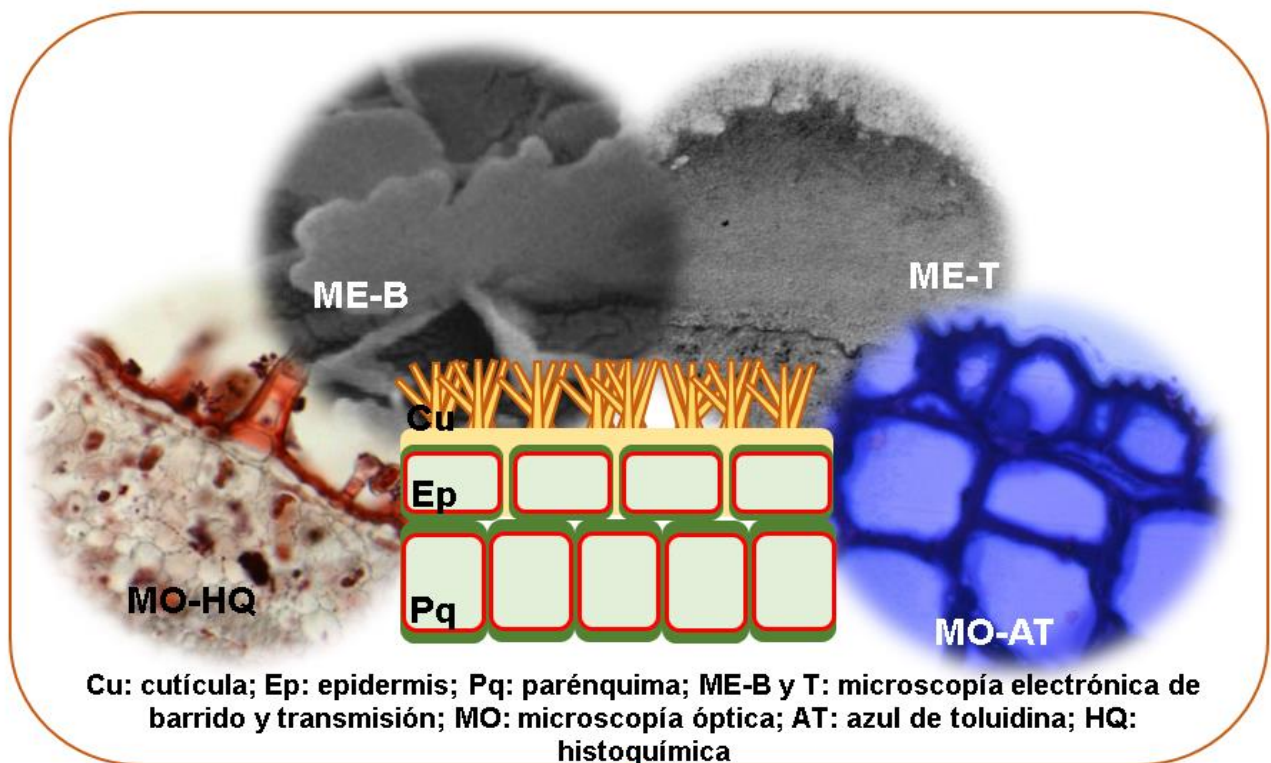


LA CUTÍCULA VEGETAL, ESTRUCTURA SINGULAR Y ESPECIALIZADA. ASPECTOS COMUNES Y CASO CONCRETO EN LOS FRUTOS CARNOSOS

Plant Cuticle, Singular and Specialized Structure. Common Aspects and a Specific Case in Fleshy Fruits



Trabajo de Fin de Grado
NAYARA MARÍA REYES GÓMEZ
Tutora: Dra. María del Carmen Alfayate Casañas
Grado en Biología. Junio 2022.

ÍNDICE

RESUMEN/ABSTRACT.....	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. OBJETIVOS	6
3. METODOLOGÍA	6
4. RESULTADOS.....	7
4.1 Estructura y composición de la cutícula vegetal.....	7
4.2 Biosíntesis de la cutícula vegetal.....	8
4.3 Propiedades de la cutícula vegetal.....	12
4.3.1 Propiedad hídrica	12
4.3.2 Propiedad térmica.....	12
4.3.3 Propiedad mecánica	13
4.4 Funciones de la cutícula vegetal	13
4.5 La cutícula en los frutos carnosos.....	15
4.5.1 Estructura y composición de la cutícula en los frutos	15
4.5.2 Características de la cutícula en diferentes estados de desarrollo del fruto.....	15
4.5.3 Características de la cutícula en cítricos, manzana, tomate y mango	16
a. Cítricos (<i>Citrus sp.</i> ; familia Rutaceae).....	16
b. Manzana (<i>Malus domestica</i> ; familia Rosaceae).....	17
c. Tomate (<i>Solanum lycopersicon</i> ; familia Solanaceae).....	17
d. Mango (<i>Mangifera indica</i> ; familia Anacardiaceae).....	17
4.5.4 Genes implicados en la biosíntesis de la cutícula en cítricos, manzanas, tomates y mangos.....	18
a. Genes en los cítricos.....	18
b. Genes en la manzana.....	19
c. Genes en el tomate	20
d. Genes en el mango	21
4.5.5 Bioactividad y utilización de la cutícula de los frutos	22
5. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS	23
6. BIBLIOGRAFÍA	24



RESUMEN

La cutícula vegetal es una estructura lipídica que surge en la época del origen de las plantas terrestres, para protegerse de diversos problemas como la desecación o las altas temperaturas. Se localiza externamente en las partes aéreas no leñosas, y es capaz de cumplir numerosas funciones relacionadas con las propiedades que presenta, como participar en la transpiración en los vegetales y el transporte de gases y solutos, mitigar la sorción de la luz ultravioleta o interactuar con el medio que les rodea. La cutícula ostenta una ultraestructura cambiante, basada en factores ambientales, genéticos o fisiológicos, aunque sus componentes principales son: cutina, ceras cuticulares y polímeros lipofílicos. El papel de la cutícula es fundamental en los frutos carnosos, ya que les rodea de manera hidrofóbica y gracias a sus características, muestra influencia en aspectos relacionados con el desarrollo de estos y su potencial de almacenamiento. En este trabajo de revisión, se abordarán las características generales de la cutícula, composición, aspectos y biosíntesis, y además, se describirá la importancia en los frutos carnosos, su diversidad y el provecho que puede aportar el conocimiento de ella para el ser humano, el sector agroindustrial y económico.

Palabras clave: Cutícula vegetal, cutina, ceras, biosíntesis, genes, funciones, frutos carnosos

ABSTRACT

The plant cuticle is a lipid structure that arises at the origin of land plants, to protect themselves from various problems such as desiccation or high temperatures. It's located externally in the non-woody aerial parts, can fulfill numerous functions related to the properties it presents, such as participating in transpiration in plants and the transport of gases and solutes, mitigating the sorption of ultraviolet light or interacting with the environment around them. The cuticle presents a changing ultrastructure, based on environmental, genetic or physiological factors, although its main components are: cutin, cuticular waxes and lipophilic polymers. The role of the cuticle is essential in fleshy fruits, since it surrounds them hydrophobically and, thanks to its characteristics, there are influential aspects related to their development and their storage potential. In this review work, the general characteristics of the cuticle, composition, aspects and biosynthesis will be addressed, and in addition, the importance in the fleshy fruits, their diversity and the benefits that knowledge of it can bring for the human being, the agro-industrial and economic sector will be described.

Keywords: plant cuticle, cutin, wax, biosynthesis, genes, function, fleshy fruits

1. INTRODUCCIÓN

En un mundo rodeado por una vasta extensión de aire gaseoso y donde el agua se evapora de las fuentes acuosas a su entorno, para las células, que contienen agua como componente esencial, supuso un importante desafío. La evolución de plantas terrestres, capaces de crecer hacia arriba en la atmósfera seca, cambió profundamente la Tierra (Brodribb *et al.*, 2020). En este gran paso, tuvieron la necesidad de protegerse contra las altas temperaturas, la desecación o una exposición prolongada de radiación dañina, entre otros (Waters, 2003; Leliaert *et al.*, 2011), por lo que, surgieron unas estructuras hidrofóbicas: cutícula, lignina, suberina y esporopolenina, que intentaban reducir estos problemas, además de ayudar a su reproducción y dispersión (Reynoud *et al.*, 2021).

Las plantas, tras haber sufrido una transformación química y biológica, crearon una estructura extracelular que las preserva y aísla del medio externo que les rodea (López Casado, 2006). Esta estructura, localizada en las partes aéreas (tallos, hojas, flores, frutos, caulidios, setas, ...), se trata de “una capa lipídica”, denominada la cutícula (Pighin *et al.*, 2004; Cameron *et al.*, 2006; Jeffree, 2006). Su biosíntesis ocurrió con el origen de las plantas terrestres, hace unos 450 millones de años, en la era paleozoica, tras la colonización terrestre de un grupo de algas verdes, respaldado por la presencia de cutícula en fósiles de plantas (Niklas, 1976; Edwards *et al.*, 1996). Kong *et al.* (2020) señalaron que la maquinaria de síntesis se adquirió gradualmente y se expandió entre los linajes de las plantas.

El concepto de cutícula vegetal ha cambiado con el tiempo, la primera mención en el mundo fitológico, fue dada por Grew (1672) y Malpihi (1675), refiriéndose a la zona externa de los órganos vegetales, tal como comentó Fernández *et al.* (2016). Datos ulteriores la relatan como una capa extracelular de lípidos depositada encima de las paredes celulares y sin conexión con ellas. Posteriormente, se reconoce la existencia de celulosa e interconexión con las paredes, y en la actualidad, se describe como un biopolímero compuesto, anisotrópico y heterogéneamente distribuido (Jeffree, 2006; Domínguez *et al.*, 2017). En sí, la cutícula es sintetizada por las células epidérmicas (Bargel *et al.*, 2006; Yeats *et al.*, 2010), y es capaz de ser diferente entre los distintos órganos que tiene la planta, el estado de desarrollo e incluso entre las propias especies (Tafolla-Arellano *et al.*, 2013), pero en general, está formada por componentes lipofílicos.

La cutícula supuso un cambio en la evolución de las especies y se dispuso en las estirpes que poblaron la Tierra, desde los briófitos hasta los espermatófitos (Budke *et al.*, 2012). Las

investigaciones en este tema han permitido mostrar características distintivas para dicha estructura en numerosos organismos, como por ejemplo en: musgos (*Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp; Funariaceae), en plantas herbáceas (*Arabidopsis thaliana* L.; Brassicaceae), en plantas con valor comercial, como las hojas del árbol del té (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze; Theaceae) o en los frutos carnosos (Fig. 1).

Los musgos presentaban esta adaptación (presencia de cutícula) con el fin de obtener la mayor cantidad de agua posible y protegerse de la radiación ultravioleta (UV). En cuanto a la absorción del agua, existen diferentes métodos dependiendo de las especies de musgos; así las endohídricas, tienen como finalidad presentar mayor difusión de CO₂ en las hojas, por lo que tienen unas cutículas que son capaces de reducir la absorción de agua. En cambio, las ectohídricas, buscan hidratarse con el agua que se encuentra en el medio externo, y no presentan una cutícula con excesivo grosor, que provoque que el agua se pierda (Villamil *et al.*, 2019).

En *A. thaliana*, la cutícula es diferente dependiendo de los órganos de la planta (Fig. 1); en los tallos y hojas es reticulada y electrón-densa, en cambio en los pétalos, consta de dos capas: la interna, en la zona de pared celular, fibrosa, y la externa, amorfa y electrón-clara (Mazurek *et al.*, 2016). También se ha observado que cambios en la síntesis, en la composición, en la hidrofobicidad y cristalización de los componentes, puede producir alteraciones relacionadas con las funciones e inferir daños en la planta (Tang *et al.*, 2019; Arya *et al.*, 2021).

En cuanto al árbol del té, con una gran importancia agroeconómica, la cutícula mostró diferencias entre las hojas tiernas y las maduras, así, el grosor de la cutícula afecta a las propiedades de procesamiento del producto repercutiendo en la calidad del té (Chen, 2021).

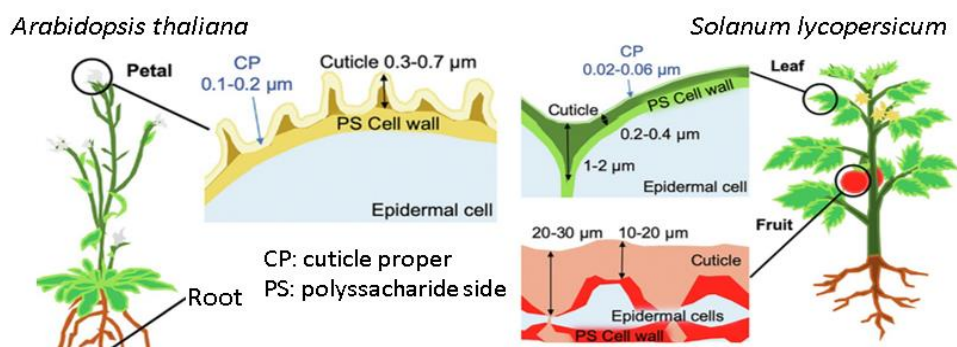


Figura 1. Dibujo esquemático que muestra las diferencias de la cutícula según los grupos vegetales y órganos de las plantas (Modificado de: Philippe *et al.*, 2022).

Estos ejemplos muestran que existen divergencias en la ultraestructura cuticular de las especies, aunque presenten una estructura básica similar (Guignard, 2019) (Fig. 1), por lo que sus características y propiedades influyen en su función.

En este sentido, la cutícula, al tratarse de una estructura hidrofóbica, participa en mecanismos hídricos evitando la pérdida de agua (Schreiber, 2010), actúa como protección frente a las radiaciones solares incidentes (Pfündel *et al.*, 2006), participa en el aspecto físico modificando el brillo (Ward y Nussinovitch, 1996; Petit *et al.*, 2014), en propiedades de autolimpieza o que se produzca un color estructural cuando se refracta la luz (Koch y Barthlott, 2009). Igualmente tiene un papel termorregulador (Casado y Heredia, 2001) y protector frente a patógenos y herbívoros (Aragón *et al.*, 2017).

Los estudios genómicos pueden ayudar a comprender cuales son los mecanismos moleculares, bioquímicos y fisiológicos empleados por las plantas para responder y aclimatarse a las condiciones medioambientales. Los estudios en biosíntesis de la cutícula han mostrado la prevalencia de los genes necesarios para dicha ruta metabólica, así como los genes implicados en el transporte y secreción de los componentes de la cutícula en las plantas analizadas, que, aunque no era una función conservada, sí existía una relación funcional entre los genes (Kong *et al.*, 2020). El número de genes implicados en la biosíntesis, en los diferentes linajes de plantas, va a condicionar la cantidad de cutícula, así como su composición. En este sentido, los briófitos presentaron una cutícula mínima, las espermatófitas dos o tres veces más cutícula, y los helechos presentaron unos niveles intermedios respecto a dichos grupos (Seale, 2020).

Según lo comentado anteriormente, la cutícula ha sido una característica fundamental que permitió el éxito de las plantas, contribuyó al desarrollo de morfologías complejas y al aumento de tamaño en las plantas con semilla, lo que estableció una relación entre la extensibilidad de la pared celular y el crecimiento de las plantas (Thompson, 2001), confiriéndole a la cutícula un papel en la biomecánica de los órganos (Kutschera y Niklas, 2007) y un comportamiento reológico viscoelástico (Domínguez *et al.*, 2010). En este sentido, después de que ha ocurrido la polinización y fertilización, se produce la formación de los frutos y donde la cutícula presenta un rol relevante para los mismos (Lara *et al.*, 2019).

Los frutos carnosos tienen una gran importancia en la alimentación y salud humana y en el sector económico. La ingesta de frutas es crucial para los seres vivos, contribuyendo en una alimentación variada, y aportando numerosos nutrientes que permiten tener una vida saludable, lo

que precave enfermedades y repercute en una disminución de la tasa de mortalidad. La gran cantidad de agua y vitaminas (A, C, E, K o B) que presentan, las hace perfectas para hidratar y aportar antioxidantes frente a los radicales libres. Además, un alto consumo previene cánceres de boca o vejiga, y reduce el riesgo de cardiopatías isquémicas (Morocho y Reinoso, 2017).

En cuanto al valor económico, destacan por su amplia cosecha y exportación. En España, entre la gran cantidad de frutas que se producen, sobresalen los cítricos, manzanas, tomates y mangos.

Respecto a los primeros se alcanzó la producción de 6.257.696 toneladas (2020), siendo la naranja (*Citrus sinensis* L.) la principal fruta de exportación, lo que convierte al país en el primer exportador a nivel mundial y el sexto productor de diversos cítricos (limones, *C. limon* L.; pomelos, *C. máxima* Burm.; mandarinas, *C. reticulata* Blanco) (García, 2017; Gobierno de España, 2021). En la producción de especies de fruta dulce: manzanas (*Malus domestica* Borkh.), se alcanzó el valor de 2.963.556 toneladas (2020), donde nuevas variedades, mejor adaptadas, permiten obtener mayor cantidad de fruta y mejor conservada (Iglesias y Carbó, 2018; Gobierno de España, 2021). En cuanto al tomate (*Solanum lycopersicum* L.), España es el tercer país con mayor exportación 910.000 toneladas (Pérez, 2018). Y el mango (*Mangifera indica* L.), con unas características muy concretas para su producción, cultivándose en regiones con climas tropicales y subtropicales, por lo que en España se limita a la zona de Andalucía y el Archipiélago Canario. Según datos de 2019, España produce 36.000 toneladas, siendo un gran productor, el tercer importador y el segundo comercializador respecto a la UE y con un amplio crecimiento (Peláez, 2019).

Mejorar nuestros conocimientos sobre diversos aspectos en esta estructura pueden contribuir al diseño de programas biotecnológicos de optimización de plantas que se adapten a condiciones de suministro de agua limitado.

2. OBJETIVOS

En relación con lo anteriormente relatado, el presente Trabajo de Fin de Grado (TFG) trata de una revisión bibliográfica, con el objetivo general de comprender la cutícula vegetal y su importancia. Para la consecución de éste, se abordarán objetivos específicos como:

- Describir la estructura compleja y ubicua de la cutícula, así como los mecanismos de su biosíntesis.
- Conocer las propiedades de este biopolímero y como interfieren en sus funciones.
- Entender las particularidades que presenta en los frutos carnosos relacionado con las características genómicas.
- Y vislumbrar la importancia, para el ser humano, basada en su bioactividad y la industria.

3. METODOLOGÍA

Para la realización de este TFG se ha llevado a cabo una investigación bibliográfica de artículos publicados en revistas indexadas dedicadas al estudio de la **cutícula vegetal**: sus características, componentes, propiedades, sus relaciones con la adaptación ecofisiológica, función e importancia. También se han consultado revisiones y otros estudios científicos sobre el tema objeto de estudio. La estrategia de indagación seguida ha sido la búsqueda por internet, con las bases de datos de artículos científicos más importantes, como son PubMed, Google Académico, Science Direct, PuntoQ, en revistas científicas (Elsevier,..) o manuales editados de biología vegetal y fisiología. Se han utilizado las siguientes palabras, solas o en combinación, en español e inglés: cutícula, cutina, ceras, compuestos alifáticos, biosíntesis, genes, frutos, propiedades. El número de artículos elegidos para este trabajo ha sido de 149 y su elección se ha creído oportuna por su relevancia dentro de la investigación directa del objeto de estudio, la cutícula, o por aportar datos interesantes relacionados con ésta, con el fin de poder extraer la información necesaria para cumplir los objetivos de dicha revisión.

Nota aclaratoria: en este TFG las menciones a frutos son siempre referentes a frutos carnosos.

4. RESULTADOS de la Revisión Bibliográfica

4.1 Estructura y composición de la cutícula vegetal

La cutícula, es la capa protectora externa, que cubre la pared celular de las células epidérmicas, en todas las partes aéreas de los vegetales, que interacciona con el medio ambiente y cuya estructura morfológica (en sección transversal) responde a una cubierta superior de ceras epicuticulares, seguida de otra formada por diferentes compuestos y que constituyen la capa cuticular, en la que se observa una matriz lipídica de cutina, que se entrelaza con ciertos polisacáridos que provienen de la pared celular epidérmica (Leide *et al.*, 2007; Tafolla-Arellano *et al.*, 2013; Lara *et al.*, 2019) (Fig. 2). A microscopía óptica (MO), esta capa lipídica se puede distinguir utilizando colorantes como la safranina y de la familia del sudán (Figs. 3, 5).

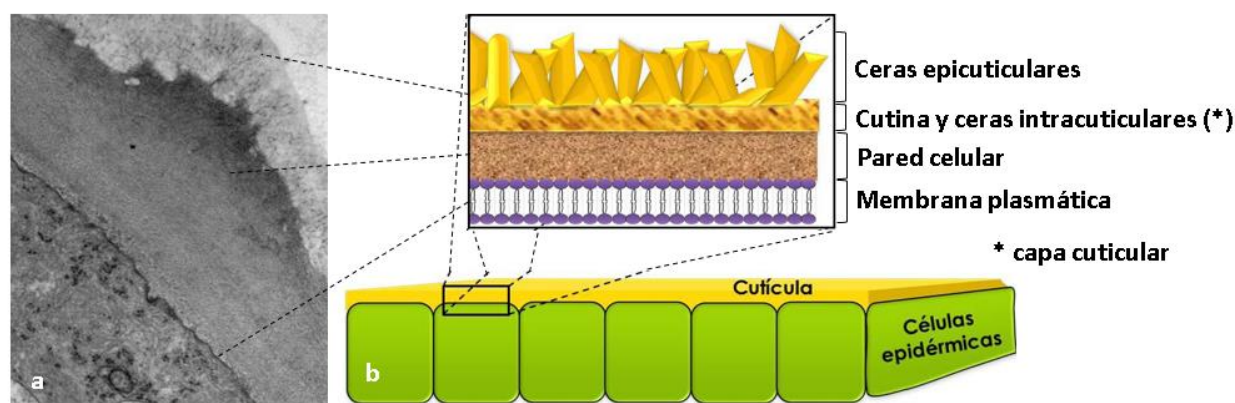


Figura 2. a) Fotomicrografía de microscopía electrónica de transmisión, en sección transversal (s.t.), de la pared y cutícula epidérmica del tallo de *Ceropogia fusca* (Bolle) (Alfayate y Rodríguez, 2014). b) Dibujo esquemático de la cutícula en s.t. (Tafolla-Arellano *et al.*, 2013)

El componente principal y mayoritario, de esta capa cuticular, la cutina, se presenta en un 40% y puede llegar hasta el 80% (Domínguez *et al.*, 2010; Yeats *et al.*, 2012) (Fig. 2); se han empleado diferentes técnicas para su estudio, como espectroscopía infrarroja, la aplicación de cálculos de dinámica molecular (MD) y análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) de estado sólido, entre otros, y han permitido definirla como una red flexible, amorfa y que presenta en sitios reticulados ciertas restricciones de movimiento (Domínguez *et al.*, 2010). Se trata de un polímero formado por ácidos grasos de cadena media, y que forma enlaces de tipo éster, con el glicerol y entre sí (Suh *et al.*, 2005; Panikashvili *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2009a). Los ácidos grasos son, generalmente, de 16 carbonos (C), destacando el ácido 10,16-dihidroxihexadecanoico y su isómero posicional 9,16-dihidroxihexadecanoico (Bessire *et al.*, 2007; Xue *et al.*, 2017), y en menor porcentaje, ácidos grasos de 18C, entre éstos los ácidos 9,10-epoxi-18-hidroxiocetadecanoico y

9,10,18-trihidroxioctadecanoico (Heredia, 2003), encontrándose en licófitas, helechos, gimnospermas y angiospermas (Jetter *et al.*, 2006).

Asociadas a la cutina, y como componentes adicionales, se encuentran las ceras o lípidos cuticulares solubles, bien como ceras intracelulares, incrustadas dentro de la matriz, o como ceras epicuticulares, depositadas en la superficie exterior (Lara *et al.*, 2019) (Fig. 3) y que constituyen una capa amorfa, microcristalina, con estructuras en forma de hélices, túbulos, cintas, varillas o placas (Barthlott *et al.*, 1998) (Fig. 2). Las ceras comprenden una mezcla compleja de compuestos alifáticos de cadena muy larga (VLCFAs: very long chain fatty acid) (20-40C y de 36-70C) (Reina-Pinto y Yephremov, 2009), entre los que predominan: ácidos grasos, alcoholes grasos, alquenos o los triterpenoides, como por ejemplo, el ácido oleanólico (Lara *et al.*, 2019). En *A. thaliana*, los alcoholes secundarios y cetonas tienen mayor presencia en los tallos y menor en las hojas (Lee y Suh, 2015). En las hojas del té destacan, en las tiernas, los VLCFAs, y en las maduras, los esteroides y triterpenoides (Chen, 2021). Además, presenta cafeína (Zhang *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021) lo que le confiere un doble carácter, hidrofílico y lipofílico, que contribuye al aumento de la actividad lipoxigenasa aumentando el contenido de jasmónico (JA) celular (Chen, 2021).

Asimismo, se contemplan los componentes no lipídicos, como son: los polisacáridos (Fig. 3), celulosa, hemicelulosa y pectina principalmente, polipéptidos y compuestos fenólicos como el ácido cumárico y ferúlico, flavonoides (en musgos) y fenilpropanoides (Hunt y Baker, 1980; Kolattukudy, 1981; Baker *et al.*, 1982; Villamil *et al.*, 2019).

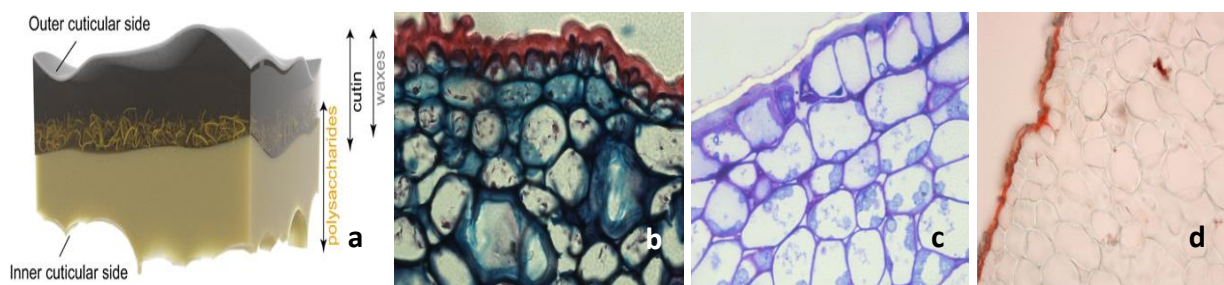


Figura 3. a: Representación esquemática de los diferentes componentes de la cutícula. b-d. Fotomicrografías de MO, b: s.t. de tallo de *Protea* 'Susara' teñido con safranina/verde rápido. c: s.t. fruto de *Carica papaya* L. con azul de toluidina. d: s.t. de tallo de *C. fusca* con sudán III. (b-d: imágenes de MC Alfayate)

4.2 Biosíntesis de la cutícula vegetal

La biosíntesis de los monómeros de cutina se describió en los años 70 (Kolattukudy, 1981), aunque hoy en día sigue sin conocerse en su totalidad. Estos precursores se sintetizan en las células epidérmicas (López Casado, 2006). Para desarrollar la cutícula, las células van a utilizar gran cantidad de energía (Tafolla-Arellano *et al.*, 2013). El proceso se inicia en los plastidios, desde aquí,

se pasa al retículo endoplasmático (RE) para ser modificados químicamente, mediante hidroxilaciones y/o epoxidaciones, por último, se trasladan hasta la membrana plasmática y luego hacia la pared celular y la cutícula (López Casado, 2006). Todo este proceso está mediado por enzimas, que se encuentran, en la parte externa de las paredes o en las células epidérmicas y son dependientes de energía en forma de ATP y de coenzima A (CoA) (Fig. 4) (Samuels *et al.*, 2008).

En este engranaje existe una enzima clave que actúa en la epidermis, denominada CD1 (Cutin Deficient 1), una lipasa/hidrolasa que pertenece a una familia de esterasas/acilhidrolasas Gly-AspSer-Leu (GSDL) (Segado, 2017). Esta enzima junto a otras, constituye un clado de cutina sintasas (CUS) (Segado, 2017), con un papel fundamental en la polimerización de los ácidos grasos, concretamente en el proceso de transesterificación de los precursores, ya que deben permanecer en forma de hidroxiacilglicerol. El funcionamiento de esta sintasa es hacer la reacción en forma de *Bi-Bi Ping-Pong* (Jiang *et al.*, 2011), actuando en tres pasos: en un primer paso, CD1 reacciona con una molécula de 2-mono (10,16)-dihidroxihexadecanoil glicerol (2-MHG) y produce un intermediario acil-enzima. En segundo lugar, este intermediario vuelve a reaccionar con otra molécula de 2-MHG, dando un producto dimérico, formándose a su vez en estas reacciones, oligómeros cada vez de mayor tamaño (Segado, 2017). Y finalmente, estos oligómeros reaccionarían entre ellos y CD1 aceptaría en cada ciclo un grupo acilo proveniente del 2-MHG, originando un polímero con los diferentes monómeros de cutina unidos por sus ésteres de glicerol (Yeats *et al.*, 2014). Para el correcto funcionamiento de CD1, se necesita un pH ácido, en torno a 5, lo que evidencia que esta acción no se lleve a cabo en el RE (pH más próximo a neutro), sino en la propia cutícula, o incluso en las paredes celulares periclinales y anticlinales (Segado, 2017).

En cuanto a la biosíntesis de ceras se presenta en tres etapas; la primera, es la síntesis de *novo* de los ácidos grasos, y ocurre en los plastos, en la que se une covalentemente, mediante un enlace tioéster, la proteína transportadora de grupos acilos, la ACP, y la cadena de grupos acilo que está en fase de crecimiento. La segunda etapa, corresponde a la elongación de los ácidos grasos, gracias a un complejo multienzimático tipo elongasas, en el RE (Kunst y Samuels, 2003; Tafolla-Arellano, *et al.*, 2013). Y la tercera, el transporte de lípidos desde las células epidérmicas hacia el exterior de la pared celular, cuyo mecanismo no se conoce completamente, pero los trabajos de Pighin *et al.* (2004) señalaron que los transportadores de membrana que participaban era del tipo ABC.

Para que se forme la cutícula, lo primero que debe ocurrir es su polimerización. En las primeras etapas del desarrollo de un órgano, se forma la procutícula, que es una fina capa inicial de

lo que será la cutícula (Jeffree, 2006), y a partir de este momento, se agrega continuamente un nuevo material. En paralelo a la esterificación, también puede ocurrir un mecanismo de autoensamblaje de la cutina, aunque solo se ha observado *in vitro*. Así, Skrzydeł *et al.* (2021) demostraron que los derivados de hidroxilo y los ácidos carboxílicos son capaces de crear una monocapa 2D sobre la mica. Estos monómeros se unen mediante enlaces de hidrógeno por estos dos grupos, y se ensamblan de manera que el grupo final reactivo quede orientado hacia la superficie de la mica y exponiendo el grupo metilo terminal hidrofóbico. La estructura de esta capa va a depender de la posición en las que están los grupos hidroxilo y del número de estos. Estos datos sugieren que, el ensamblaje de esta monocapa puede contribuir a que se desarrollen las procutículas antes de la esterificación (Benítez *et al.*, 2007). De igual modo, también destacan las ceras, que son capaces de autoensamblarse y formar parte de esta estructura. Por otro lado, y paralelamente, se sabe que existe la intervención de *cutinsomas*, es decir, de unas nanopartículas lipídicas que se crean en agua o soluciones polares, derivadas del autoensamblaje de monómeros de cutina (Domínguez *et al.*, 2015; Stępiński *et al.*, 2020) (Fig. 4). Estos *cutinsomas* van a crear un ambiente físico-químico que favorece la propia polimerización de monómeros de cutina sin necesidad de enzimas, y desarrollado en cultivos *in vitro*. Estas observaciones permiten proponer un modelo alternativo para el progreso de cutículas *in vivo*, en particular, como el primer paso de la procutícula (Skrzydeł *et al.*, 2021).

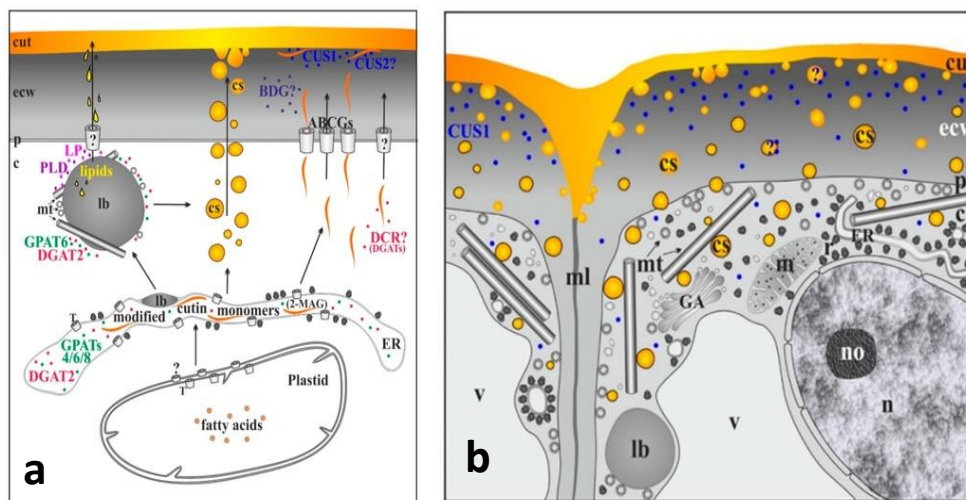


Figura 4. a-b. Modelos esquemáticos del proceso complementario de biosíntesis de cutina por enzimas y por *cutinsomas*. b. Detalle de la actuación de *cutinsomas* en la formación de la cutícula en *S. lycopersicum*. ABCG: Transportadores tipo ABC de unión a ATP; c: citoplasma; cs: *cutinsoma*; CUSs: cutín sistetasa; cut: cutícula; DGAT2: diacilglicerol aciltransferasas; ecw: pared celular externa; GA: aparato de Golgi; GPAT: glicerol-3-fosfatasa-CoA aciltransferasas; lap: lipasa; lb: cuerpo de lípidos; 2-MAG: 2-monoacil glicerol; m: mitocondria; ml: lámina media; mt: microtúbulos; n: núcleo; no: nucléolo; p: plasmalema; PLD: fosfolipasa D; RE: retículo endoplásmico; r: ribosoma; v, vacuola (Stępiński *et al.*, 2020).

Así mismo, se ha descrito que, para que se forme la cutícula es necesario la presencia de vesículas. Se desconoce la composición exacta, pero contienen precursores de cutina y proteínas relacionadas con el transporte de los componentes (Zhao *et al.*, 2020).

Tras el establecimiento de la procutícula, arriba mencionado, se acumula material nuevo en esa cutícula existente. Así, la tasa de deposición de la cutícula va sufriendo cambios durante el crecimiento del órgano, por lo que el grosor que va a presentar es el resultado de una interacción y un equilibrio, entre la tasa de expansión, entendida como la inserción de un nuevo material en la cutícula existente orientada hacia el protoplasto, y la tasa de deposición de la pared celular. Se ha observado que en hojas y frutos carnosos, la tasa de deposición de cutículas, suelen ser máximas en las primeras etapas del desarrollo, lo que conlleva a un aumento en el propio grosor de la cutícula (Skrzydeł *et al.*, 2021). Posteriormente, durante el desarrollo, como existen cambios en esas relaciones de interacción entre las tasas de depósito y expansión hay diferencias de grosor de la cutícula, según la parte de la planta y la especie (Khanal y Knoche, 2017). Asimismo, que exista un equilibrio dinámico entre el depósito de la cutícula y la expansión de la pared celular es importante para que se creen crestas cuticulares, características, por ejemplo, en la superficie del perianto (Hong *et al.*, 2017).

En este proceso están implicados diferentes genes, en los musgos, se encuentran los genes glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT), necesarios para la biosíntesis de cutina, destacando GPAT4 y GPAT8. Estas proteínas que se producen fruto de las aciltransferasas presentan una especificidad de sustrato, teniendo preferencia por las moléculas de 16C (Lee *et al.*, 2019). También se ha observado un transportador de los componentes de las ceras denominado ABCG7 (Buda *et al.*, 2013).

En *A. thaliana*, se han encontrado 9 genes LACS, que interviene en la síntesis de distintos componentes, y cuyas mutaciones producen alteraciones cuticulares y daños en la planta (Lu *et al.*, 2009; Weng *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2019). Así como genes relacionados con el transporte, el gen AtMIN7, donde una alteración da lugar a cambios en los niveles de hormonas como el ácido abscísico (ABA) o el JA (Zhao *et al.*, 2020).

Respecto a *C. sinensis* (el té), otro de los ejemplos dentro de las muchas plantas investigadas, se destaca un aldehído descarboxilasa codificada por el gen CER1, que cataliza la biosíntesis de alcanos en la formación de la cera cuticular, vía VLC. Asimismo, una aciltransferasa BAHD codificada por DCR necesaria para la formación de la cutina, y diversos transportadores de tipo ABC, como ABCG6, ABCG11 o ABCG32 (Wang *et al.*, 2020).

4.3 Propiedades de la cutícula vegetal

Existen tres propiedades biofísicas de la cutícula, de amplia trascendencia, y son: la propiedad hídrica, la propiedad térmica y la propiedad mecánica. Dichas propiedades están interconectadas, y tienen un papel clave, por ejemplo, en el caso de las hojas de *Clivia* (*C. miniata* (Lindl.) Regel; Amaryllidaceae), una planta de jardín, que mostró diferencias en la cutícula entre las hojas jóvenes y viejas, causadas por los cambios en la reticulación de la matriz de la cutina y que provocaba cambios de permeabilidad al agua (Reynoud *et al.*, 2021), o de los frutos, para conocer cuales son sus mejores condiciones en el almacenamiento (Lara *et al.*, 2019).

4.3.1 Propiedad hídrica

La cutícula puede funcionar como barrera, pero presenta un problema, no es totalmente impermeable al agua (López Casado, 2006). Su papel fundamental es, minimizar la pérdida de agua, desde la propia planta a la atmósfera (Schönherr, 1982). Este transporte de agua es importante, existiendo dos direcciones contrarias: la adsorción, que se realiza del medio que les rodea, y la pérdida por parte de los tejidos internos (Lara *et al.*, 2019). La adsorción de agua se relaciona con la histéresis, es decir, con la capacidad que presenta un material a preservar una propiedad, por lo que, se determina qué tras ser hidratada, se necesitan condiciones adversas y duras que produzcan la deshidratación de esta estructura, siendo los polisacáridos los responsables de este fenómeno (Lara *et al.*, 2019).

Asimismo, las ceras epicuticulares son las causantes de que la cutícula presente una reducción de la permeabilidad (Bukovac, 1981). Dichas ceras se disponen dentro de dominios que son amorfos o cristalinos, y se unen con compuestos alifáticos que hacen que sean impermeables al agua (Yeats y Rose, 2013), por lo que, en aquellas situaciones donde se aprecia una reducción de la cutina acompañada de una disminución de las ceras, existe un aumento significativo de esta permeabilidad (Girard *et al.*, 2012; Shi *et al.*, 2013).

4.3.2 Propiedad térmica

En estudios sobre la cutícula, se describe que cuenta con un alto calor específico, siendo idónea para amortiguar y mantener de manera constante la temperatura en su interior y presentar una transición vítrea respecto a esa temperatura fisiológica (Matas *et al.*, 2004). Esta transición vítrea refleja un cambio que ocurre entre dos etapas físicas: una rígida, que sería por debajo de la transición y una más viscosa y líquida y que se encontraría por encima (Matas *et al.*, 2004). Así se ha visto que, a bajas temperaturas, la cutícula sufre un proceso de rigidez y es capaz de reducir el movimiento de las partículas a través de ella, mientras que si aumenta la temperatura se convierte

en un estado más fluido, disminuyendo la resistencia de deformación, aumentando el volumen y favoreciendo el transporte a través de ésta (Domínguez *et al.*, 2010).

Como se comentó al principio de este apartado, existe correlación entre las distintas propiedades de la cutícula, así el estado hídrico afecta a su propiedad térmica. Se ha contemplado que, cuando existe una humedad alta, la transición vítrea se muestra a temperaturas más bajas (Matas *et al.*, 2004; Stark *et al.*, 2008). Por lo tanto, los cambios que ocurren a nivel de estructura de la cutícula, que se producen a temperaturas que están por encima de la transición vítrea, minimizan la capacidad de actuar como barrera del agua, además de que al mismo tiempo, el agua es capaz de reducir la temperatura a la que se produce esta transición (López Casado, 2006).

4.3.3 Propiedad mecánica

La cutícula es apta como soporte estructural que resiste a determinadas fuerzas, principalmente de tensión (Wiedemann y Neinhuis, 1998), mostrando un comportamiento bifásico, de modo que, a tensiones bajas, se comporta de una manera más elástica, capaz de producir una deformación instantánea y de volver a recuperar las condiciones iniciales tras ser eliminada la tensión (Lara *et al.*, 2019), y cuando las tensiones aumentan, la deformación es viscoelástica, y dependiendo del tiempo en el que se produzca, la mayoría de las veces, será irreversible (Khanal y Knoche, 2017). Se necesita un umbral que pueda limitar ambos comportamientos, y cuanto menor sea ese umbral, con mayor facilidad se producirá la deformación de la cutícula y menor será la fuerza necesaria para romperla (Lara *et al.*, 2019). Entre los componentes cuticulares y que repercutan en cambios en esta propiedad se encuentran: la fracción de polisacáridos, que da lugar a la elasticidad, provocando la reducción y el aumento del esfuerzo para producir la rotura (Lara *et al.*, 2019); las ceras, principalmente las intracuticulares, que provocan el endurecimiento de la cutícula y, en algunos casos, también aumentan el estrés de rotura (Khanal *et al.*, 2013; Tsubaki *et al.*, 2013); y por último, los compuestos fenólicos, que aportan rigidez, aumentando el esfuerzo que se debe realizar para provocar la rotura, reduciendo la deformación y aumentando la fase elástica (España *et al.*, 2014).

El agua interactúa con esta propiedad, como agente plastificador, ya que se puede entrelazar entre las cadenas y los grupos funcionales, y causa la disminución de la interacción que existe entre estos componentes, para dar un material con características viscoelásticas (López Casado, 2006). Por otro lado, el aumento de la temperatura también desencadena este efecto (Matas *et al.*, 2005).

4.4 Funciones de la cutícula vegetal

La cutícula muestra diversas funciones relacionadas con las propiedades ya mencionadas. Entre estas funciones y clave de esta estructura es evitar la pérdida de agua, para poder sobrevivir

en los ambientes de escasez (Domínguez *et al.*, 2017). Por ello, tanto la cutícula, como los estomas, muestran una gran importancia, pues regulan la transpiración en los vegetales y el transporte de gases y solutos (Schreiber, 2010; Domínguez *et al.*, 2017).

La cutícula desarrolla un papel termorregulador (Casado y Heredia, 2001) como se ha comentado en las propiedades, y de barrera de protección, activando mecanismos de defensa frente a patógenos (Aragón *et al.*, 2017), siendo un lugar de interacciones moleculares tanto entre la planta como por los organismos atacantes (Arya *et al.*, 2021). En este sentido, determinados componentes de la cutícula, como la cafeína, ya mencionado en este TFG, promueven un aumento de enzimas que conducen al incremento hormonal del JA lo que produce una mayor resistencia contra los microorganismos y herbívoros (Chen, 2021).

Por otro lado, la presencia de ceras epicuticulares y los compuestos fenólicos, dan protección, controlan y mitigan la sorción de la luz UV (Pfündel *et al.*, 2006; Domínguez *et al.*, 2010). Además, es fundamental para vigilar el desarrollo de los órganos, evita su fusión y los mantiene separados (fasciación) (Nawrath, 2002; Renault *et al.*, 2017), y en la ruptura que puedan sufrir los tejidos (Domínguez *et al.*, 2017). También, minimiza el impacto del estrés abiótico, por lo que se modifican y realizan determinados cambios, y para resistir recurren a la evitación (implica cambios internos para que la célula esté en un estado normal aunque en el medio externo existan condiciones estresantes) y la tolerancia (la planta desarrolla mecanismos que le permita vivir aunque esté estresada internamente y externamente) (Shepherd y Wynne, 2006), siendo uno de los mecanismo más utilizados para esta resistencia la retención de agua.

Por último, gracias a la gran cantidad de cristales de cera epicuticulares, se ha creado un mecanismo de autolimpieza denominado “efecto loto” (Koch y Barthlott, 2009; Yeats y Rose, 2013), que consiste en, liberar a la superficie de la acumulación de polvo, para permitir así la entrada de la luz solar y realizar mayor fotosíntesis. Esto se crea gracias a las bolsas de aire que se forman en las ceras epicuticulares y que se disponen debajo de las gotas de agua, lo que permiten que estas rueden hasta el suelo, llevándose consigo partículas y desechos innecesarios para la planta (Yeats y Rose, 2013). Este efecto es contrario a lo que ocurre en los pétalos de rosas, en cuya superficie existe un teselado irregular de regiones hidrofílicas e hidrofóbicas intercaladas, que inducen que esas gotas de agua al ser de carácter polar, se unan y exista así una interacción entre estas y la superficie, siendo crucial en el vegetal. Este efecto es de gran interés para la ciencia y la industria ya que, pueden realizarse aerosoles o pulverizaciones foliares de ciertos productos agroquímicos, además de ser, para las plagas y enfermedades, un punto de entrada (Fernández y Colchero, 2022).

4.5 La cutícula en los frutos carnosos

4.5.1 Estructura y composición de la cutícula en los frutos carnosos

La cutícula en los frutos carnosos presenta ciertas características únicas, y les rodea de manera hidrofóbica. En general, los componentes cuticulares son de la misma clase que la de los órganos vegetativos, aunque muestran diversidad de composición en las ceras de diferentes especies y cultivares de frutos (Trivedi *et al.*, 2019), siendo los triterpenoides los que se localizan principalmente en los frutos (Szakiel *et al.*, 2012) frente a los alcanos más comunes en otros órganos de las plantas.

La composición de las ceras afecta al grosor de la cutícula, y a su vez, a la tasa de transpiración del agua (Riederer y Schreiber, 2001), así, en este sentido, los triterpenoides y los esteroides permiten la entrada del agua a la cutícula de los frutos, mientras que, los alcanos y los aldehídos aumentan la impermeabilidad a ésta (Vogg *et al.*, 2004; Leide *et al.*, 2007; Parsons *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014; Moggia *et al.*, 2016).

En la cutícula de los frutos se ha observado también la matriz lipídica denominada cután, una estructura de dominios aromáticos y ésteres de pocos átomos de carbono y que provoca la resistencia a una degradación química de la matriz polimérica y que puede combinarse con la cutina (Domínguez *et al.*, 2010). Además, las proporciones de ciertos componentes como las ceras o la cutina pueden sufrir variaciones, así como la disposición e incorporación de estos en la biosíntesis, dando lugar a ciertas modificaciones (Lara *et al.*, 2019).

La cutícula muestra un papel endurecedor de las paredes celulares, ya que presenta un módulo elástico mayor que el que existe en el tejido de la cáscara y, por otro lado, presenta un comportamiento opuesto en cuanto al trabajo de fractura, es decir, a la cantidad que es necesaria de energía para que se produzca una fisura. Todo esto nos permite determinar que, existe conexión entre estas dos estructuras, donde las paredes celulares son capaces de fortalecer la cutícula porque soportan mejor el agrietamiento y la cutícula por sus propiedades, favorece el endurecimiento de la pared (Guignard, 2019).

4.5.2 Características de la cutícula en diferentes estados de desarrollo del fruto carnoso

Los frutos presentan tres fases básicas en su formación, y se corresponden con: crecimiento (cuajado, el paso de flor a fruto), desarrollo y maduración, seguido de la abscisión (Alba *et al.*, 2005). Durante el crecimiento de los frutos, el contenido de ceras epicuticulares aumenta, al incrementarse, de manera continua, la deposición de los materiales (Petit *et al.*, 2007). Dichas ceras se acumulan en forma de laminillas aplanadas, que con el paso del tiempo, se convierten en unas láminas más duras y quebradizas, las cuales en la maduración se rompen y forman agregados muy

pequeños, por lo que disminuye su función como barrera protectora (Wiedermann y Neinhuis, 1998). Este modelo ha permitido determinar que la formación de la cutícula es de tipo “capa fisurada” (Barthlott *et al.*, 1998). Asimismo, durante el crecimiento, la cutina también muestra un comportamiento similar a estas ceras representando hasta un 60-80% de la masa total de la cutícula y el cután al ser otra matriz lipídica, también sufre un aumento en esa etapa (Petit *et al.*, 2007). La deposición de la cutícula termina durante una determinada etapa del desarrollo, en la transición entre el crecimiento y la maduración (Lara *et al.*, 2015), provocando por cada unidad de superficie una reducción de esta estructura. La cutícula actúa como soporte mecánico en la etapa de maduración, ya que las paredes celulares no son capaces de soportar la presión interna. Esto hace que, en esta etapa, al ser vulnerables y no poder seguir con la deposición de ceras en el proceso de expansión, se formen macro o microfisuras que producen a su vez infecciones y movimientos de entrada y salida de agua descontrolados (Trivedi *et al.*, 2019). Se apunta que, el grosor de la cutícula se incrementa hasta el momento de la cosecha, con pequeñas variaciones en el tiempo y entre especies (Jeffree, 1996; Knoche *et al.*, 2004; Rogiers *et al.*, 2004; Petit *et al.*, 2007).

Por otro lado, existen otros cambios, diferentes al grosor, que se relacionan con los componentes de la cutícula, entre los que encontramos: las infecciones provocadas por patógenos, los daños a nivel mecánico, la resistencia hacia los cambios de permeabilidad al agua (Petit *et al.*, 2007), y las alteraciones a la difusión de gases (Jeffree, 1996; Knoche *et al.*, 2004; Rogiers *et al.*, 2004). Cuando el fruto ya es almacenado, la ultraestructura de la cutícula vuelve a tener cambios, presentando el aspecto de una placa con deposición de gránulos irregulares cristalinos, que se van acrecentando en número y en tamaño con el paso del tiempo. De igual modo, los frutos de los cultivares pueden manifestar diferencias relacionadas con características intrínsecas a los cultivares, ya que éstos están sometidos a condiciones ambientales, a la edad de las plantas y al manejo del cultivo (Petit *et al.*, 2007).

4.5.3 Características de la cutícula en cítricos, manzana, tomate y mango

a. Cítricos (*Citrus sp.*; familia Rutaceae)

Entre los cítricos, sobresalen la naranja, el limón, el pomelo, y la mandarina, en la investigación a nivel de la cutícula. En general, presentan una reducción de cutina de aproximadamente un 20% respecto a la que podía existir en las cutículas de las hojas, y los monómeros con mayor porcentaje son los dihidroxi de 16C (Lara *et al.*, 2015) (Fig 5). En la naranja, cuando se encuentra en estado maduro, los triterpenoides son el componente de la cera más abundante y presenta, además, un alto porcentaje de aldehídos, al igual que en el limón (Nawrath y Poirier, 2008). En el pomelo, el monómero de cutina más predominante es el ácido 16-hidroxi-10-

oxo (Lara *et al.*, 2015), los terpenoides y los aldehídos conforman las ceras epicuticulares, aunque muestran ciertas diferencias debido a la posición en el dosel foliar (McDonald *et al.*, 1993), lo que permite apoyar la hipótesis de que las condiciones ambientales son capaces de provocar cambios en la cutícula e influyen en el desarrollo del fruto. En las mandarinas existen diferencias según la posición de los frutos en la copa, y destacan los monómeros de 16 carbonos (dihidroxi 16C y ω -hidroxi oxo 16C) (Lara *et al.*, 2015).

b. Manzana (*Malus domestica*; familia Rosaceae)

Los estudios de la cutícula de la manzana muestran que existe un aumento de más de un 120% de los ácidos grasos y los alcoholes, debido a la deposición de ceras cuticulares y el aumento de producción de etileno que se llevan a cabo en el proceso de maduración. Las variedades de manzanas más estudiadas han sido ‘Dougherty’, ‘Granny Smith’ y ‘Sturmer’. En general, todas las manzanas presentaban ceras superficiales (Fig. 5), aunque se diferencian en los alcoholes, el n-hexacosanol (26C) predomina en ‘Sturmer’ (Nawrath y Poirier, 2008), mientras que para las variedades ‘Dougherty’ y ‘Granny Smith’ destaca el n-tetracosanol (24C). Asimismo, se observa qué relacionado con las ceras, ‘Sturmer’ presenta un mayor contenido de hexadecanoico y menor contenido de ácido octadecadienoico respecto a las otras dos variedades (Lara *et al.*, 2015). Por otro lado, y relacionado con la cutina, el 73% del total de los monómeros en ‘Golden Delicious’ están representados por la clase de monómeros de 18C hidroxilados (Espelie *et al.*, 1979), vinculándolo con la tasa de expansión de diferentes órganos. Todas las variedades presentan bajos porcentajes de cután (Lara *et al.*, 2015).

c. Tomate (*Solanum lycopersicon*; familia Solanaceae)

En el tomate predominan los alcanos de cadena muy larga, los triterpenoides (Vogg *et al.*, 2004; Leide *et al.*, 2007; Petit *et al.*, 2014) y el monómero de cutina de 16C, el ácido 10,16-hidroxiácido, el cual representa alrededor del 74% del total de los monómeros de esta estructura (Lara *et al.*, 2015). Además, presenta una gran cantidad de flavonoides, componente muy importante durante la maduración del fruto, no así en las hojas de la planta, cuyo porcentaje disminuye (Lara *et al.*, 2019). Por otra parte, el contenido de cera cuticular presente en los tomates silvestre es siete veces mayor que en los tomates cultivados, diferenciándose en los ésteres de cera e isómeros triterpenoides (Fig. 5) (Lara *et al.*, 2015).

d. Mango (*Mangifera indica*; familia Anacardiaceae)

En el mango destacan ‘Tommy Atkins’, ‘Keitt’ y ‘Kent’, en los tres cultivares, la estructura de la cera es de “tipo amorfo”, ya que desde el inicio de su formación se dispone de manera plana,

continua, interrumpida únicamente por las lenticelas (Barthlott *et al.*, 1998). Según esta conformación, la principal función es evitar la pérdida de vapor de agua (Petit *et al.*, 2009). En la etapa de crecimiento, con un porcentaje alrededor del 60%, el componente que mayor proporción muestra de la cera epicuticular son los alcanos, en la etapa de cosecha existe mayor proporción de ácidos grasos y menos de los alcoholes grasos y, en cambio, durante el almacenamiento del fruto, aumentan los alcanos y alcoholes, y disminuyen los ácidos grasos (Petit *et al.*, 2009).

Con respecto a la cera intracuticular, en la formación del fruto, con un 70% aproximadamente, están los ácidos grasos, pero en la fase de crecimiento, estas fracciones cambian según los cultivares, en ‘Tommy Atkins’ existe una mayor cantidad de ácidos grasos, a diferencia que en el ‘Kent’ donde este contenido aumenta hasta el momento de la cosecha, pero cuando se produce el almacenamiento, disminuye (Petit *et al.*, 2009). También difieren para los alcanos, con una disminución en los cultivares ‘Kent’ y ‘Tommy Atkins’, y aumento en ‘Keitt’ (Fig. 5) (Petit *et al.*, 2009).

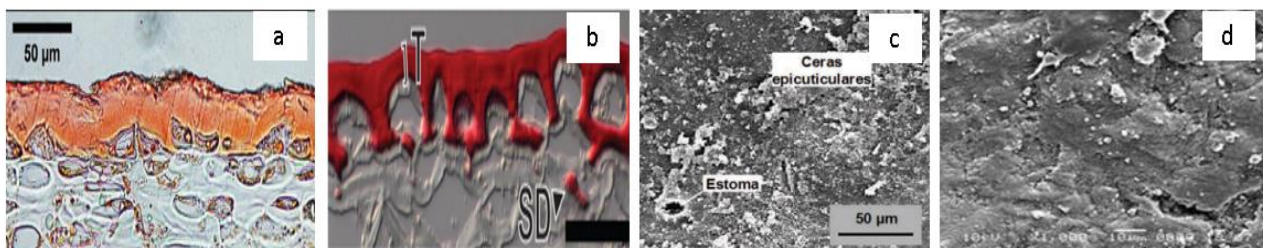


Figura 5. Fotomicrografías de MO (a y b) y ME de barrido (c y d) de la cutícula de diferentes frutos carnosos. a. S.t. de la superficie de *M. domestica* con Sudán IV. b. S.t. de la superficie de *S. lycopersicum* teñido con Oil red. (Yeats *et al.*, 2012; Tadeo, 2003) c. Cutícula de un fruto maduro de *C. reticulata* ‘Fortune’. d. Cutícula de *M. indica* ‘Keitt’. (Lashbrooke *et al.*, 2015; Petit *et al.*, 2007).

4.5.4 Genes implicados en la biosíntesis de la cutícula en cítricos, manzanas, tomates y mangos

a. Genes en los cítricos

En los cítricos se han identificado ciertos genes implicados en el proceso de biosíntesis de las ceras epicuticulares, destacando los genes CsCER1, CsCER3, CsCER26 y CsCER4/ FAR3; el transporte de los componentes necesarios para la síntesis de cera, con la presencia de CsABCG11/ WBC11 y CsABCG12/ WBC12; y los genes involucrados tanto con la transcripción como en la regulación postranscripcional, como son CsCD2 y CsCER7 respectivamente (Romero y Lafuente, 2022).

Los genes de la biosíntesis codifican para una acil reductasa grasa (FAR), que ejerce un papel clave en la producción de alcoholes grasos primarios, además de sintetizar para una descabonilasa-VLC, la cual interviene en la formación de alcanos (Bernard y Joubès, 2013; Wang *et al.*, 2016). Por otro lado, también se comprobó estudiando la relación entre el gen CsCER3 y el

etileno, que existía una redirección de la biosíntesis de cera epicuticular, es decir, según el tiempo de exposición (largo o corto plazo) de la hormona etileno, había un efecto en este gen y sobre CsCER7 y CsCD2, lo que permitía determinar que CsCER7 y CsCD2 regulaban a CsCER3, y por tanto, se modificaba el metabolismo de los alcanos en los cítricos (Romero y Lafuente, 2022). En cuanto a CsCER1, actúa catalizando la biosíntesis de alcanos para obtener estos componentes con el menor número de átomos de carbono (Wang *et al.*, 2015). Asimismo, se ha podido comprobar que los componentes de las ceras guardan una alta correlación con el ABA, y se observó que esta hormona participaba en la síntesis de cera y activaba genes como CER1 o CER3, y que además en los promotores de éstos, presentaban un elemento de respuesta a la hormona (Wang *et al.*, 2015). Por último, se determinó gracias a la correlación positiva entre la transcripción de CER26 y la deposición de VLCFA, que este gen codifica el alargamiento de los ácidos grasos de cadena larga (Wang *et al.*, 2015).

En lo que se refiere al transporte de los componentes, se comprobó que estos se desplazaban a través de los transportadores CsABCG11/ WBC11 y CsABCG12/ WBC12 desde la propia célula hasta el apoplasto, y que se encontraban influenciados por el etileno y controlados por genes reguladores como CsCD2 y CsCER7 (Romero y Lafuente, 2022).

b. Genes en la manzana

En estudios realizados en biosíntesis de cutículas de manzana, se han identificado dos regiones genómicas ubicadas en los cromosomas 2 y 15. Ambos cromosomas provienen de un solo cromosoma ancestral y que tras numerosos acontecimientos de emparejamientos y duplicación cromosómica facultaron diferenciarse en dos (Lashbrooke *et al.*, 2015), lo que permite que las especies generen variaciones dentro de su propio metabolismo (Mühlhausen y Kollmar, 2013). En el cromosoma 2, se reconocen genes relacionados con la tracción (propiedad que describe la elasticidad), y en el cromosoma 15, se localizaron genes que afectan a la tensión, ambos parámetros participan en la fuerza que se desarrolla en la cutícula. Según esto, parece, que los genes encontrados en el cromosoma 2 se relacionan más con el progreso para tener un mejor tejido, y los del cromosoma 15, son la causa principal de que falle la cutícula (Lashbrooke *et al.*, 2015).

Igualmente, en el cromosoma 2 se identifican: un ortólogo de AtWSD11, que participa en la síntesis de los ésteres de cera en *Arabidopsis*, y que es imprescindible para evitar que se unan órganos a consecuencia de una cutícula malformada (Takeda *et al.*, 2013); un ortólogo del gen de síntesis de ácidos grasos AtKAS1 (Wu y Xue, 2010); un ortólogo de AtCER1, una aldehído descarboxilasa (Bourdenx *et al.*, 2011) que participa también en la formación de la cera de la

cutícula y presente también en *Arabidopsis* (Bourdenx *et al.*, 2011; Bernard *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015); y dos genes de aciltransferasa BAHD, los cuales se involucraban en la biosíntesis de polímeros de cutina y suberina (Lashbrooke *et al.*, 2015). En relación con el cromosoma 15, se determinan: un ortólogo AtKCS11, que interviene en la biosíntesis de ácidos grasos de cadena muy larga (Blacklock y Jaworski, 2006) y MdSHN3, un factor de transcripción del dominio APETALA2 (AP2) (Aharoni *et al.*, 2004; Broun *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2013). Este MdSHN3 muestra una gran importancia en la cutícula, ya que regula positivamente la deposición de ésta y el grosor posterior, gracias a su control transcripcional de esos genes diana responsables de la biosíntesis de la cutícula (Shi *et al.*, 2013).

c. Genes en el tomate

Muchos son los genes que participan en la biosíntesis de la cutícula de los frutos en el tomate. Una familia ha presentado un interés considerable, las proteínas de la familia GDSL-lipasas (Girard *et al.*, 2012). Éstas son sintetizadas como preproteínas, las cuales presentan péptidos que actúan como señales y que tienen como finalidad facilitar la exportación que se produce hacia el medio extracelular. La GDSL-lipasa presenta un papel clave en la propia polimerización extracelular y/o el entrecruzamiento que se produce con los monómeros de cutina, e incluso puede ser que esté involucrada en el entrecruzamiento entre la cutina y la pared celular. Proteínas de esta familia GDSL-lipasa, encontradas en la cutina, son: SGN-U585129, SGN-U583101 y SGN-U579520 (Girard *et al.*, 2012) y un péptido denominado GDSL1 (Yeats *et al.*, 2010).

GDSL1 es una proteína extracelular que se expresa en el exocarpo de los frutos en desarrollo, localizada en el interior de la propia matriz cutinizada y ausente en la pared celular no cutinizada (Girard *et al.*, 2012). El gen que produce esta enzima se relaciona con la deposición de la cutina y concretamente con el grosor de ésta. Se observó en líneas de tomates con silenciamiento de este gen, una disminución del grosor de la cutícula, que se reducía, dependiendo del nivel del silenciamiento, el contenido de monómeros de cutina, lo que conlleva a que este gen y su silenciamiento, afecta a la biosíntesis de cutina y cera, y su efecto era más sobresaliente en los frutos maduros (Girard *et al.*, 2012). Por otro lado, también se determinó que este silenciamiento solo afecta a la cutícula, no tiene un efecto pleiotrópico, ni en el desarrollo en las plantas, ni en el resto del fruto (Girard *et al.*, 2012). La enzima GDSL1 (lipasa), situada en la matriz de la cutícula, funciona en un entorno empobrecido en agua, hidrofóbico (Klibanov, 2001), y en estas circunstancias cataliza la reacción de poliesterificación de hidroxiácidos grasos. Asimismo, esta localización de GDSL1, también le permite tener una actividad de transesterificación, siendo capaz de llevar a cabo la reacción contraria de esta lipasa (Girard *et al.*, 2012). Se conoce que los ésteres

monoglicéridos y los oligómeros son precursores en el proceso de transesterificación y que pueden participar en los transportadores ABC responsables en la deposición de la cutina (Bird, 2008; Yang *et al.*, 2010; Panikashvili *et al.*, 2011). Por otro lado, estas acil hidrolasas pueden influir en la germinación de la semilla (presenta actividad hidrolítica) (Clauss *et al.*, 2008; Updegraff *et al.*, 2009), actuar como defensa contra los patógenos (Oh *et al.*, 2005; Kwon *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2009b), y responder al estrés abiótico (Hong *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2009).

En esa misma línea, otro de los genes reseñados es TAGL1. Varios autores como Vrebalov *et al.* (2009) y Giménez *et al.* (2010) señalaron un papel clave de este en el desarrollo de la cutícula, influyendo en la formación de los frutos, y que la mayor acumulación de las propias transcripciones de TAGL1 se aprecian en la anthesis y en la etapa de la maduración de los frutos. Su expresión se detecta en el colénquima y parénquima del pericarpo, y además se observan cambios en el tamaño y distribución de las células según el estado del gen (Matas *et al.*, 2011). Posteriormente, Giménez *et al.* (2015) en estudios de sobreexpresión y silenciamiento del gen, observan que la actividad transcripcional de TAGL1 va a influir en la composición bioquímica y en las propiedades biomecánicas, así la sobreexpresión del gen induce un aumento en los componentes de la cutícula, mientras que su represión conlleva una disminución significativa de la cantidad de la misma, así como de sus componentes, entre ellos, los compuestos fenólicos. En este sentido, los genes de flavonoides, CHS1 y SIMYB12, presentan poca expresión cuando TAGL1 está coercitivo, demostrando el papel de TAGL1 como represor de la biosíntesis de lignina en frutos de tomate. Esta regulación negativa, podría llevarse a cabo bien, por un bloqueo directo de los genes de la vía de fenilpropanoide/lignina, o bien, por un control indirecto de la vía de los flavonoides.

d. Genes en el mango

En el mango se ha analizado la expresión de diferentes genes que participan en la formación del fruto, entre ellos un factor transcripcional que aparece unido a la cutícula y que coopera en respuestas inducidas por estrés ambiental y por patógenos. Dicho gen se había identificado previamente en *A. thaliana*, denominado AtSHN1/WIN1 y que pertenecía a la familia del dominio AP2, donde su expresión genera enzimas que elongan los ácidos grasos y crean compuestos alifáticos (Tafolla-Arellano *et al.*, 2017). En el mango se nombró como MiWIN1/SHN1 (MIN047952), y cuya expresión aumenta en el período de almacenamiento del fruto (Tafolla-Arellano *et al.*, 2017). Además, se identificó MiCD2 (MIN074277), el cual tenía como función participar en la regulación de la biosíntesis de la propia cutina. Éste presenta una baja expresión en las etapas temprana e intermedia del desarrollo del fruto mientras que, aumentaba durante el

almacenamiento (Tafolla-Arellano *et al.*, 2017). En cuanto a la biosíntesis de cera, el gen CER1 codifica para una enzima, aldehído descarboxilasa, que contribuye a la conversión de aldehídos de cadena larga en alcanos, un paso clave en la biosíntesis de la cera (Bourdenx *et al.*, 2011).

Como ya se ha comentado en este TFG, para que se produzca la síntesis de la cutícula es necesario el transporte de lípidos a través de la membrana plasmática y de la pared celular, dicho transporte es realizado por unos transportadores ubicados en la membrana plasmática de las células epidérmicas, en el caso del mango, este transportador se designó MiWBC11 (MIN106958), el cual, se encuentra más reprimido en las etapas tempranas e intermedias del desarrollo de la fruta, y va en aumento durante la maduración y el almacenamiento (Tafolla-Arellano *et al.*, 2017).

Al igual que en caso del tomate, también se observan enzimas con motivos GDSL, como la cutina sintasa, y que en el mango se llama MiCUS1 (MIN010966), la cual muestra una alta expresión durante el desarrollo temprano de la fruta (Tafolla-Arellano *et al.*, 2017).

4.5.5 Bioactividad y utilización de la cutícula de los frutos carnosos

La cutícula en los frutos, cumple las funciones ya descritas, y además, favorece la dispersión de la semilla y mantiene el sabor (Lara *et al.*, 2019). Entre esas funciones cuticulares, se destaca la defensa contra los patógenos (Comménil *et al.*, 1997; Saladié *et al.*, 2007; Shi *et al.*, 2013), y como la propia cutícula cambia en determinadas situaciones, así, la naranja o el pimiento (*Capsicum annuum* L.) responden a las infecciones fúngicas con un aumento del grosor (Kim *et al.*, 2004). El tomate, cuando es atacado por determinados hongos como *Colletotrichum gloeosporioides* activa genes que incitan la formación de cera cuticular (Alkan *et al.*, 2015). En cambio, las uvas (*Vitis vinífera* L.) infectadas por *Botrytis cinerea* acumulan ácidos grasos saturados de cadena larga para protegerse de ellos (Agudelo-Romero *et al.*, 2015). Esto muestra la plasticidad de adaptación de la cutícula ante diferentes patógenos.

En otro orden, se ha determinado que las cutículas podían tener un papel beneficioso para el ser humano, ya que los triterpenoides aislados de las cáscaras de manzana ejercían una actividad que evitaba que las células cancerosas humanas (hígado, colón y mamas) aumentaran (Trivedi *et al.*, 2019). Asimismo, se les atribuye un papel positivo en los procesos antiinflamatorios, antimicrobianos y cardioprotectores (Dzubak *et al.*, 2006; Szakiel *et al.*, 2012).

En cuanto al comercio, las cutículas, por sus componentes, son una alternativa para las ceras que se producen de manera artificial, gracias al aprovechamiento de ese material no utilizado en las industrias, como pueden ser las cáscaras, cuando se emplean los frutos para la producción del zumo (Li *et al.*, 2015). Las ceras cuticulares pueden ser fuente de numerosos productos industriales biodegradables o de compuestos bioactivos aprovechados en farmacia, cosmética, empaques,

nanorrecubrimientos y en la alimentación (Tedeschi *et al.*, 2018). Gracias a la inexistente toxicidad y alta biodegradabilidad, se muestra como opción de reemplazo de los plásticos que tienen como base el petróleo, ya que los monómeros de cutina son una opción para dar lugar a estos plásticos únicos biodegradables (Domínguez *et al.*, 2017).

5 CONCLUSIONES

Una vez recopilada y examinada la información expuesta en el presente TFG, el análisis de los resultados bibliográficos ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:

- La cutícula vegetal es un biopolímero lipídico que cubre los órganos aéreos no leñosos de las plantas terrestres, que se desarrolló como estructura protectora, durante la colonización de la Tierra, y consta de dos capas principales, la más interna, la cutina, unida a la pared celular y formada por 16C y 18C y sus derivados oxigenados, y la capa más externa, ceras cuticulares, compuesta por ácidos grasos de cadena muy larga y sus derivados.

- La cutícula va a modificar su grosor, su composición, su estructura, dependiendo de las especies de plantas, órganos, etapas de desarrollo y factores ambientales.

- La biosíntesis de la cutícula ocurre en las células epidérmicas, en la que predominan rutas enzimáticas, la cutín-sintetasa (CD1) y paralelamente, mecanismos no enzimáticos como los *cutinsomas*.

- Las plantas evolutivamente distantes, comparten genes que juegan un papel esencial en la síntesis de esta estructura.

- Mantener el contenido hídrico es esencial para las plantas y la cutícula tiene un papel relevante en esta función, además de participar en otras como la protección frente al estrés abiótico y biótico, termorreguladora o autolimpieza.

- En los frutos carnosos, la cutícula es un aislante lipídico dinámico que cambia en respuesta a las etapas de desarrollo y las características ambientales. Su composición va a variar según las distintas especies y cultivares de frutos, influyendo en el mantenimiento de la calidad y vida pos-cosecha, e incluye respuestas al ataque de patógenos y en el desarrollo de trastornos fisiológicos.

- El conocimiento de la cutícula contribuye a dilucidar mecanismos que suministren herramientas para evitar la pérdida de agua y una mejor adaptación de las plantas a la sequía, y más aún en plantas productoras de frutos carnosos, que impulsará esta importante actividad agroeconómica.

CONCLUSIONS

Once the information presented in this TFG has been collected and examined, the analysis of the bibliographic results has allowed us to reach the following conclusions:

- The plant cuticle is a lipid biopolymer that covers the non-woody aerial organs of land plants, which developed as a protective structure during the colonization of the Earth, and consists of two main layers, the innermost, the cutin, attached to the cell wall and formed by 16C and 18C and their oxygenated derivatives, and the outermost layer, cuticular waxes, composed of very long chain fatty acids and their derivatives.

- The cuticle will modify its thickness, its composition, its structure, depending on the species of plants, organs, stages of development and environmental factors.

- Cuticle biosynthesis occurs in epidermal cells, in which enzymatic pathways predominate, cutin-synthetase (CD1) and, in parallel, non-enzymatic mechanisms such as cutinsomes.

- Evolutionarily distant plants share genes that play an essential role in the synthesis of this structure.

- Maintaining the water content is essential for plants and the cuticle plays an important role in this function, also it participates in other functions such as protection against abiotic and biotic stress, thermoregulation or self-cleaning.

- In fleshy fruits, the cuticle is a dynamic lipid insulator that changes in response to developmental stages and environmental characteristics. Its composition will change according to the different fruit species and cultivars, influencing the maintenance of quality and post-harvest life, and includes responses to pathogen attacks and the development of physiological disorders.

- Knowledge of the cuticle contributes to elucidate mechanisms that provide tools to prevent water loss and a better adaptation of plants to drought, and even more so in plants that produce fleshy fruits, which will boost this important agroeconomic activity.

6. BIBLIOGRAFÍA

- **Agudelo-Romero, P., Erban, A., Rego, C., Carbonell-Bejerano, P., Nascimento, T., et al.** 2015. Transcriptome and metabolome reprogramming in *Vitis vinifera* cv. Trincadeira berries upon infection with *Botrytis cinerea*. *J. Exp. Bot.* **66**: 1769-1785.
- **Aharoni, A., Dixit, S., Jetter, R., Thoenes, E., van Arkel, G., et al.** 2004. The shine clade of AP2 domain transcription factors activates wax biosynthesis, alters cuticle properties, and confers drought tolerance when overexpressed in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **16**: 2463-2480.
- **Alba, R., Payton, P., Fei, Z., McQuinn, R., Debbie, P., et al.** 2005. Transcriptome and selected metabolite analyses reveal multiple points of ethylene control during tomato fruit development. *Plant Cell* **17(11)**: 2954-2965.

- **Alfayate, M.C. y Rodríguez, L.** 2014. Anatomy, ultrastructure and histochemical study from aerial parts of *Ceropegia fusca* Bolle (Asclepiadaceae). Plant Biology Europe FESP/EPPO 2014 Congress. Dublin, Ireland.
- **Alkan, N., Friedlander, G., Ment, D., Prusky, D. y Fluhr, R.** 2015. Simultaneous transcriptome analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* and tomato fruit pathosystem reveals novel fungal pathogenicity and fruit defense strategies. *New Phytol.* **205**: 801-815.
- **Aragón, W., Reina-Pinto, J.J. y Serrano, M.** 2017. The intimate talk between plants and microorganisms at the leaf surface. *Exp. J. Bot.* **68**: 5339-5350.
- **Arya, G., Sarkar, S., Manasherova, E., Aharoni, A. y Cohen, H.** 2021. The plant cuticle: An ancient guardian barrier set against long-standing rivals. *Front. Plant Sci.* **12**. doi: 10.3389/fpls.2021.663165.
- **Baker, E.A., Bukovac, M.J. y Hunt, G.M.** 1982. Composition of tomato fruit cuticle as related to fruit growth and development, p. 33-44. *En: Cutler, D.F., Alvin, K.L., Price, C.E. (eds.), The Plant Cuticle.* Academic Press. London.
- **Bargel, H., Koch, K., Cerman, Z. y Neinhuis, C.** 2006. Structure-function relationships of the plant cuticle and cuticular wax—a smart material? *Funct. Plant Biol.* **33**: 893-910.
- **Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., et al.** 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Bot. J. Soc.* **126**: 237-260.
- **Benítez, J., Heredia-Guerrero, J. y Heredia, A.** 2007. Self-Assembly of carboxylic acids and hydroxyl derivatives on mica. A qualitative AFM study. *J. Phys. Chem. C.* **111(26)**: 9465-9470.
- **Bernard, A., Domergue, F., Pascal, S., Jetter, R., Renne, C., et al.** 2012. Reconstitution of plant alkane biosynthesis in yeast demonstrates that *Arabidopsis* eceriferum1 and eceriferum3 are core components of a very-long-chain alkane synthesis complex. *Plant Cell* **24**: 3106-3118.
- **Bernard, A. y Joubès, J.** 2013. *Arabidopsis* cuticular waxes: Advances in synthesis, export and regulation. *Prog. Lipid Res.* **52(1)**: 110-129.
- **Bessire, M., Chassot, C., Jacquat, A.C., Humphry, M., Borel, S., et al.** 2007. A permeable cuticle in *Arabidopsis* leads to a strong resistance to *Botrytis cinerea*. *EMBO J.* **26**: 2158-2168.
- **Bird, D.A.** 2008. The role of ABC transporters in cuticular lipid secretion. *Plant Sci.* **174**: 563-569.
- **Blacklock, B.J. y Jaworski, J.G.** 2006. Substrate specificity of *Arabidopsis* 3-ketoacyl-CoA synthases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **346**: 583-590.
- **Bourdenx, B., Bernard, A., Domergue, F., Pascal, S., Léger, A., et al.** 2011. Overexpression of *Arabidopsis* eceriferum1 promotes wax very-long-chain alkane biosynthesis and influences plant response to biotic and abiotic stresses. *Plant Physiol.* **156(1)**: 29-45.
- **Brodribb, T.J., Carriqui, M., Delzon, S., McAdam, S.A.M. y Holbrook, N.M.** 2020. Advanced vascular function discovered in a widespread moss. *Nat. Plants* **6**: 273-279.
- **Broun, P., Poindexter, P., Osborne, E., Jiang, C.Z. y Riechmann, J.L.** 2004. Win1, a transcriptional activator of epidermal wax accumulation in *Arabidopsis*. *PNAS USA.* **101**: 4706-4711.
- **Buda, G., Barnes, W., Fich, E., Park, S., Yeats, T., et al.** 2013. An ATP binding cassette transporter is required for cuticular wax deposition and desiccation tolerance in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* **25**: 4000-4013.
- **Budke, J.M., Goffinet, B. y Jones, C.S.** 2012. The cuticle on the gametophyte calyptra matures before the sporophyte cuticle in the moss *Funaria hygrometrica* (Funariaceae). *Am J. Bot.* **99**: 14-22.
- **Bukovac, M.J., Rasmussen, H.P. y Shull, V.E.** 1981. The cuticle: surface structure and function. *Scan. Electron. Microsc.* **3**: 213-223.
- **Cameron, K.D., Teece, M.A. y Smart, L.B.** 2006. Increased accumulation of cuticular wax and expression of lipid transfer protein in response to periodic drying events in leaves of tree tobacco. *Plant Physiol.* **140**: 176-183.
- **Casado, C.G. y Heredia, A.** 2001. Self-association of plant wax components: a thermodynamic analysis. *Biomacromolecules* **2**: 407-409.
- **Chen, M.** 2021. The tea plant leaf cuticle: from plant protection to tea quality. *Front. Plant Sci.* **12**. doi: 10.3389/fpls.2021.751547.
- **Chen, M.J., Zhang, Y., Kong, X.R., Du, Z.H., Zhou, H.W., et al.** 2021. Leaf cuticular transpiration barrier organization in tea tree under normal growth conditions. *Front. Plant Sci.* **12**. doi: 10.3389/fpls.2021.655799.
- **Clauss, K., Baumert, A., Nimtz, M., Milkowski, C. y Strack, D.** 2008. Role of a GDSL lipase-like protein as sinapine esterase in Brassicaceae. *Plant J.* **53**: 802-813.
- **Comménil, P., Brunet, L. y Audran, J.C.** 1997. The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *J. Exp. Bot.* **48**: 1599-1607.
- **Domínguez, E., Heredia-Guerrero, J. y Heredia, A.** 2015. Plant cutin genesis: unanswered questions. *Trends Plant Sci.* **20(9)**: 551-558.

- **Domínguez, E., Heredia-Guerrero, J. y Heredia, A.** 2010. The biophysical design of plant cuticles: an overview. *New Phytol.* **189(4)**: 938-949.
- **Domínguez, E., Heredia-Guerrero, J. y Heredia, A.** 2017. The plant cuticle: old challenges, new perspectives. *J. Exp. Bot.* **68(19)**: 5251-5255.
- **Dzubak, P., Hajdúch, M., Vydra, D., Hustová, A., Kvasnica, M., et al.** 2006. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Nat. Prod. Rep.* **23**: 394-411.
- **Edwards, D., Abbott, G.D. y Raven, J.A.** 1996. Cuticles of early land plants: a palaeoecophysiological evaluation, p. 1-31. *En: Kerstiens, G. (eds.), Plant cuticles an integrated functional approach.* Oxford, UK: BIOS Scientific Publishers Ltd.
- **España, L., Heredia-Guerrero, J.A., Reina-Pinto, J.J., Fernández-Muñoz, R., Heredia, A., et al.** 2014. Transient silencing of Chalcone synthase during fruit ripening modifies tomato epidermal cells and cuticle properties. *Plant Physiol.* **166**: 1371-1386.
- **Espelie, K., Dean, B. y Kolattukudy, P.** 1979. Composition of lipid-derived polymers from different anatomical regions of several plant species. *Plant Physiol.* **64(6)**: 1089-1093.
- **Fernández, V., Guzmán-Delgado, P., Graça, J., Santos, S. y Gil, L.** 2016. Cuticle structure in relation to chemical composition: Re-assessing the prevailing model. *Front. Plant Sci.* **7**. doi: 10.3389/fpls.2016.00427.
- **Fernández, V. y Colchero, J.** (2022, enero). Efecto pétalo de rosa: desvelado uno de los mayores enigmas de las superficies biológicas. CONVO. <https://theconversation.com/eshttps://theconversation.com/es>
- **García, J.** 2017. El sector de los cítricos en España. *Distribución y Consumo* **3**: 36-39.
- **Giménez, E., Domínguez, E., Pineda, B., Heredia, A., Moreno V., et al.** 2015. Transcriptional activity of the mads box Arlequin/tomato AGAMOUS-LIKE1 gene is required for cuticle development of tomato fruit. *Plant Physiol.* **168(3)**: 1036-1048.
- **Giménez, E., Pineda, B., Capel, J., Antón, M.T., Atarés A., et al.** 2010. Functional analysis of the Arlequin mutant corroborates the essential role of the Arlequin/TAGL1 gene during reproductive development of tomato. *PLoS ONE* **5**: e14427. doi: 10.1371/journal.pone.0014427.
- **Girard, A., Mounet, F., Lemaire-Chamley, M., Gaillard, C., Elmorjani, K., et al.** 2012. Tomato GDSL1 Is required for cutin deposition in the fruit cuticle. *Plant Cell* **24(7)**: 3119-3134.
- **Gobierno de España. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.** 2021. Cifras del sector de Frutas y Hortalizas. https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/cifrasdelsectorfyhactualizado2020definitivo-junio2021_tcm30-563965.pdf
- **Guignard, G.** 2019. Thirty-three years (1986-2019) of fossil plant cuticle studies using transmission electron microscopy: A review. *Rev. Palaeobot. Palynol.* **271(6)**. doi:10.1016/j.revpalbo.2019.07.002
- **Heredia, A.** 2003. Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Bioch. Biophys. Acta* **1620**: 1-7.
- **Hong, J.K., Choi, H.W., Hwang, I.S., Kim, D.S., Kim, N.H., et al.** 2008. Function of a novel GDSL-type pepper lipase gene, CaGLIP1, in disease susceptibility and abiotic stress tolerance. *Planta* **227**: 539-558.
- **Hong, L., Brown, J., Segerson, N., Rose, J. y Roeder, A.** 2017. Cutin synthase 2 maintains progressively developing cuticular ridges in *Arabidopsis* sepals. *Mol. Plant Pathol.* **10(4)**: 560-574.
- **Hunt, G.M. y Baker, E.A.** 1980. Phenolic constituents of tomato fruit cuticles. *Phytochem.* **19(5)**: 1415-1419.
- **Iglesias-Castellarnau, I. y Carbó-Pericay, J.** 2018. El cultivo del manzano en España: situación actual e innovación varietal. <https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/208474-El-cultivo-del-manzano-en-Espana-situacion-actual-e-innovacion-varietal.html>
- **Jeffree, C.** 1996. Structure and ontogeny of plant cuticles, p. 33-82. *En: Kerstiens, G. (eds.), Plant Cuticles: An Integrated Funtional Approach.* Oxford: Bios Scientific Publishers.
- **Jeffree, C.E.** 2006. The fine structure of the plant cuticle, p. 11-110. *En: Riederer, M. y Müller, C. (eds.), Biology of the Plant Cuticle.* Julius-vonSachs-Institut, für Biowissenschaften Universität Würzburg, Germany.
- **Jetter, R., Kunst, L. y Samuels, A.L.** 2006. Composition of plant cuticular waxes, p. 145-181. *En: Riederer, M. y Müller, C., (eds.), Biology of the plant cuticle.* Oxford, Blackwell.
- **Jiang Y., Morley K.L., Schrag J.D. y Kazlauskas, R.J.** 2011. Different active-site loop orientation in serine hydrolases versus acyltransferases. *ChemBioChem* **12**: 768-776.
- **Khanal, B., Grimm, E., Finger, S., Blume, A. y Knoche, M.** 2013. Intracuticular wax fixes and restricts strain in leaf and fruit cuticles. *New Phytol.* **200(1)**: 134-143.
- **Khanal, B. y Knoche, M.** 2017. Mechanical properties of cuticles and their primary determinants. *J. Exp. Bot.* **68(19)**: 5351-5367.

- **Kim, K.H., Yoon, J.B., Park, H.G., Park, E.W. y Kim, Y.H.** 2004. Structural modifications and programmed cell death of chili pepper fruit related to resistance responses to *Colletotrichum gloeosporioides* infection. *Phytopathology* **94**: 1295-1304.
- **Klibanov, A.M.** 2001. Improving enzymes by using them in organic solvents. *Nature* **409**: 241-246.
- **Knoche, M., Beyer, M., Peschel, S., Oparlakov, B. y Bukovac, M.J.** 2004. Changes in strain and deposition of cuticle in developing sweet cherry fruit. *Plant Physiol.* **120**: 667-677.
- **Koch, K. y Barthlott, W.** 2009. Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials. *Fil. Trans. R. Soc. A* **367**: 1487-1509.
- **Kolattukudy, P.E.** 1981. Structure, biosynthesis and biodegradation of cutin and suberin. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **32**: 539-567.
- **Kong, L., Liu, Y., Zhi, P., Wang, X., Xu, B., et al.** 2020. Origins and evolution of cuticle biosynthetic machinery in land plants. *Plant Physiol.* **184(4)**: 1998-2010.
- **Kunst, L. y Samuels, L.** 2003. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Prog. Lipid Res.* **42**: 51-80.
- **Kutschera, U., y Niklas, K.J.** 2007. The epidermal-growth-control theory of stem elongation: an old and a new perspective. *J. Plant Physiol.* **164**: 1395-1409.
- **Kwon, S.J., Jin, H.C., Lee, S., Nam, M.H., Chung, J.H., et al.** 2009. GDSL lipase-like 1 regulates systemic resistance associated with ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Plant J.* **58**: 235-245.
- **Lara, I., Belge, B. y Goulao, L.** 2015. A Focus on the biosynthesis and composition of cuticle in fruits. *J. Agric. Food Chem.* **63(16)**: 4005-4019.
- **Lara, I., Heredia, A. y Domínguez, E.** 2019. Shelf life potential and the fruit cuticle: The unexpected player. *Front. Plant Sci.* **10**. doi: 10.3389/fpls.2019.00770.
- **Lashbrooke, J., Aharoni, A. y Costa, F.** 2015. Genome investigation suggests MdSHN3, an APETALA2-domain transcription factor gene, to be a positive regulator of apple fruit cuticle formation and an inhibitor of russet development. *J. Exp. Bot.* **66(21)**: 6579-6589.
- **Lee, D.S., Kim, B.K., Kwon, S.J., Jin, H.C. y Park, O.K.** 2009b. *Arabidopsis* GDSL lipase 2 plays a role in pathogen defense via negative regulation of auxin signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **379**: 1038-1042.
- **Lee, S.B., Go, Y.S., Bae, H.J., Park, J.H., Cho, S.H., et al.** 2009a. Disruption of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein gene altered cuticular lipid composition, increased plastoglobules, and enhanced susceptibility to infection by the fungal pathogen *Alternaria brassicicola*. *Plant Physiol.* **150**: 42-54.
- **Lee, S., Yang, S., Pandey, G., Kim, M., Hyoung, S., et al.** 2019. Occurrence of land-plant-specific glycerol-3-phosphateacyltransferases is essential for cuticle formation and gametophore development in *Physcomitrella patens*. *New Phytol.* **225**: 2468-2483.
- **Lee, S. y Suh, M.** 2015. Advances in the understanding of cuticular waxes in *Arabidopsis thaliana* and crop species. *Plant Cell Rep.* **34(4)**: 557-572.
- **Leide, J., Hildebrandt, U., Reussing, K., Riederer, M. y Vogg, G.** 2007. The developmental pattern of tomato fruit wax accumulation and its impact on cuticular transpiration barrier properties: effects of a deficiency in a β -ketoacylcoenzyme A synthase (LeCER6). *Plant Physiol.* **144**: 1667-1679.
- **Leliaert, F., Verbruggen, H. y Zechman, F.W.** 2011. Into the deep: new discoveries at the base of the green plant phylogeny. *Bioessays* **33**: 683-692.
- **Li, J., Guo, Y., Li, Z., Lin, Y., Liu, L., et al.** 2015. Supercritical carbon dioxide and hexane extraction of wax from apple peel pomace: content, composition, and thermal properties. *Sep. Sci. Technol.* **50**: 2230-2237.
- **López Casado, G. M.** 2006. Biomecánica de la epidermis y la cutícula del fruto de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y su relación con el agrietado. Universidad de Málaga. Facultad de Ciencias, departamento de biología molecular y bioquímica. Título de doctor.
- **Lu, S., Song, T., Kosma, D.K., Parsons, E.P., Rowland, O., et al.** 2009. *Arabidopsis* CER8 encodes long-chain acyl CoA synthetase 1 (LACS1) that has overlapping functions with LACS2 in plant wax and cutin synthesis. *Plant J.* **59**: 553-564.
- **Matas, A., Cuartero, J. y Heredia, A.** 2004. Phase transitions in the biopolyester cutin isolated from tomato fruit cuticle. *Thermoch. Acta* **409**: 165-169.
- **Matas, A.J., López-Casado, G., Cuartero, J. y Heredia, A.** 2005. Relative humidity and temperature modify the mechanical properties of isolated tomato fruit cuticles. *J.Bot.* **92**: 462-468.
- **Matas, A.J., Yeats, T.H., Buda, G.J., Zheng, Y., Chatterjee, S., et al.** 2011. Tissue and cell-type specific transcriptome profiling of expanding tomato fruit provides insights into metabolic and regulatory specialization and cuticle formation. *Plant Cell* **23**: 3893-3910.

- Mazurek, S., Garroum, I., Daraspe, J., De Bellis, D., Olsson V., et al. 2016. Connecting the molecular structure of cutin to ultrastructure and physical properties of the cuticle in petals of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **173(2)**: 1146-1163.
- McDonald, R., Nordby, H. y McCollum, T. 1993. Epicuticular wax morphology and composition are related to grapefruit chilling injury. *Hortscience* **28(4)**: 311-312.
- Moggia, C., Graell, J., Lara, I., Schmeda-Hirschmann, G., Thomas-Valdés, S., et al. 2016. Fruit characteristics and cuticle triterpenes as related to postharvest quality of highbush blueberries. *Sci. Hortic.* **211**: 449-457.
- Morocho, T.C. y Reinoso, S.I. 2017. Importancia del consumo de frutas y verduras en la alimentación humana. Ecuador: Universidad Estatal de Milagros. Facultad de Ciencias de la Salud. Título de Grado.
- Mühlhausen, S. y Kollmar, M. 2013. Whole genome duplication events in plant evolution reconstructed and predicted using myosin motor proteins. *BMC Evol. Biol.* **13**. doi: 10.1186/1471-2148-13-202.
- Nawrath, C. 2002. The biopolymers cutin and suberin. *The Arabidopsis book*, **1**: e0021. doi:10.1199/tab.0021.
- Nawrath, C. y Poirier, Y. 2008. Pathways for the synthesis of polyesters in plants: cutin, suberin, and polyhydroxyalkanoates, p. 33-44. *En: Bohnert, H. J.; Nguyen, H. y Lewis, N.G., (eds.), Advances in Plant Biochemistry and Molecular Biology I. Bioengineering and Molecular Biology of Plant Pathways.* Elsevier: Amsterdam, The 848 Netherlands, c.
- Niklas, K.J. 1976. Chemical examination of some non-vascular Paleozoic plants. *Brittonia* **28**: 113-37.
- Oh, I.S., Park, A.R., Bae, M.S., Kwon, S.J., Kim, Y.S., et al. 2005. Secretome analysis reveals an *Arabidopsis* lipase involved in defense against *Alternaria brassicicola*. *Plant Cell* **17**: 2832-2847.
- Panikashvili, D., Savaldi-Goldstein, S., Mandel, T., Yifhar, T., Franke, R.B., et al. 2007. The *Arabidopsis* desperado/AtWBC11 transporter is required for cutin and wax secretion. *Plant Physiol.* **145**: 1345-1360.
- Panikashvili, D., Shi, J.X., Schreiber, L. y Aharoni, A. 2011. The *Arabidopsis* ABCG13 transporter is required for flower cuticle secretion and patterning of the petal epidermis. *New Phytol.* **190**: 113-124.
- Parsons, E.P., Popovskiy, S., Lohrey, G.T., Lü, S., Alkalai-Tuvia, S., et al. 2012. Fruit cuticle lipid composition and fruit post-harvest water loss in an advanced backcross generation of pepper (*Capsicum sp.*). *Physiol. Plant.* **146**: 15-25.
- Peláez, A. 2019. Málaga sitúa a España como primer país productor de mango de la Unión Europea. <https://www.diariosur.es/economia/agroalimentacion/malaga-situa-espana-20190829172344-nt.html>.
- Pérez, C. 2018. El cultivo de tomate en el Sureste de España. Una perspectiva de los agricultores. Universidad Miguel Hernández de Elche. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Grado en Ingeniería Agroalimentaria y Agroambiental. Título de Grado.
- Petit, J., Bres, C., Just, D., Garcia, V., Mauxion, J.P., et al. 2014. Analyses of tomato fruit brightness mutants uncover both cutin-deficient and cutin-abundant mutants and a new hypomorphic allele of GDSL lipase. *Plant Physiol.* **164(2)**: 888-906.
- Petit-Jiménez, D., Carvallo-Ruiz, T., González-León, A. y Sotelo-Mundo, R. 2009. Chemical composition of the cuticular waxes of the fruit of *Mangifera indica* L. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha* **10(1)**: 14-25.
- Petit-Jiménez, D., González-León, A., Sotelo-Mundo, R. y Báez-Sañudo, R. 2007. Cuticle changes during fruit ontogeny of *Mangifera indica* L. *Rev. Fitotec. Mex.* **30(1)**: 51-60.
- Pfündel, E.E., Agati, G. y Cerovic, Z.C. 2006. Optical properties of plant surfaces, p. 216-249. *En: Riederer, M. y Müller, C. (eds.), Biology of the Plant Cuticle.* Oxford, Blackwell Publishing.
- Philippe, G., De Bellis, D., Rose, J.K.C. y Nawrath, C. 2022. Trafficking processes and secretion pathways underlying the formation of plant cuticles. *Front. Plant Sci.* **12**. doi: 10.3389/fpls.2021.786874
- Pighin, J.A., Zheng, H., Balakshin, L.J., Goodman, I.P., Western, T.L., et al. 2004. Plant cuticular lipid export requires an ABC transporter. *Science* **306**: 702-704.
- Reina-Pinto, J. y Yephremov, A. 2009. Surface lipids and plant defenses. *Plant Physiol. Biochem.* **47(6)**: 540-549.
- Renault, H., Alber, A., Horst, N.A., Basilio-Lopes, A., Fich, E.A., et al. 2017. A phenol-enriched cuticle is ancestral to lignin evolution in land plants. *Nat. Commun.* **8**. doi:10.1038/ncomms14713.
- Reynoud, N., Petit, J., Bres, C., Lahaye, M., Rothan, C., et al. 2021. The complex architecture of plant cuticles and its relation to multiple biological functions. *Front. Plant Sci.* **12**. doi: 10.3389/fpls.2021.782773.
- Riederer, M. y Schreiber, L. 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *J. Exp. Bot.* **52**: 2023-2032.
- Rogiers, S., Hatfield, J., Gunta, V., White, R. y Keller, M. 2004. Grape berry cv. Shiraz epicuticular wax and transpiration during ripening and preharvest weight loss. *Amer. J. Enol. Vitic.* **55**: 121- 127.
- Romero, P. y Lafuente, M. 2022. Ethylene-driven changes in epicuticular wax metabolism in citrus fruit. *Food Chem.* **372**. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131320.

- **Saladié, M., Matas, A.J., Isaacson, T., Jenks, M.A., Goodwin, S.M., et al.** 2007. A reevaluation of the key factors that influence tomato fruit softening and integrity. *Plant Physiol.* **144**: 1012-1028.
- **Samuels, L., Kunst, L. y Jetter, R.** 2008. Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**: 683-707.
- **Schönherr, J.** 1982. Resistance of plant surfaces to water loss: transport properties of cutin, suberin and associated lipids p. 153-179. *En: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B. y Ziegler H. (eds.), Encyclopedia of plant physiology.* Springer Verlag, Berlin.
- **Schreiber, L.** 2010. Transport barriers made of cutin, suberin and associated waxes. *Trends Plant Sci.* **15**: 546-553.
- **Seale, M.** 2020. The fat of the land: cuticle formation in terrestrial plants. *Plant Physiol.* **184(4)**: 1622-1624.
- **Segado, P.** 2017. Ultraestructura de la epidermis del fruto de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) durante el desarrollo. Universidad de Málaga, Facultad de Ciencias. Tesis doctoral.
- **Shepherd, T. y Wynne Griffiths, D.** 2006. The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytol.* **171(3)**: 469-499.
- **Shi, J.X., Adato, A., Alkan, N., He, Y., Lashbrooke, J., et al.** 2013. The tomato SISHINE3 transcription factor regulates fruit cuticle formation and epidermal patterning. *New Phytol.* **197**: 468-480.
- **Skrzydel, J., Borowska-Wykręt, D. y Kwiatkowska, D.** 2021. Structure, assembly and function of cuticle from mechanical perspective with special focus on perianth. *Int. J. Mol. Sci.* **22(8)**. doi: 10.3390/ijms22084160.
- **Stark, R.E., Yan, B., Stanley-Fernández, S.M., Chen, Z.J., et al.** 2008. NMR characterization of hydration and thermal stress in tomato fruit cuticles. *Phytochemistry* **69**: 2689-2695.
- **Stępiński, D., Kwiatkowska, M., Wojtczak, A., Polit, J., Domínguez, E., et al.** 2020. The role of *cutinsomes* in plant cuticle formation. *Cells* **9(8)**. doi: 10.3390/cells9081778.
- **Suh, M.C., Samuels, A.L., Jetter, R., Kunst, L., Pollard, M., et al.** 2005. Cuticular lipid composition, surface structure, and gene expression in *Arabidopsis* stem epidermis. *Plant Physiol.* **139**:1649-1665.
- **Szakiel, A., Paczkowski, C., Pensec, F. y Bertsch, C.** 2012. Fruit cuticular waxes as a source of biologically active triterpenoids. *Phytochem. Rev.* **11**: 263-284.
- **Tadeo, F.** 2003. *Histología y citología de cítricos.* [Valencia]: Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- **Tafolla-Arellano, J., González-León, A., Tiznado-Hernández, M., Zacarías-García, L. y Báez-Sañudo, R.** 2013. Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. *Rev. Fitotec. Mex.* **36(1)**: 3-12.
- **Tafolla-Arellano, J., Zheng, Y., Sun, H., Jiao, C., Ruiz-May, E., et al.** 2017. Transcriptome analysis of mango (*Mangifera indica* L.) fruit epidermal peel to identify putative cuticle-associated genes. *Sci. Rep.* **7(1)**. doi: 10.1038/srep46163.
- **Takeda, S., Iwasaki, A., Matsumoto, N., Uemura, T., Tatematsu, K., et al.** 2013. Physical interaction of floral organs controls petal morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **161**: 1242-1250.
- **Tang, S., Chen, N., Song, B., He, J., Zhou, Y., et al.** 2019. Compositional and transcriptomic analysis associated with cuticle lipid production on rosette and inflorescence stem leaves in the extremophyte *Thellungiella salsuginea*. *Plant Physiol.* **165**: 584-603.
- **Tedeschi, G., Benitez, J.J., Ceseracciu, L., Dastmalchi, K., Itin, B., et al.** 2018. Sustainable fabrication of plant cuticle-like packaging films from tomato pomace agro-waste, beeswax, and alginate. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **6**: 14955-14966.
- **Thompson, D.S.** 2001. Extensiometric determination of the rheological properties of the epidermis of growing tomato fruit. *J. Exp. Bot.* **52**: 1291-1301.
- **Trivedi, P., Nguyen, N., Hykkerud, A., Häggman, H., Martinussen, I., et al.** 2019. Developmental and environmental regulation of cuticular wax biosynthesis in fleshy fruits. *Front. Plant Sci.* **10**. doi: 10.3389/fpls.2019.00431.
- **Tsubaki, S., Sugimura, K., Teramoto, Y., Yonemori, K. y Azuma, J.** 2013. Cuticular membrane of *Fuyu persimmon* fruit is strengthened by triterpenoid nano-fillers. *PLoS One* **8(9)**: e75275. doi: 10.1371/journal.pone.0075275.
- **Updegraff, E.P., Zhao, F. y Preuss, D.** 2009. The extracellular lipase EXL4 is required for efficient hydration of *Arabidopsis* pollen. *Sex. Plant Reprod.* **22**: 197-204.
- **Villamil, M., Verano, C. y Murica, L.** 2019. Análisis de las adaptaciones de los musgos y su importancia en la historia evolutiva de este grupo. Universidad Militar Nueva Granada.
- **Vogg, G., Fischer, S., Leide, J., Emmanuel, E., Jetter, R., et al.** 2004. Tomato fruit cuticular waxes and their effects on transpiration barrier properties: functional characterization of a mutant deficient in a very-long-chain fatty acid-ketoacyl-CoA synthase. *J. Exp. Bot.* **55(401)**: 1401-1410.

- Vrebalov, J., Pan, I.L., Arroyo, A.J., McQuinn, R., Chung, M., et al. 2009. Fleshy fruit expansion and ripening are regulated by the tomato shatterproof gene TAGL1. *Plant Cell* **21**: 3041-3062.
- Wang, J., Chen, J., Wang, S., Chen, L., Ma, C., et al. 2020. Repressed gene expression of photosynthetic antenna proteins associated with yellow leaf variation as revealed by bulked segregant RNA-seq in tea plant *Camellia sinensis*. *Agric. Food Chem.* **68**: 8068-8079.
- Wang, J., Hao, H., Liu, R., Ma, Q., Xu, J., et al. 2014. Comparative analysis of surface wax in mature fruits between Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) and “Newhall” navel orange (*Citrus sinensis*) from the perspective of crystal morphology, chemical composition and key gene expression. *Food Chem.* **153**: 177-185.
- Wang, J., Sun, L., Xie, L., He, Y., Luo, T., et al. 2016. Regulation of cuticle formation during fruit development and ripening in ‘Newhall’ navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck) revealed by transcriptomic and metabolomic profiling. *Plant Sci.* **243**: 131-144.
- Wang, W., Zhang, Y., Xu, C., Ren, J., Liu, X., et al. 2015. Cucumber eceriferum1 (CsCER1), which influences the cuticle properties and drought tolerance of cucumber, plays a key role in VLC alkanes biosynthesis. *Plant Mol. Biol.* **87**: 219-233.
- Ward, G. y Nussinovitch, A. 1996. Nondestructive measurement of peel gloss and roughness to determine tomato fruit ripening and chilling injury. *J. Food Sci.* **61**: 383-387.
- Waters, E.R. 2003. Molecular adaptation and the origin of land plants. *Mol. Phylogenetics Evol.* **29**: 456-463.
- Weng, H., Molina, I. Shockey, J. y Browse, J. 2010. Organ fusion and defective cuticle function in a LACS1 LACS2 double mutant of *Arabidopsis*. *Planta* **231(5)**: 1089-1100.
- Wiedemann, P. y Neinhuis, C. 1998. Biomechanics of isolated plant cuticles. *Acta Bot. Hung.* **111(1)**: 28-34.
- Wu, G.Z. y Xue, H.W. 2010. *Arabidopsis* β -ketoacyl-[acyl carrier protein] synthase I is crucial for fatty acid synthesis and plays a role in chloroplast division and embryo development. *Plant Cell* **22**: 3726-3744.
- Xue, D., Zhang, X., Lu, X., Chen, G. y Chen, Z. 2017. Molecular and evolutionary mechanisms of cuticular wax for plant drought tolerance. *Front. Plant Sci.* **8**. doi: 10.3389/fpls.2017.00621.
- Yang, W., Pollard, M., Li-Beisson, Y., Beisson, F., Feig, M., et al. 2010. A distinct type of glycerol-3-phosphate acyltransferase with sn-2 preference and phosphatase activity producing 2-monoacylglycerol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **107**: 12040-12045.
- Yeats, T.H., Buda, G.J., Wang, Z., Chehanovsky, N., Moyle, L.C., et al. 2012. The fruit cuticles of wild tomato species exhibit architectural and chemical diversity, providing a new model for studying the evolution of cuticle function. *Plant J.* **69**: 655-666.
- Yeats, T.H., Howe, K.J., Matas, A.J., Buda, G.J., Thannhauser, T.W., et al. 2010. Mining the surface proteome of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit for proteins associated with cuticle biogenesis. *J. Exp. Bot.* **61**: 3759-3771.
- Yeats, T.H., Huang, W., Chatterjee, S., Viart, H.M., Clausen, M.H., et al. 2014. Tomato Cutin Deficient 1 (CD1) and putative orthologs comprise an ancient family of cutin synthase-like (CUS) proteins that are conserved among land plants. *Plant J.* **77**: 667-675.
- Yeats, T. y Rose, J. 2013. The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiol.* **163(1)**: 5-20.
- Zhang, Y., Chen, X.B., Du, Z.H., Zhang, W.J., Devkota, A.R., et al. 2020. A proposed method for simultaneous measurement of cuticular transpiration from different leaf surfaces in *Camellia sinensis*. *Front. Plant Sci.* **11**. doi: 10.3389/fpls.2020.00420.
- Zhang, Y., Du, Z.H., Han, Y.T., Chen, X.B., Kong, X.R., et al. 2021. Plasticity of the cuticular transpiration barrier in response to water shortage and resupply in *Camellia sinensis*: a role of cuticular waxes. *Front. Plant Sci.* **11**. doi: 10.3389/fpls.2020.600069.
- Zhao, Z., Yang, X., Lü, S., Fan, J., Opiyo, S., et al. 2020. Deciphering the novel role of AtMIN7 in cuticle formation and defense against the bacterial pathogen infection. *Int. J. Mol. Sci.* **21(15)**. doi: 10.3390/ijms21155547.
- Zhou, S., Sauv e, R. y Thannhauser, T.W. 2009. Proteome changes induced by aluminium stress in tomato roots. *J. Exp. Bot.* **60**: 1849-1857.

