las que determinan fundamentalmente su germinación y, por tanto, el comienzo del proceso de infección.

Algunos hongos disparan el proceso de germinación como respuesta a señales físicas específicas o como respuesta al reconocimiento de una topografía característica de la superficie foliar (STAPLES *et al.*, 1980). Otros hongos, sin embargo, germinan ante señales de naturaleza química es decir, ante el reconocimiento de componentes químicos específicos de la cutícula tales como los compuestos hidrolizables o determinados constituyentes de las ceras epicuticulares (PODILA *et al.*, 1993).

La heterogeneidad, tanto de la estructura y morfología de las cutículas como de su composición, hace suponer que las señales que perciben los hongos son muy abundantes y diversas. La existencia de tal variedad de señales dificulta el diseño de tratamientos preventivos de infecciones fúngicas, esto es, tratamientos que evitan o atenúan la germinación de las esporas. En este sentido es necesario enfatizar que el estudio, caracterización y conocimiento de la interacción cutícula-hongo es un aspecto importante previo al diseño de dichas estrategias preventivas.

Una vez que el hongo ha germinado, el siguiente paso en el proceso de infección es la penetración al interior de los tejidos vegetales. Muchos hongos patógenos penetran en las plantas a través de estomas, heridas o grietas presentes en la superficie de las plantas. Sin embargo, algunos hongos son capaces de infectar una planta atravesando la cutícula intacta. Dichos hongos excretan enzimas hidrolíticas entre los que destaca el enzima cutinasa. Este enzima es capaz de degradar la estructura polimérica de la cutina para así poder entrar en la planta. Esta actividad enzimática cutinasa, en realidad una actividad esterasa, parece ser necesaria para atravesar cutículas íntegras dado que se ha encontrado también en bacterias patógenas de plantas (BASHAN *et al.*, 1985). Se ha demostrado que la adhesión de las esporas de ciertos hongos a la superficie de las hojas depende de la presencia de la mencionada actividad cutin-esterasa (DEISING *et al.*, 1992).

Por último, puede destacarse que los tubos de germinación y las hifas de los hongos deben adherirse fuertemente a la superficie de la planta

para no ser arrastrados por el viento o la lluvia. Para llevar a cabo este proceso de adhesión algunos hongos sintetizan y excretan unas pequeñas proteínas denominadas hidrofobinas (WÖSTEN *et al.*, 1993). Los dominios hidrofóbicos de esta proteína median en la unión cutícula-hongo. Esta unión depende en parte de su arquitectura superficial y de las características químicas de la cutícula tales como, por ejemplo, su hidrofobicidad.

Interacción cutícula-insecto

Las ceras influyen en las interacciones entre los insectos y las plantas, ya que determinan la morfología y propiedades del «terreno de juego» donde los insectos fitófagos y entomófagos interactúan entre ellos y con la planta.

Tal y como se discutió anteriormente, los principales compuestos de las ceras forman, con frecuencia, cristales en la superficie de las plantas. Estos cristales interfieren en la unión del insecto a la planta, haciéndola más resbaladiza para el insecto, que apenas puede desplazarse por ella. Se ha podido observar que plantas con una gran densidad de cristales no se ven atacadas por determinadas plagas de insectos, mientras que las que tienen una menor superficie cristalina de ceras, sí. La eliminación mecánica de dichos cristales hace a la planta susceptible al ataque de insectos. La elevada cristalinidad que presentan las ceras de algunas plantas como *Eucalyptus* o *Brassica*, podría entenderse entonces como un mecanismo de defensa de la planta frente a herbívoros. Curiosamente, se ha podido observar variaciones en la cristalinidad de las ceras dentro de las poblaciones naturales de varias especies. Dicha variación influye en la interacción de insectos con estas plantas, contribuyendo a la variabilidad intraespecífica en la resistencia a determinadas plagas. En cuanto a los predadores, trabajos experimentales han demostrado que también se ven afectados por la presencia de cristales en las ceras. Los predadores son más móviles y efectivos en la reducción de plagas en plantas carentes o con poca densidad de ceras cristalinas (EINGENBRODE, 1996).

La densidad, composición y morfología de los cristales de cera, son los factores que influyen cuantitativamente en la adhesión del insecto a la

superficie de la planta. En ausencia de cristales, dependerá de las fuerzas moleculares de adhesión que se establezcan entre la cutícula del insecto y la de la planta.

Algunos componentes de las ceras tienen una función aleloquímica, actuando como señales químicas. Estas funciones pueden ser fungicidas, repelentes de insectos, estimulantes de la ovoposición, sustancias antimicrobianas o señales de reconocimiento. En la superficie de las ceras hay, además, cantidades pequeñas pero importantes de azúcares, volátiles, aminoácidos y compuestos polares que también pueden intervenir en dichas funciones. Aunque algunas de estas sustancias pueden ser exudadas por los tricomas glandulares, la mayoría son extruidas a través de la cutícula y depositadas en el exterior, donde se mezclan con las ceras y modifican las propiedades de barrera de la misma.

Estudios llevados a cabo con componentes aislados de las ceras han demostrado que estos lípidos tienen actividad aleloquímica *per se*. Generalmente, los compuestos más comunes estimulan la interacción con el insecto, mientras que los menos frecuentes (ácidos grasos de cadena corta, triterpenoides...) suelen actuar como repelentes, estando presentes en algunos casos, en cantidades de hasta un 50% (BALSDON *et al.*, 1995). En el caso de los compuestos que interaccionan positivamente con el insecto, se ha podido demostrar que tienen un efecto sinérgico interaccionando con otros compuestos secundarios específicos. De esta forma se refuerza la intensidad de la respuesta.

Por último, hay que destacar, como hecho curioso, la habilidad de algunos herbívoros de alterar los hidrocarburos de su cutícula en función de la dieta (ESPELIE & BERNAIS, 1989). Teniendo en cuenta que sus predadores y/o parásitos los identifican por sus hidrocarburos cuticulares, estos insectos son capaces de mimetizar químicamente la superficie de la planta como mecanismo de defensa.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Nuestro conocimiento actual de la cutícula vegetal es bastante reciente. Aspectos estructurales y funcionales de la misma han sido investigados en

los últimos veinte años. Sin embargo, todavía es necesaria una mayor investigación en algunos puntos concretos. Así, nuestro conocimiento sobre la composición de las ceras cuticulares de plantas está limitado sólo al 0.2% de las plantas existentes en nuestro planeta. Es obvio que se necesitan algunos años más de estudio sobre este tema para poder establecer conclusiones más definitivas sobre la composición, estructura y propiedades de transporte de las ceras que cubren la parte más externa de la membrana cuticular.

Es necesario, por otro lado, avanzar en el conocimiento de las propiedades físico-químicas de la cutina vegetal. Las propiedades térmicas de este biopolímero han de ser investigadas en mayor detalle y, en especial, su relación con la función fisiológica de la cutícula.

La relación agua-cutícula vegetal está aún lejos de conocerse totalmente. La absorción de agua por los distintos componentes cuticulares es importante puesto que la cantidad de los mismos puede estar en relación con la fisiología y funciones de la cutícula. En este sentido, parece ser que

la interacción de agua con cutículas de plantas angiospermas y gimnospermas es distinta desde un punto de vista cualitativo y cuantitativo. Es necesaria una mayor investigación en este campo. Por último, aspectos revisados en este trabajo sobre la interacción de la cutícula con los contaminantes medioambientales y xenobióticos en general constituyen un amplio campo de trabajo futuro, donde la investigación básica sobre la estructura y propiedades de la cutícula vegetal ha de estar en estrecha colaboración con fisiólogos vegetales, fitopatólogos, físicos de la atmósfera e ingenieros de disciplinas medio ambientales. Ello ayudará a mejorar nuestro conocimiento actual de este fascinante y único biopolímero.

AGRADECIMIENTOS

Esta revisión sobre la cutícula vegetal ha sido posible gracias a la financiación parcial del Ministerio de Educación y Ciencia durante los últimos años (proyectos PB91-0678, PTR91-0003 y PB94-1492 y PTR94-0068) que ha permitido el estudio, puesta al día e investigación sobre aspectos concretos de este tema.

SUMMARY

In this work some of the most important and recent papers concerning the plant cuticle are reviewed. A brief description of its morphology, ultrastructure, chemical composition and relevant physico-chemical properties is presented. The physiological functions of the plant cuticle are also discussed, stressing aspects as the interaction with insects and pathogens, the water sorption and uptake and the interaction with air pollutants and xenobiotics.

Key Words: plant cuticle, cutin, waxes, pollutants, permeance.

BIBLIOGRAFIA

- BAKER E.A., BUKOVAC M.J. & HUNT G.M. 1982: «Composition of tomato fruit cuticle as related to fruit growth and development». En: *The plant cuticle*, pp. 33-44. CUTLER D.F., ALVIN K.L. & PRICE C.E., eds. Academic Press, Londres.
- BASHAN Y., OKON Y. & HENIS Y. 1985: «Detection of cutinases and pectic enzymes during infection of tomato by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*». *Phytopathology* 75: 940-945.
- BUKOVAC M.J., RASMUSSEN H.P. & SHULL V.E. 1981: «The cuticle: surface structure and function». En: *Scanning electron microscopy 1981/III*, pp. 213-223. JOHARI O., ed. SEM Inc., AMF O'Hare, Chicago.

- BALSDON J.A., ESPELIE K.E. & BRAMAN S.K. 1995: «Epicuticular lipids from azalea (*Rhododendron* spp.) and their potential role in host plant acceptance by azalea lace bug *Stephanitis pyrioides* (Heteroptera: Tingidae)». *Biochem. Syst. Ecol.* 23: 477-485.
- DEISING H., NICHOLSON R.L., HAUG M., HOWARD R.J. & MENDGEN K. 1992: «Adhesion pad formation and the involvement of cutinase and esterases in the attachment of Uredospores to the host cuticle». *The Plant Cell* 4: 1101-1111.
- EIGENBRODE S.D. 1996: «Plant surface waxes and insect behaviour». En: *Plant cuticles, an integrated functional approach*, pp. 201-221. KERSTIENS G. ed. Bios Scientific Publishers, Oxford.
- ESAU K. 1977: *Anatomy of seed plants*. 2ed. John Wiley & Sons, Nueva York.
- ESPELIE K.E. & BERNAYS E.A. 1989: «Diet-related differences in the cuticular lipids of *Manduca sexta* larvae». *J. Chem. Ecol.* 15: 2003-2017.
- HEREDIA A. & BENAVENTE J. 1991: «A study of membrane potential across isolated fruit cuticles for NaCl and CaCl₂ solutions». *Biochim. Biophys. Acta* 1062: 239-244.
- HAMILTON R.J. 1996: *Waxes: chemistry molecular biology and functions*. The Oily Press, Dundee.
- HOLLOWAY P.J. 1982a: «Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview». En: *The plant cuticle*, pp. 1-32. CUTLER D.F., ALVIN K.L. & PRICE C.E., eds. Academic Press, Londres.
- HOLLOWAY P.J. 1982b: «The chemical constitution of plant cuticles». En: *The plant cuticle*, pp. 45-86. CUTLER D.F., ALVIN K.L. & PRICE C.E., eds. Academic Press, Londres.
- HUNT G.M. & BAKER E.A. 1980: «Phenolic constituents of tomato fruit cuticles». *Phytochemistry* 19: 1415-1419.
- JEFFREE C.E. 1996: «Structure and ontogeny of plant cuticles». En: *Plant cuticles*, pp. 33-82. KERSTIENS G., ed. BIOS, Guildford, Reino Unido.
- KERSTIENS G. 1996: «Cuticular water permeability and its physiological significance». *Journal Experimental of Botany*, 47: 1813-1832.
- KERSTIENS G. & LEDZIAN K.J. 1989: Interactions between ozone and plant cuticles. *New Phytologist*, 112: 21-27.
- KOLATTUKUDY P.E. 1996: «Biosynthetic pathways of cutin and waxes, and their sensibility to environmental stresses». En: *Plant cuticles*, pp. 83-108. KERSTIENS G., ed. BIOS, Guildford, Reino Unido.
- LUQUE P., BRUQUE S. & HEREDIA A. 1995: «Water permeability of isolated cuticular membranes: a structural analysis». *Arch. Biochem. Biophys.* 317: 417-422.
- MUÑOZ-BALLESTA A. 1995: *Caracterización electrocinética de la membrana cuticular aislada de fruto de pimiento* (*Capsicum annuum* L.). Tesis doctoral. Universidad de Málaga.
- NIEDERL S., KIRSCH T., RIEDERER M. & SCHREIBER L. 1998: «Co-permeability of ³H-labeled water and ¹⁴C-labeled organic across isolated plant cuticles». *Plant Physiol.* 116: 117-123.
- PERCY K.E., CAPE J.N., JAGELS R. & SIMPSON C.J. 1994: *Air pollutants and the leaf cuticle*. NATO ASI Series. Springer-Verlag, Berlín.
- PODILA G.K., ROGERS L.M. & KOLATTUKUDY P.E. 1993: «Chemical signals from avocado surface wax trigger germination and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*». *Plant Physiol.* 103: 267-272.
- RIEDERER M. & SCHÖNHERR J. 1984: «Accumulation and transport of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in plant cuticles: I. Sorption in the cuticular membrane and its component». *Ecotoxicol. Environ. Safety* 8: 236-247.

- RIEDERER M. & SCHREIBER L. 1995: Waxes: «The transport barriers of plant cuticles». En: *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*, pp. 131-156. HAMILTON R.D., ed. The Oily Press, Dundee.
- SCHÖNHERR J. 1976: «Water permeability of isolated cuticular membranes: the effect of pH and cations on diffusion, hydrodynamic permeability and size of polar pores in the cutin matrix». *Planta* 128: 113-126.
- SCHÖNHERR J. & BUKOVAC M.J. 1973: «Ion exchange properties of isolated tomato fruit cuticular membrane: Exchange capacity, nature of fixed charges and cation selectivity». *Planta* 109: 73-93.
- SCHÖNHERR J. & RIEDERER M. 1989: «Foliar penetration and accumulation of organic chemicals in plant cuticles». *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 108: 1-70.
- SCHREIBER L. & RIEDERER M. 1996: «Determination of diffusion coefficients of octadecanoic acid in isolated cuticular waxes and their relationship to cuticular water permeabilities». *Plant, Cell Environ.* 19: 1075-1082.
- STAPLES R.C. & MACKO V. 1980: «Formation of infection structures as a recognition response in fungi». *Exp. Mycol* 4: 2-16.
- TYRBE M.T., SCHERBATSKOY T.D. & TABOR C.A. 1990: «Leaf cuticles behave as asymmetric membranes. Evidence from the measurement of diffusion potentials». *Plant Physiol.* 92: 103-111.
- WILSON L.A. & STERLING C. 1976: «Studies on the cuticle of tomato fruit. I. Fine structure of the cuticle». *Z. Pflanzenphysiol.* 77: 359-371.
- WÖSTEN H.A., DE VRIES O.M.H. & WESSELS J.G.H. 1993: «Interfacial self-assembly of a fungal hydrophobin into a hydrophobic rodlet layer». *The Plant Cell* 5: 1567-1574.