

DOMINIK TOMASZEWSKI

*Instytut Dendrologii PAN
Parkowa 5, 62-035 Kórnik
e-mail: dominito@man.poznan.pl*

CZYM POKRYTE SĄ ROŚLINY? O KUTYKULI I WARSTWIE WOSKÓW EPIKUTYKULARNYCH

Wręcz trudno sobie wyobrazić, jak wielka jest powierzchnia ciał roślin wyższych kontaktująca się z atmosferą! Jak obliczono, wynosi ona 1 200 000 000 km², co oznacza, że jest ośmiokrotnie większa niż obszar wszystkich kontynentów (RIEDERER i SCHREIBER 1995). Powierzchnię tę buduje, wydawałoby się, niepozorna, dość cienka, ale bardzo istotna dla rośliny struktura, epiderma. To dzięki niej roślina kontaktuje się ze światem zewnętrznym, to ona umożliwia odbieranie i reagowanie na różnorodne czynniki fizyczne i biologiczne. Światło, woda, ciepło, owoady, grzyby czy zanieczyszczenia: wszystko to wpływa na organizm. Biorąc więc pod uwagę sumaryczną powierzchnię roślin na Ziemi, łatwo zrozumieć, iż jest to struktura o ogromnym znaczeniu w skali globalnej.

Epiderma to tkanka tworzona przez powierzchnięwarstwą komórek organów o budowie pierwotnej. Cechą charakterystyczną komórek epidermalnych jest obecność kutykuli pokrywającej ich zewnętrzną ścianę peryklinalną. Znajduje się ona na powierzchni w zasadzie wszystkich organów nadziemnych roślin (w tym także roślin wodnych), z wyjątkiem pędów drewniejących i miejsc zranień (KERSTIENS 1996, HEJNOWICZ 2002). Tworzy ona ciągłą warstwę na powierzchni rośliny, a jedynymi miejscami, w których owa ciągłość zostaje przerywana, są pory między komórkami szparkowymi (kutykula pokrywa także listwy szparkowe). Sięga ona także głębiej do wnętrza poru, a następnie przechodzi w wyściółkę kutykularną na komórkach miękiszowych (HEJNOWICZ 2002); tam jednakże zmienia się jej natura chemiczna (JEFFREE 1996).

Modele budowy kutykuli proponowane były wielokrotnie (por. HOLLOWAY 1982a, KURCZYŃSKA 2002). Najbardziej trafny wydaje się jednak model przedstawiony przez JEFFREEGO (1996). Zgodnie z nim na zewnątrz od ściany komórkowej (Ryc. 1E, por. także Ryc. 2) leży warstwa kutykularna (Ryc. 1D), która zbudowana jest z substancji lipidowych oraz polisacharydów (celuloza, pektyny). Warstwę tę można podzielić na wewnętrzną i zewnętrzną (odpowiednio bliżej i dalej ściany komórkowej). Podział ten nie ma charakteru uniwersalnego (nie znajduje zastosowania u wszystkich gatunków), a opiera się na różnym stosunku substancji lipidowych do polisacharydów: w części wewnętrznej przeważają polisacharydy, w zewnętrznej – lipidy (KURCZYŃSKA 2002). Nad warstwą kutykularną leży kutykula właściwa (Ryc. 1C), w której nie występują już polisacharydy i która u większości gatunków ma budowę warstwowaną. Udział wosków kutykularnych, w porównaniu z głębiej leżącymi warstwami, jest w niej większy. Nad kutykulą właściwą znajduje się warstwa wosku epikutykularnego, często zbudowana z dwóch części. Kutykulę właściwą pokrywa bezpośrednio amorficzny film woskowy (Ryc. 1B), a na nim może występować wosk w postaci bardziej uporządkowanej, tzn. struktur semikrystalicznych lub krystalicznych (Ryc. 1A). BARTHLOTT i WOLLENWEBER (1981) sugerowali, że struktury te należałoby nazywać krystaloidami, ze względu na ich formę zbliżoną do krystalicznej. Ostatnie lata przyniosły nowe dane potwierdzające krystaliczną naturę przynajmniej niektórych typów struktur woskowych (MEUSEL i współaut. 2000a). U części roślin brak jest



Ryc. 1. Model budowy kutykuli (wg JEFFREEGO 1996, zmieniona).

A – воск epikutularny w postaci krystaloidów; B – воск epikutularny w postaci amorficznego filmu; C – kutykula właściwa; D – warstwa kutykularna; E – wtórna ściana komórkowa).

struktur woskowych; u nich warstwa wosku epikutularnego ogranicza się do amorficznego, często bardzo cienkiego, filmu (BARTHOLOTT i współaut. 1998).

Szczególne budowa chemiczna kutykuli umożliwia jej specyficzne funkcjonowanie, o którym KERSTIENS (1996) pisał: „Kutykula jest tak zaprojektowana, aby substancje rozpuszczone i wodę zatrzymywać wewnątrz, a wrogów na zewnątrz”.

Podstawowymi składnikami kutykuli są: kutyna lub kutan [u różnych gatunków stwierdzono obecność bądź samej kutyny, bądź kutyny i kutanu, bądź samego kutanu (JEFFREE 1996)], polisacharydy w postaci celulozy i pektyn oraz woski.

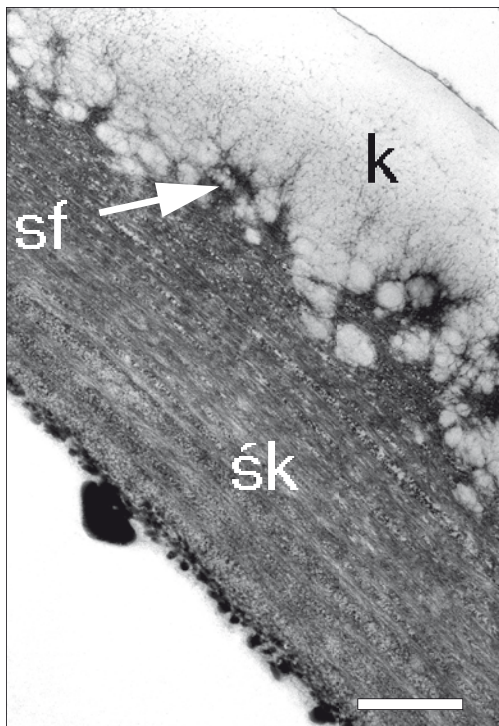
Kutyna nie jest nazwą konkretnego związku chemicznego, lecz odnosi się do rozbudowanego biopolimeru, który występuje na zewnętrznej powierzchni komórek epidermal-

nych. Polimer ten ma na ogół bardzo dużą masę cząsteczkową, a tworzą go monomery – pochodne kwasów alifatycznych o długości łańcucha C_{16} lub C_{18} , połączone wiązaniami estrowymi (HOLLOWAY 1982b, JEFFREE 1996). Kutyna różnych gatunków roślin może odznaczać się specyficznym składem monomerów. Na jego podstawie dają się klasyfikować różne typy kutyny, jednakże podział ten nie ma zastosowania chemotaksonomicznego, ponieważ rośliny należące do różnych, często zupełnie ze sobą niespokrewnionych grup mogą charakteryzować się podobnym składem jednostek tworzących ten biopolimer (HOLLOWAY 1982b).

Kutan także jest biopolimerem, lecz jest odporny na hydrolizę zasadową, która normalnie rozrywa wiązania estrowe w kutynie. Badania nad określeniem jego struktury dopiero trwają i są źródłem wielu kontrowersji (np. DESHMUKH i współaut. 2005). Ostatnie doniesienia sugerują, że występowanie kutanu może być związane z przystosowaniem roślin o fotosyntezie typu CAM (ang. crassulacean acid metabolism) do życia w siedliskach, w których występuje niedobór wody i konieczna jest wyjątkowo dobra ochrona przed jej utratą (BOOM i współaut. 2005).

Celuloza i pektyny tworzą polisacharydową sieć, którą wypełniają kutyna i woski. Im bliżej komórki epidermalnej, tym udział polisacharydów jest większy (Ryc. 2). W głębszej części kutykula przechodzi w lamellę pektynową, a ta w ścianę komórkową, choć w dojrzałej epidermie lamelli może nie być, zwłaszcza u gatunków o grubej kutykuli. Lamella pektynowa jest ciągła z blaszką środkową między ścianami antyklinalnymi (JEFFREE 1996).

Woski to szeroka grupa związków chemicznych występujących w kutykuli i na jej powierzchni, a ich cechą wspólną jest to, że z macierzy utworzonej z kutyny, kutanu i polisacharydów można je wyekstrahować rozpuszczalnikami organicznymi. Ze względu na umiejscowienie dzieli się je na woski epikutularne (znajdujące się na powierzchni kutykuli) i intrakutykularne (wewnątrz wspomnianej macierzy) (KERSTIENS 1996). Woski te różnią się nie tylko miejscem występowania, ale i składem chemicznym (JETTER i współaut. 2000). Przez wiele lat badania chemiczne warstwy woskowej opierały się na ocenie składu mieszaniny obu grup, ponieważ podczas ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi, np. chloroformem, wypłukiwane są wszelkie rozpuszczalne lipidy z



Ryc. 2. Ultrastruktura zewnętrznej ściany peryklinalnej właściwej komórki epidermalnej i kutykuli na stronie odosiowej liścia *Salix alba*.

k – kutykula; sf – substancje fibrylarne; šk – ściana komórkowa; skala 0,4 μm).

całej kutykuli. W latach 80. XX w. wprowadzono, stosowaną do dziś, analizę indywidualną dzięki zastosowaniu metod fizycznej izolacji obu warstw (RENTSCHLER 1982, ENSIKAT i współaut. 2000, JETTER i współaut. 2000, JETTER i SCHÄFFER 2001, RIEDEL i współaut. 2003, GNIWOTTA i współaut. 2005).

Skład chemiczny wosków kutykularnych jest bardzo zróżnicowany, jednak związki je tworzące można pogrupować w dziewięć głównych klas (za: BIANCHI 1995):

- węglowodory (n-alkany, alkany o łańcuchach rozgałęzionych i alkeny) to powszechnie występująca w woskach powierzchniowych grupa związków, których udział tylko w rzadkich przypadkach przekracza 50% (np. u *Prunus laurocerasus* nawet 72–88% (STAMMITTI i współaut. 1996, JETTER i współaut. 2000)). Istnieją doniesienia sugerujące, że związki odgrywają istotną rolę w ograniczaniu transpiracji przez kutykulę (OLIVEIRA i współaut. 2003);

- alkohole pierwszorzędowe stanowią grupę występującą powszechnie, a ich udział w ogólnej masie wosku wynosi od ilości śladowych do wartości przekraczających 60%;

- aldehydy początkowo uznawane były za klasę związków o niewielkim udziale w bu-

dowie wosków, jednak wyniki późniejszych badań zweryfikowały ten pogląd. Błąd obliczeń wynikał z faktu, że podczas prowadzenia analiz łatwo są one utleniane do kwasów (BIANCHI 1995). Jeśli natomiast występują w formie spolimeryzowanej, zaniżony wynik jest efektem metodycznych trudności w ich ekstrakcji. W konsekwencji rzeczywisty ich udział w budowaniu wosków może być zaniżony nawet dziesięciokrotnie (HAAS i współaut. 2001);

- kwasy tłuszczowe występują w formie związków o łańcuchach prostych i rozgałęzionych, nasyconych i nienasyconych (te drugie przeważają). Ich procentowy udział w tworzeniu wosków jest znaczny; u sorga dochodzi do 40%;

- diole rzadko spotyka się w formie wolnej, zazwyczaj występują ich formy zestryfikowane w postaci diestrów lub estolidów;

- estry (monoestry, diestry, poliestry, estolidy i glicerydy) występują powszechnie, a ich udział w tworzeniu wosków może dochodzić nawet do 80%;

- β -diketony i podstawione β -diketony to ważna grupa związków, której udział w masie wosku może sięgać nawet 67–80%;

- terpenoidy – postuluje się (OLIVEIRA i współaut. 2003), że odgrywają istotniejszą rolę w oddziaływaniu na owady żywiące się liśćmi niż w tworzeniu bariery ograniczającej transpirację przez kutykulę;

- związki fenolowe.

U wielu roślin obserwuje się zmiany w składzie wosku epikutykularnego następujące w czasie rozwoju badanych organów (GÜLZ i BOOR 1992, GÜLZ i MÜLLER 1992). Jak podaje BIANCHI (1995), różnice te można wyjaśnić: (i) zmianami pór roku i pogody, (ii) faktem powtórnego metabolizowania składników utworzonych w początkowych stadiach rozwojowych, (iii) wykorzystywaniem w czasie ontogenezy różnych dróg syntezy związków tworzących woski. Należałoby dodać tu jeszcze jedną możliwość, a mianowicie wycofywanie określonych grup związków do wnętrza kutykuli lub nawet głębiej, co sugerują JETTER i SCHÄFFER (2001).

Istotne różnice w wykształcaniu i chemizmie warstwy woskowej stwierdzono na odosiowej i doosiowej stronie liścia (JETTER i współaut. 2000, GNIWOTTA i współaut. 2005). Zmiany ilościowe oraz jakościowe obserwuje się także u roślin uprawianych w różnych warunkach (temperatura, natężenie światła, UV-B, wilgotność, CO_2) (MARTIN i JUNIPER 1970, HULL i współaut. 1975, GORDON i PER-

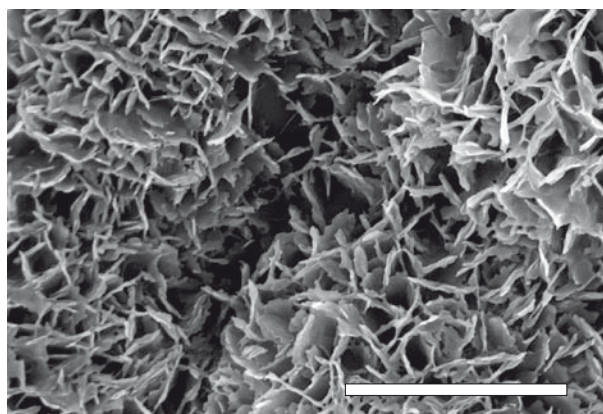
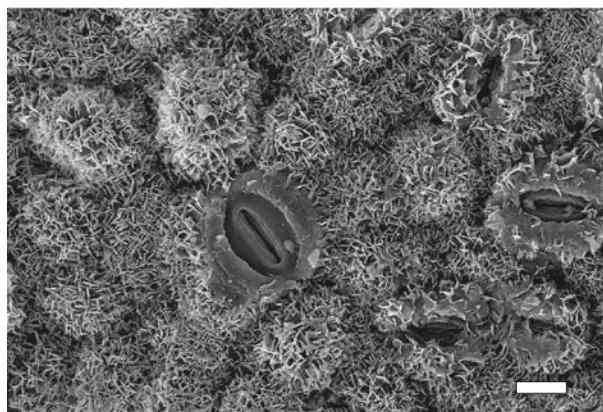
CY 1999, PILON i współaut. 1999, VANHATALO i współaut. 2001, KOCH i współaut. 2006b).

Substancje woskowe na powierzchni kutykuli mogą tworzyć nie tylko amorficzny film, ale także przybierać różnorakie, czasem bardzo skomplikowane i uporządkowane formy. Różnorodność tę próbowano wielokrotnie sklasyfikować. Najczęściej stosowana jest klasyfikacja zaproponowana przez BARTHLOTTA i współpracowników (1998), a opracowana na podstawie analizy ok. 13 tysięcy gatunków ze wszystkich głównych grup roślin nasiennych. Propozycja obejmuje ok. 20 typów tworów woskowych, pogrupowanych w trzy główne zespoły: filmy (ang. films), warstwy skorupiaste (ang. layers & crusts) oraz krystaloidy (ang. crystaloids).

Filmy definiowane są jako warstwy bardzo cienkie (kilka nanometrów), niewykazujące spękań podczas wysychania epidermy. Warstwy skorupiaste są grubsze (ok. 0,5–10 μm), mogą mieć nierówną powierzchnię, a niektóre pękają na mniejsze bloki. Autorzy proponują trzy podgrupy: warstwy gładkie (ang. smooth layers), skorupy (ang. crusts) oraz warstwy pękające (ang. fissured layers). Najbardziej rozbudowanym zespołem struktur woskowych są krystaloidy. Cechują się one swoistym kształtem, wielkością i zorientowaniem w stosunku do powierzchni, na której się znajdują, mogą także tworzyć agregaty lub zgrupowania. Również ta grupa została podzielona, a wyróżniono w niej: grudki (ang. granules), płytki i płyty (ang. platelets and plates) (Ryc. 3), pręciki (ang. rodlets), nici (ang. threads), rurki (ang. tubules) (Ryc. 4) i formy pośrednie.

Według tych samych autorów (BARTHLOTT i współaut. 1998) agregacje i zgrupowania zostały podzielone na dwie główne grupy ze względu na podstawowe jednostki je budujące, tzn. płytki i pręciki/rurki. Dla agregacji i zgrupowań płytek zaproponowano określenia: rozetki (ang. rosettes), płytki w szeregach (ang. parallel platelets), płytki w rzędach (ang. parallel grouped/stacked platelets), a dla pręcików/rurek: kępki rurek (ang. clusters of tubules), kępki pręcików (ang. clusters of rodlets) oraz pręciki złączone wzdłużnie (ang. longitudinally aggregated rodlets).

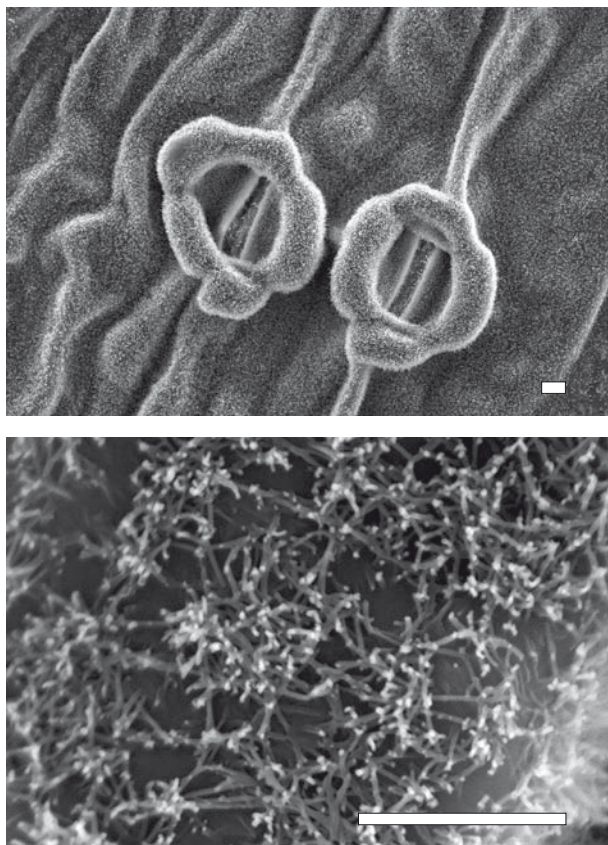
Struktura warstwy woskowej u roślin jest także związana ze składem chemicznym substancji ją tworzących (WETTSTEIN-KNOWLES VON 1995, BARTHLOTT i współaut. 2003). Najlepiej udowodniony jest związek pomiędzy formą rurkowatą wosku (ang. tubules) i



Ryc. 3. Wosk epikutylarny w formie płytek na powierzchni odosiowej strony liścia dębu omszonego (*Quercus pubescens*) (skala 10 μm).

wysoką zawartością nonakosan-10-olu (BARTHLOTT i współaut. 1998).

Jak dotąd nie jest znany dokładny przebieg procesu transportu wosku na powierzchnię organu rośliny, choć istnieją próby wyjaśnienia tego zjawiska. Jedną z teorii zakłada istnienie mikrokanalów w kutykuli, którymi substancje lipidowe miałyby się wydostawać na zewnątrz, jednakże brak jednoznacznych dowodów na obecność takich struktur (JEFFREE 1996). Odkryto także, najpierw w wosku epikutylarnym brokuła, białka transportujące lipidy (LTP), które miałyby być odpowiedzialne za transport tych związków poza kutykulę, ale i ten mechanizm nie jest do końca udowodniony (KUNST i SAMUELS 2003, BERGEL i współaut. 2004). Bardzo ciekawą hipotezę wyjaśniającą mechanizm pojawiania się wosku epikutylarnego na powierzchni rośliny zaproponował zespół niemieckich naukowców (NEINHUIS i współaut. 2001). Autorzy, przeprowadzwszy serię pomysłowo zaprojektowanych doświadczeń, postulują, że transport cząsteczek tworzących wosk epikutylarny odbywa się przez kutykulę wraz z wodą i towarzyszy transpiracji



Ryc. 4. Powierzchnia igły cisa pospolitego (*Taxus baccata*) pokryta splątanymi rurkami woskowymi (skala 5 μm).

kutykularnej. Zjawisko to nosi nazwę destylacji z parą wodną i dotyczy związków o wysokiej temperaturze wrzenia, które są słabo rozpuszczalne bądź wręcz nierozpuszczalne w wodzie, a więc takich, jakie na ogół tworzą warstwę woskową u roślin. To mogłoby tłumaczyć, dlaczego wosk nie pojawia się na powierzchni organów zanurzonych u roślin wodnych oraz dlaczego zaczyna się pojawiać na młodej blaszce liściowej dopiero wówczas, gdy obie jej połówki przestają się stykać i może zachodzić transpiracja kutykularna.

Wydzielanie wosku jest procesem szybkim. Dowodzą tego doświadczenia nad regeneracją utraconej warstwy wosków epikutykularnych. W eksperymentach tych wykazano, że pierwsze oznaki pojawienia się nowej porcji wosku można zaobserwować już kilkadziesiąt minut po całkowitym usunięciu starej warstwy (KOCH i współaut. 2004).

Regeneracja wosków epikutykularnych zachodzi w różny sposób u różnych roślin. Jest możliwa w czasie wzrostu liścia lub po jego zakończeniu, może też nie zachodzić wcale. Na ogół regeneracja nie jest pełna, a krystaloidy mogą mieć odmienną mikromorfologię

niż formy pierwotnie występujące na liście (NEINHUIS i współaut. 2001).

Autorzy wielu prac dowodzą (np. KOCH i współaut. 2004, NEINHUIS i współaut. 2001, patrz także Kurczyńska 2002), że na powierzchnię kutykuli woski transportowane są w postaci monomerów, które dopiero tam łączą się i krystalizują. Za taką samoorganizacją substancji je tworzących mogą przemawiać wyniki prac na temat rekrystalizacji wosków w warunkach *in vitro*, choć, niestety, nie zawsze w wyniku tego procesu otrzymywano ten sam typ struktur (JEFFREE i współaut. 1975). Wiadomo, że składnik dominujący w mieszaninie nie musi być odpowiedzialny za kształt rekrystalizującej struktury; wpływ mają także dodatkowe związki (występujące w mniejszych ilościach), a także inne, nieokreślone bliżej czynniki (JEFFREE i współaut. 1976; MEUSEL i współaut. 1999, 2000b), przy czym dowiedziono, że ważną rolę w organizowaniu się molekuł tworzących krystaloidy odgrywa także podłoże, na którym zachodzi krystalizacja (KOCH i współaut. 2006a).

Na wyników podstawie prac analizujących funkcje kutykuli i wosków (KERSTIENS 1996, MÜLLER i RIEDERER 2005) można stwierdzić że:

- zmniejszają straty wody i substancji znajdujących się w apoplasmie. Wydaje się, że grubość kutykuli powinna negatywnie korelować z możliwościami przenikania wody przez kutykulę, jednak badania dowodzą, że tak nie jest (RIEDERER i SCHREIBER 2001). Okazało się, że w przepuszczalności kutykuli dla wody decydującą rolę odgrywa struktura wosków intrakutykularnych: wewnątrz kutykuli znajdują się liczne poziome warstwy wosku w postaci krystalicznej, a pomiędzy nimi wosk amorficzny; dyfuzja cząsteczek wody może zachodzić tylko w strefie amorficznej (RIEDERER i SCHREIBER 1995, VOGG i współaut. 2004);

- tworzą mechaniczną barierę zmniejszającą możliwości penetracji przez strzępki grzybów i zgryzania przez owady, a także wpływają na mechaniczne właściwości powierzchni rośliny, co utrudnia owadom przemieszczanie się po niej (JUNIPER 1995; EIGENBRODE 1996, 2004; FEDERLE i współaut. 1997; EIGENBRODE i JETTER 2002; GORB i GORB 2002). Utrudnienia te powodują, że rośliny o liściach gładkich są silniej atakowane przez owady niż te o liściach pokrytych woskiem w formie krystaloidów (MÜLLER i RIEDERER 2005). Powierzchnia pokryta specyficznymi strukturami woskowymi wykorzystywana

jest w tworzeniu pułapki w przypadku roślin owadożernych (np. u dzbanecznika) (RIEDEL i współaut. 2003);

- chronią tkankę przed uszkodzeniami mechanicznymi natury abiotycznej. Liście mogą być uszkodzane przez wiatr, deszcz, cząstki unoszonej z wiatrem gleby czy przez uderzanie liści o siebie. W wyniku takich działań uszkodzeniu może ulegać warstwa woskowa, co zwiększa zwilżalność blaszki. Ponadto istnieją doniesienia o wpływie warstwy woskowej na wzrost odporności rośliny na niską temperaturę (MARTIN i JUNIPER 1970, BAKER i HUNT 1986).

- odbijają lub osłabiają promieniowanie i to nie tylko UV, ale i o falach dłuższych (HOLMES i KEILLER 2002).

- służą jako miejsce gromadzenia związków lipofilnych;

- służą za miejsce kontaktu owadów i mikroorganizmów z rośliną [co jest istotne np. w rozpoznawaniu właściwego miejsca do złożenia jaj przez owady (MÜLLER i HILKER 2001) czy podczas kiełkowania zarodników i tworzenia przyłg przez grzyby pasożytnicze (GNIWOTTA i współaut. 2005)], a także mikroorganizmów z owadami roślinożernymi (np. grzybami zarażającymi takie owady);

- tworzą fyllosferę czyli miejsce życia organizmów występujących na powierzchni liści (grzyby, bakterie, a w warunkach klimatu ciepłego oraz wilgotnego także porosty i sinice);

- ograniczają zatrzymywanie się wody na powierzchni rośliny, co ma znaczenie dla wymiany gazowej przez szparki, kiełkowania zarodników, przeżywania organizmów żyjących w fyllosferze oraz osadzania się zanieczyszczeń. Obecność zarówno zanieczyszczeń, jak i organizmów na powierzchni liścia jest niekorzystna. Zanieczyszczenia mogą wpły-

wać na fizjologię liścia, zakłócać działanie szparek, oddziaływać z woskami (TURUNEN i HUTTUNEN 1990, FARMER 1993, PAL i współaut. 2002), a zarodniki grzybów patogenicznych, osiadając na powierzchni organu, rozpoczynają kiełkowanie i tworzenie strzępek, którymi mogą przenikać do wnętrza organizmu rośliny; niektóre patogeniczne grzyby mogą nawet czekać z atakiem do chwili, aż warstwa woskowa zostanie uszkodzona lub zmieniona (DICKINSON 1976). Wykształcenie procesów umożliwiających usunięcie np. takich zarodników z powierzchni liści jest więc niesłychanie istotne dla rośliny. Okazało się, że obecność krystaloidowych struktur woskowych o właściwościach hydrofobowych wraz z występowaniem wypukłości na powierzchni epidermy (np. bruzdki lub papille) dają podstawy do wystąpienia zjawiska opisanego jako „efekt lotosu” (ang. „Lotus-Effect”). Mechanizm samooczyszczania się polega na tym, że powierzchnia o odpowiednich właściwościach wymusza duży kąt styku kropli wody (= słabe przyleganie do powierzchni), która tocząc się, zabiera ze sobą zanieczyszczenia. Wprawdzie na takiej powierzchni zanieczyszczenia gromadzą się łatwiej, ale także szybciej są z niej zmywane przez krople deszczu, rosy czy osadzającej się mgły (BARTHOLOTT i NEINHUIS 1997, WAGNER i współaut. 2003).

Wiele zagadnień dotyczących budowy, powstawania i funkcjonowania zewnętrznej powłoki ciała roślin nadal pozostaje niewyjaśnionych. Wiemy już jednak, że jest to skomplikowana struktura o zmiennej budowie i składzie i nie można jej traktować jako warstwy pełniącej jedynie funkcje ochronne. Wprawdzie wiemy coraz więcej na temat tej struktury, ale szereg zagadnień ciągle czeka na wyjaśnienie.

WHAT ARE PLANTS COATED WITH? ABOUT THE CUTICLE AND THE EPICUTICULAR WAX LAYER

Summary

The epidermis constitutes the leaf surface. The most characteristic trait of epidermal cells is the fact that they have the cuticle on the outer periclinal wall. The cuticle coats nearly continuously all mature parts of the leaf, and the only breaks or gaps are stomata – the pores between guard cells. The cuticular layer, outside the cell wall, consists of lipid substances (such as waxes, cutin and cutan) and polysaccharides (cellulose and pectins). The cuticular layer is coated with the cuticle proper which lacks polysaccharides and contains more waxes than

the underlying layers. On top, there is the epicuticular wax layer, without cutin or cutan. The cuticle proper is covered by a smooth amorphous wax film. Outside the wax film we can find waxes in more ordered form. They form a layer with considerable ultrastructural and chemical diversity. Epicuticular waxes are composed of a mixture of chemical compounds: hydrocarbons, primary alcohols, aldehydes, fatty acids, esters, β -diketones, terpenoids and phenolics. There is a correlation between their ultrastructure and chemistry.

Plant surfaces are generally not smooth but exhibit considerably different microstructures. Wax structures may be developed as continuous layers, crusts or crystalloids. The crystalloids are of a characteristic shape and size and may appear in particular arrangements or combinations. Many of them are of systemic significance.

The plant cuticle and waxes have many important functions. They reduce the loss of water, re-

flect or attenuate radiation, form the basis of phyllosphere, protect plant tissues against penetration by fungi, bacteria and insects, as well as from mechanical damage (by wind, rain, soil particles etc.), reduce water retention on the plant surface, and provide a self-cleaning surface.

LITERATURA

- BAKER E. A., HUNT G. M., 1986. *Erosion of waxes from leaf surfaces by simulated rain*. New Phytol. 102, 161-173.
- BARTHOLOTT W., NEINHUIS C., 1997. *Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces*. Planta 202, 1-8.
- BARTHOLOTT W., WOLLENWEBER E., 1981. *Zur Feinstruktur, Chemie und taxonomischen Signifikanz epicuticularer Wachse und ähnlicher Sekrete*. Trop. Subtrop. Pflanzenwelt 32, 7-67.
- BARTHOLOTT W., NEINHUIS C., CUTLER D., DITSCH F., MEUSEL I., THEISEN I., WILHELMI H., 1998. *Classification and terminology of plant epicuticular waxes*. Bot. J. Linn. Soc. 126, 237-260.
- BARTHOLOTT W., THEISEN I., BORSCH TH., NEINHUIS C., 2003. *Epicuticular waxes and vascular plant systematics: integrating micromorphological and chemical data*. [W:] *Deep Morphology: Toward a Renaissance of Morphology in Plant Systematics*. STUESSY T. F., MAYER V., HÖRANDL E. (red.), A.R.G. Gantner Verlag, Rugell, 189-206.
- BERGEL H., BARTHOLOTT W., KOCH K., SCHREIBER L., NEINHUIS C., 2004. *Plant cuticles: multifunctional interfaces between plant and environment*. [W:] *The Evolution of Plant Physiology*. HEMSLEY A. R., POOLE I. (red.). Elsevier, London, 171-194.
- BIANCHI G., 1995. *Plant waxes*. [W:] *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*. HAMILTON R. J. (red.). The Oily Press, Dundee, 175-222.
- BOOM A., SINNINGE DAMSTÉ J. S., LEEUW J. W. DE, 2005. *Cutan, a common aliphatic biopolymer in cuticles of drought-adapted plants*. Org. Geochem. 36, 595-601.
- DESHMUKH A. P., SIMPSON A. J., HADAD CH. M., HATCHER P. G., 2005. *Insights into the structure of cutin and cutan from Agave americana leaf cuticle using HRMAS NMR spectroscopy*. Org. Geochem. 36, 1072-1085.
- DICKINSON C. H., 1976. *Fungi on the aerial surfaces of higher plants*. [W:] *Microbiology of Aerial Plant Surfaces*. DICKINSON C. H., PREECE T. F. (red.). Academic Press, London-New York-San Francisco, 293-324.
- EIGENBRODE S. D., 1996. *Plant surface waxes and insect behaviour*. [W:] *Plant Cuticles. An Integrated Functional Approach*. KERSTIENS G. (red.). BIOS Scientific Publishers, Oxford, 201-221.
- EIGENBRODE S. D., 2004. *The effects of plant epicuticular waxy blooms on attachment and effectiveness of predatory insects*. Arthropod. Struct. Dev. 33, 91-102.
- EIGENBRODE S. D., JETTER R., 2002. *Attachment to Plant Surface Waxes by an Insect Predator*. Integr. Comp. Biol. 42, 1091-1099.
- ENSİKAT H. J., NEINHUIS C., BARTHOLOTT W., 2000. *Direct access to plant epicuticular wax crystals by a new mechanical isolation method*. Int. J. Pl. Sci. 161, 143-148.
- FARMER A. M., 1993. *The effects of dust on vegetation – a review*. Environ. Pollut. 79, 63-75.
- FEDERLE W., MASCHWITZ U., FIALA B., RIEDERER M., HÖLDOBLER B., 1997. *Slippery ant-plants and skilful climbers: selection and protection of specific ant partners by epicuticular wax blooms in Macaranga (Euphorbiaceae)*. Oecologia 112, 217-224.
- GNIWOTTA F., VOGG G., GARTMANN V., CARVER T. L. W., RIEDERER M., JETTER R., 2005. *What Do Microbes Encounter at the Plant Surface? Chemical Composition of Pea Leaf Cuticular Waxes*. Pl. Physiol. 139, 519-530.
- GORB E. V., GORB S. N., 2002. *Attachment ability of the beetle Chrysolina fastuosa on various plant surfaces*. Entomol. Exp. Appl. 105, 13-28.
- GORDON D. C., PERCY K. E., 1999. *Effect of UV-B dose on biosynthesis of epicuticular waxes in Blue spruce (Picea pungens Engelmann) primary needles: preliminary investigation*. Water Air Soil Poll. 116, 429-436.
- GÜLZ P. G., BOOR G., 1992. *Seasonal Variations in Epicuticular Wax Ultrastructures of Quercus robur Leaves*. Z. Naturf. 47c, 807-814.
- GÜLZ P. G., MÜLLER E., 1992. *Seasonal Variation in the Composition of Epicuticular Waxes of Quercus robur Leaves*. Z. Naturf. 47c, 800-806.
- HAAS K., BRUNE T., RÜCKER E., 2001. *Epicuticular Wax Crystalloids in Rice and Sugar Cane Leaves are Reinforced by Polymeric Aldehydes*. J. App. Bot. 75, 178-187.
- HEJNOWICZ Z., 2002. *Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych. Organy wegetatywne*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- HOLLOWAY P. J., 1982a. *Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview*. [W:] *The Plant Cuticle*. CUTLER D. F., ALVIN K. L., PRICE C. E. (red.). Academic Press, New York, 1-32.
- HOLLOWAY P. J., 1982b. *The chemical constitution of plant cutins*. [W:] *The Plant Cuticle*. CUTLER D. F., ALVIN K. L., PRICE C. E. (red.). Academic Press, New York, 45-86.
- HOLMES M. G., KEILLER D. R., 2002. *Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands a comparison of a range of species*. Pl. Cell Environ. 25, 85-93.
- HULL H. M., MORTON H. L., WHARRIE J. R., 1975. *Environmental influences on cuticle development and resultant foliar penetration*. Bot. Rev. 41, 421-452.
- JEFFREE C. E., 1996. *Structure and ontogeny of plant cuticles*. [W:] *Plant Cuticles. An Integrated Functional Approach*. KERSTIENS G. (red.). BIOS Scientific Publishers, Oxford, 33-82.
- JEFFREE C. E., BAKER E. A., HOLLOWAY P. J., 1975. *Ultrastructure and recrystallization of plant epicuticular waxes*. New Phytol. 75, 539-549.
- JEFFREE C. E., BAKER E. A., HOLLOWAY P. J., 1976. *Origins of the fine structure of plant epicuticular waxes*. [W:] *Microbiology of Aerial Plant Sur-*

- faces. DICKINSON C. H., PREECE T. F. (red.). Academic Press, London-New York-San Francisco, 119-158.
- JETTER R., SCHÄFFER S., 2001. *Chemical Composition of the Prunus laurocerasus Leaf Surface. Dynamic Changes of the Epicuticular Wax Film during Leaf Development*. Pl. Physiol. 126, 1725-1737.
- JETTER R., SCHÄFFER S., RIEDERER M., 2000. *Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from Prunus laurocerasus L.* Pl. Cell Environ. 23, 619-628.
- JUNIPER B. E., 1995. *Waxes on plant surfaces and their interactions with insects*. [W:] Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions. HAMILTON R. J. (red.). The Oily Press, Dundee, 157-174.
- KERSTIENS G., 1996. *Signalling across the divide: a wider perspective of cuticular structure-function relationships*. Trends Plant Sci. 1, 125-129.
- KOCH K., NEINHUIS C., ENSIKAT H. J., BARTHLOTT W., 2004. *Self assembly of epicuticular waxes on living plant surfaces imaged by atomic force microscopy (AFM)*. J. Exp. Bot. 55, 711-718.
- KOCH K., BARTHLOTT W., KOCH S., HOMMES A., WANDT K., MAMDOUH W., DE-FEYTER S., BROEKMANN P., 2006a. *Structural analysis of wheat wax (Triticum aestivum, c.v. 'Naturstar' L.): from the molecular level to three dimensional crystals*. Planta 223, 258-270.
- KOCH K., HARTMANN K. D., SCHREIBER L., BARTHLOTT W., NEINHUIS C., 2006b. *Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability*. Environm. Exp. Bot. 56, 1-9.
- KUNST L., SAMUELS A. L., 2003. *Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax*. Prog. Lipid Res. 42, 51-80.
- KURCZYŃSKA E. U., 2002. *Epiderma wielokrotna today wierzby – szczególny przypadek powtarzania fenotypu epidermalnego*. Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego, Katowice.
- MARTIN J. T., JUNIPER B. E., 1970. *The Cuticles of Plants*. Edward Arnold, Edinburgh.
- MEUSEL I., NEINHUIS C., MARKSTÄDTER C., BARTHLOTT W., 1999. *Ultrastructure, chemical composition, and recrystallization of epicuticular waxes: transversely ridged rodlets*. Canad. J. Bot. 77, 706-720.
- MEUSEL I., BARTHLOTT W., KUTZKE H., BARBIER B., 2000a. *Crystallographic studies of plant waxes*. Powder Diff. 15, 123-129.
- MEUSEL I., NEINHUIS C., MARKSTÄDTER C., BARTHLOTT W., 2000b. *Chemical composition and recrystallization of epicuticular waxes: coiled rodlets and tubules*. Pl. Biol. 2, 462-470.
- MÜLLER C., HILKER M., 2001. *Host finding and oviposition behavior in a chrysomelid specialist – the importance of host plant surface waxes*. J. Chem. Ecol. 27, 985-994.
- MÜLLER C., RIEDERER M. 2005. *Plant surface properties in chemical ecology*. J. Chem. Ecol. 31, 2621-2651.
- NEINHUIS C., KOCH K., BARTHLOTT W., 2001. *Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles*. Planta 213, 427-434.
- OLIVEIRA A. F. M., MEIRELLES S. T., SALATINO A., 2003. *Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss*. Anais Acad. Brasil. Ci. 75, 431-439.
- PAL A., KULSHRESHTHA K., AHMAD K. J., BEHL H. M., 2002. *Do leaf surface characters play a role in plant resistance to auto-exhaust pollution?* Flora 197, 47-55.
- PILON J., LAMBERS H., BAAS W., TOSSERAMS M., ROZEMA J., ATKIN O. K., 1999. *Leaf waxes of slow-growing alpine and fast-growing lowland Poa species: inherent differences and responses to UV-B radiation*. Phytochemistry 50, 571-580.
- RENTSCHLER I., 1982. *Eine Methode zur Trennung abgelagerter und eingebauter Stoffe bei Pflanzenblättern*. Naturwissenschaften 69, 240.
- RIEDEL M., EICHNER A., JETTER R., 2003. *Slippery surfaces of carnivorous plants: composition of epicuticular wax crystals in Nepenthes alata Blanco pitchers*. Planta 218, 87-97.
- RIEDERER M., SCHREIBER L., 1995. *Waxes – the transport barriers of plant cuticles*. [W:] Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions. HAMILTON R. J. (red.). The Oily Press, Dundee, 131-156.
- RIEDERER M., SCHREIBER L., 2001. *Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles*. J. Exp. Bot. 52, 2023-2032.
- STAMMITTI L., DERRIDJ S., GARREC J. P., 1996. *Leaf epicuticular lipids of Prunus laurocerasus: importance of extraction methods*. Phytochemistry 43, 45-48.
- TURUNEN M., HUTTUNEN S., 1990. *A review of the response of epicuticular wax of conifer needles to air pollution*. J. Environm. Qual. 19, 35-45.
- VANHATALO M., HUTTUNEN S., BÄCK J., 2001. *Effects of elevated [CO₂] and O₃ on stomatal and surface wax characteristics in leaves of pubescent birch grown under field conditions*. Trees 15, 304-313.
- VOGG G., FISCHER S., LEIDE J., EMMANUEL E., JETTER R., LEVY A. A., RIEDERER M., 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 β -ketoacyl-CoA synthase*. J. Exp. Bot. 55, 1401-1410.
- WAGNER P., FÜRSTNER R., BARTHLOTT W., NEINHUIS C., 2003. *Quantitative assessment to the structural basis of water repellency in natural and technical surfaces*. J. Exp. Bot. 54, 1295-1303.
- WETTSTEIN-KNOWLES P. VON, 1995. *Biosynthesis and genetics of waxes*. [W:] Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions. HAMILTON R. J. (red.). The Oily Press, Dundee, 91-130.