

BIAŁKA TRANSPORTUJĄCE WAPŃ W ROŚLINIE

Marzena Wińska-Krysiak

Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa, SGGW
ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa
e-mail: winska@alpha.sggw.waw.pl

Streszczenie. W pracy przedstawiono teoretyczne aspekty roli wapnia w roślinie. Omówiono pobieranie i transport wapnia w obrębie rośliny. Szczególną uwagę poświęcono roli i budowie białek (białka ATP-zależne, kanałowe, transportery pomocnicze) zaangażowanych w ten proces. Budowę transporterów przedstawiono na poziomie białek i genów je kodujących.

Słowa kluczowe: wapń, transport, Ca²⁺-ATPazy, H⁺/Ca²⁺ – wymiennicze kationowo-wapniowe, kanały wapniowe

WSTĘP

Wapń jest jednym z podstawowych składników pokarmowych roślin. Pełni zarówno rolę strukturalną jak i funkcję uniwersalnego przekaźnika informacji. Zawartość wapnia w poszczególnych gatunkach roślin jest bardzo zróżnicowana. W roślinie jest on bardzo słabo reutilizowany co powoduje, że objawy niedoboru tego składnika obserwowane są na najmłodszych liściach, wierzchołkach wzrostu łodyg i korzeni. Mimo intensywnych badań dotyczących pobierania wapnia przez korzenie roślin proces ten nie został jeszcze dostatecznie poznany. Pobrany z roztworu glebowego wapń transportowany jest do części nadziemnej ksylemem. Natomiast w transport na małe odległości zaangażowane są liczne białka transportowe tzw.: kanały, pompy i nośniki jonowe. Postęp w technice badawczej ostatnich lat przyczynił się do poznania ich budowy oraz czynników wpływających na ten transport. Wapń wywiera duży wpływ na stan koloidów, zwiększa bowiem lepkość, zmniejsza hydrofilność cytoplazmy co wpływa na przepuszczalność błon komórkowych.

WYMAGANIA ROŚLIN W STOSUNKU DO WAPNIA

Stężenie wapnia w roślinach rosnących na glebach o poziomie tego pierwiastka uważanym za normalny może wahać się w zakresie 0,1 do 5% s.m. [33].

Poziom ten odzwierciedla zarówno dostępność Ca w środowisku jak również różne zapotrzebowanie wapnia przez różne rośliny i tym samym może stanowić podstawę wyróżniania roślin o niskim i wysokim zapotrzebowaniu na wapń. Rośliny o niewielkim zapotrzebowaniu są reprezentowane przez gatunki rosnące na glebach kwaśnych, ubogich w wapń. Dodatkowo można tu wprowadzić jeszcze jedno kryterium: grupy roślin, określane w literaturze angielskojęzycznej mianem 'potasowych', charakteryzujące się wysokimi wartościami stosunku K:Ca (przedstawiciele rodzin baldaszkowatych i astrowatych), oraz 'szczawianowe' o wysokiej koncentracji w swych tkankach szczawianów. Te drugie z kolei można jeszcze podzielić na rośliny zawierające w wakuolach komórkowych stale wolny kwas szczawiowy, jak u szczawikowatych, lub wytrącający się w postaci kryształków szczawian wapnia, obserwowany u roślin z rodzin goździkowatych, komosowatych i rdestowatych [59].

Do roślin o dużym zapotrzebowaniu na wapń należą rosnące na glebach wapiennych rośliny z rodzin gruboszowate, kapustne i bobowe.

Wprawdzie zapotrzebowanie roślin na wapń utrzymuje się na stosunkowo niskim poziomie, jest on jednak niezbędny w wielu procesach komórkowych. Usunięcie wapnia z nawożenia powoduje szybką śmierć komórek merystemu apikalnego i zatrzymanie wzrostu roślin. W warunkach naturalnych jego deficyt jest rzadki jednak znane są kosztowne skutki niedoborów wapnia w postaci takich chorób fizjologicznych jak: gorzka plamistość podskórna u jabłoni [9,13,17,40,45], sucha zgnilizna wierzchołkowa pomidora [8,25,36,52] i papryki [29,54], brzeżne zamieranie liści u kapusty pekińskiej [3-5,21,49], zgnilizna wnętrza główki kapusty, zgnilizna sercowata liści selera. W tkankach pozbawionych wystarczających ilości wapnia w reakcji na szok hypoosmotyczny (wzrost wilgotności, opadów deszczu) możemy obserwować pękanie pomidorów, czereśni i jabłek, które jest rezultatem osłabienia ścian komórkowych. W przypadku nadmiaru wapnia u roślin obserwujemy opóźnienie dojrzewania nasion i redukcję tempa wzrostu. U pomidora obserwujemy rozwój małych żółtych plam, które są spowodowane obecnością kryształków szczawianu wapnia.

FORMA I ZAWARTOŚĆ WAPNIA W ORGANELLACH KOMÓRKOWYCH

O właściwościach fizjologicznych wapnia w największym stopniu decyduje jego rozpuszczalność. U eukariontów funkcje regulatorowe może pełnić tylko

forma jonowa, Ca^{2+} , pochodząca z rozpuszczalnych w wodzie jego chlorków, azotanów lub soli niektórych kwasów organicznych. Wapń związany występuje postaci związków o różnym stopniu rozpuszczalności. Jako wapń wymienny określa się jego związki, często kompleksowe, z pektynami czy białkami oraz jony wbudowane w struktury organelli komórkowych. Fosforany, węglany i szczawiany wapnia są nierozpuszczalne. Zawartość poszczególnych form zmienia się w organach, w zależności od rodzaju tkanki, organelli oraz fazy rozwojowej roślin [44,55,59]. W obrębie komórki występują różnice w zawartości wapnia sięgające dwóch rzędów wielkości. Jest to możliwe dzięki membranom odgraniczającym poszczególne struktury oraz występujących w nich białkom transportowym. Zawartość wapnia w ścianie komórkowej waha się od 300 do 500 $\text{mM Ca}^{2+} \text{ m}^{-3}$ i najczęściej występuje on związany z kwasem glukoranowym lub w postaci trudno rozpuszczalnego węglanu wapnia. W błonie komórkowej zlokalizowane jest do 5% całego wolnego wapnia komórkowego. Naładowane dodatnio, uwodnione kationy wapniowe wchodzą tu w różnego typu wiązania koordynacyjne z grupami funkcyjnymi fosfolipidów i białek. Zawartość wapnia w cytoplazmie kształtuje się od kilkudziesięciu μM do kilku mM całkowitego wapnia, z czego około 1% występuje w formie niezwiązanej. Większość wapnia w cytoplazmie związana jest przez związki nieorganiczne i organiczne, specyficzne białka np.: kalmodulina, kinazy białkowe, białka podobne do aneksyn, kalsekwestryny. W reticulum endoplazmatycznym występuje do 10 μM wolnego Ca^{2+} . Większość związana jest tu przez białka kalsekwestryny i kalretikuliny. Zawartość wapnia w mitochondriach może dochodzić do kilkuset mM wolnego Ca^{2+} . Część wapnia występuje tu w formie wolnej, część jako fosforan wapnia. W kolejnej organelli w chloroplastach zawartość tego składnika waha się od 2,4 do 6,3 μM całkowitej zawartości wapnia, przy czym większość występuje w postaci wolnego Ca^{2+} . W jądrze komórkowym możemy odnotować do 10 μM wolnego Ca^{2+} . Występuje on najczęściej w powiązaniu z białkami jądrowymi oraz DNA i RNA. Zawartość wapnia w wakuoli jest od 1 do 10 mM wolnego Ca^{2+} , przy czym najczęściej związany jest z kwasami organicznymi: szczawio- wym, cytrynowym, jabłkowym, bursztynowym i fumarowym [55].

POBIERANIE WAPNIA I TRANSPORT DO WIĄZEK SITOWO- NACZYNIOWYCH

Najbardziej intensywne pobieranie wapnia zachodzi w wierzchołkowej strefie korzenia, gdzie występuje rozwinięta pierwotna endoderma z pasemkami Caspariego. Ściany komórek roślinnych wykazują właściwości jonowymienne, wiążąc przejściowo kationy, także i wapnia, a ich zawartość wewnątrz ścian komórkowych regulowana jest na drodze dyfuzji i wymiany. Proces aktywnej wymiany

wapnia, a w tym także uczestniczące w nim białka transporterowe, nie zostały dotychczas dostatecznie poznane.

Zaangażowane w transport wapnia są prawdopodobnie białka kanałowe regulowane cyklicznymi nukleotydami [31,47,51] białka kanałowe nie selektywne dla kationów [14] oraz białko homologiczne do białka kanałowego zależnego od napięcia (AF071527), odkryte u *Arabidopsis thaliana*, oraz wyizolowane z *Triticum aestivum* białko LCT1 (low-affinity cation transporter) [46]. W przypadku ostatniego, pobieranie Ca^{2+} stwierdzono wykorzystując sklonowany gen tego białka i system ekspresji w drożdżach [12]. Co więcej, kolejne badania wykazały usprawniony system pobierania wapnia u tytoniu, do którego wprowadzono LCT1-cDNA [1].

Pobrano z roztworu glebowego wapń przez wierzchołkową strefę korzenia transportowany jest do ksylemu symplastycznie lub apoplastycznie. Pierwszy z tych mechanizmów, zależny od transpiracji, jest nieselektywny dla kationów dwuwartościowych [60,62], drugi natomiast, związany z aktywnością szeregu białek, pozwala na selektywny transport i kontrolę ilości transportowanego pierwiastka [11,62]. O ile zaangażowanie tych dwóch mechanizmów w transport wapnia jest bezsprzeczne, to udział każdego z nich w całym procesie nie został dotychczas poznany. Transport z korzenia do części nadziemnej odbywa się przez ksylem lub floem. Transport ksylemowy przebiega szybko, w tempie około 40 nmol $\text{Ca}/\text{godz.}/\text{g}$ św. m. korzenia, podczas gdy przemieszczanie przez floem jest procesem bardzo złożonym i przebiegającym wolno. Regulacja ekspresji genów białek transportowych, jak też regulacja aktywności samych transporterów umożliwia selektywny załadunek Ca^{+2} do floemu zgodnie z zapotrzebowaniem organów nadziemnych, jest jednak procesem niezwykle złożonym, angażującym wg Sandersa i in. [43] około 2500 genów.

Wymiana jonów wapnia między komórkami następuje w drodze prostej dyfuzji przez plazmodesmy, poprzez nośniki i kanały zgodnie z gradientem stężeń bądź też aktywnego transportu zależnego od energii, w który zaangażowane są pompy wapniowe lub transportery pomocnicze [20,55,58,59].

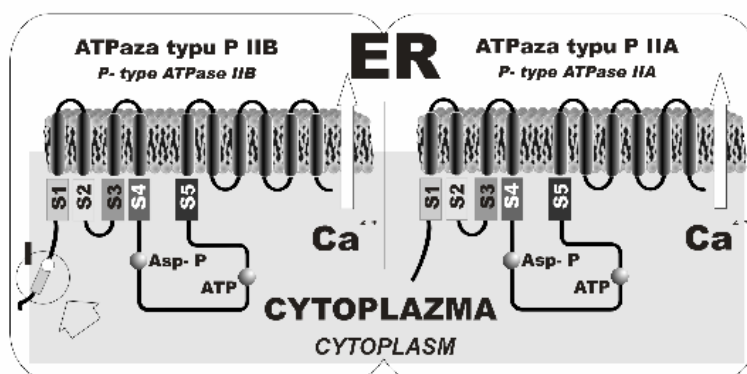
POMPY WAPNIOWE (BIAŁKA ATP-ZALEŻNE)

Białka transportowe dzielimy na 4 główne grupy: białka ATP-zależne do których zaliczamy 3 rodziny (ABC, V-typ ATPazy, P-typ ATPazy), białka kanałowe (CIC, GIC, MIP, VIC), transportery pomocnicze do których zaliczamy 36 rodzin (MFS, NST-TPT, SSS, Trk, ENT, GPH, AAA, BASS, NCS1, NhaD, APC, TDT, MC, NCS2, MATE, CDF, POT, CCC, HAAAP, OPT, ZIP, AAAP, AE, DASS, AEC, RND, Nramp, CPA1, Amt, FBT, SMR, PiT, CPA2, SulP, KUP, CaCA), oraz białka nieklasyfikowane (<http://www-biology.ucsd.edu/~msaier/transport>). Tylko część z nich zaangażowana jest w transport wapnia i zostanie niżej opisana.

W zależności od miejsca lokalizacji ATPazy możemy podzielić na plazmolemo-
we, tonoplastyczne i śródplazmatyczne [55]. Do pierwszej grupy ATPaz należą te,
które zostały wyizolowane: z korzeni kukurydzy (140 kDa), buraka cukrowego (100
kDa), z siewek rzodkiewki (270 kDa), z kultur komórkowych marchwi (120 kDa),
korzeni marchwi, liści kukurydzy, rzodkiewnika, pomidora. Do drugiej grupy ATPaz
umiejscowionych w błonie oddzielającej wakuolę od cytoplazmy należą białka wy-
izolowane z korzeni jęczmienia, pomidora, rzodkiewnika. Do trzeciej grupy ATPaz
śródplazmatycznych należą białka wyizolowane z kultur komórkowych marchwi,
kwiatostanów kalafiora, buraka czerwonego, pomidora.

Ca-ATP-azy (pompy wapniowe) mają wysokie powinowactwo ($K_m = 1-10$ mM)
oraz małą pojemność w stosunku do Ca^{2+} . Transportowi jednego jonu Ca^{2+}
przez plazmolemę towarzyszy hydroliza jednej cząsteczki ATP, natomiast przez
błone retikulum endoplazmatycznego (ER) dwóch cząsteczek ATP. Aktywność
 Ca^{2+} ATPazy kontrolowana jest przez jej przebiegającą etapami fosforylację/
defosforylację: ufosforylowanie białka prowadzi do zmian jego konformacji
i uwolnienia kationu Ca^{2+} do wakuoli, ER lub poza komórkę, a defosforylacja
przywraca początkową strukturę ATPazy [55].

Pompy zaliczane do ATPaz typu P zbudowane są z 10 transbłonowych frag-
mentów (TMS) o bardzo podobnej budowie (rys. 1). Transport wapnia uzależnio-
ny jest w nich od ułożenia aminokwasów w podjednostce S4 i S5. Pompy te po-
dzielone są na dwie rodziny: ATP-azy typu P IIA i ATP-azy typu P IIB [2,18,22,
23,53]. ATP-aza typu P IIB charakteryzuje się obecnością autoinhibitorowej N-
terminalnej domeny, która zawiera miejsca przyłączenia kalmoduliny oraz fosfo-
rylacji reszt cysteiny, natomiast ATP-aza typu P IIA pozbawiona jest N-
terminalnej domeny antyregulatorowej.



Rys. 1. Budowa ATP-azy typu P IIA i ATP-azy typu P IIB wg. Sze i in. 2000 [53]

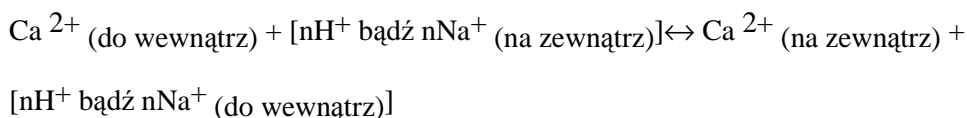
Fig. 1. Structure of ATPase type P IIA and ATPase type P IIB, Sze *et al.* 2000 [53]

Do ATP-az typu P IIA należą białka rzodkiewnika kodowane przez *AtECA1-4* [2] oraz białko pomidora *LeLCA1* [35], ATP-azy typu P IIB reprezentują białka rzodkiewnika kodowane przez *AtACA1,2* [23,53] i *AtACA4* oraz *AtACA* od 7-13 [2].

ATP-azy typu V charakteryzują się złożoną budową podjednostkową, na którą składa się 7-10 elementów transbłonowych, przy czym N- i C- końce umiejscowione są po wewnętrznej stronie plazmalemmy, a ok. 6 fragmentów tworzy kanał wewnątrz błony [32]. Aktywność ATP-az typu V prowadzi do znacznego wzrostu gradientu protonów w wakuoli, retikulum endoplazmatycznym i do cystern aparatu Golgiego. Nadmiar jonów H^+ usuwana jest przez aktywny H^+/Ca^{2+} antyport CAX, który w miejsce 3 jonów H^+ wprowadza 2 jony Ca^{2+} [6]. W tonoplaście gradient protonowy może być regulowany dodatkowo także przez H^+ -PPazę (H^+ -pirofosfatazę) lub obie.

WYMIENIACZE KATIONOWO-WAPNIOWE (RODZINA BIAŁEK CaCA)

Wapniowe transportery pomocnicze mają małe powinowactwo ($K_m=10-15$ mM) oraz wysoką pojemność w stosunku do Ca^{2+} . Ogólne równanie reakcji katalizowane przez antyportery $Ca^{2+}/kation^+$ wygląda następująco:



Wymieniacze kationowo-wapniowe, jak CAX1 czy CAX2, występują w błonie komórkowej i w tonoplaście. Sekwencje nukleotydowe ich genów różnią się dość znacznie, a różnice te przekładają się na różnice w budowie pierwszorzędowej białek [39]. Analiza filogenetyczna pozwoliła wyróżnić 6 głównych gałęzi (1-2 – geny białek zwierzęcych blisko związane, 3 – nieliczne, odkryte u bakterii i archeobakterii, 4 – homologiczne geny grzybów, roślin, sinic i zielenic, 5 – pojedynczy gen antyportera ChaA $Ca^{2+}:H^+$ z *Escherichia coli*, 6 – odległy homolog z *Saccharomyces cerevisiae*) [41]. Białka te znacznie różnią się wielkością (od 302 do 1199 aminokwasów) [10], a w jednym organizmie może występować kilka ich homologów [41]. Ich budowa jest złożona: wymieniacze kationowo-wapniowe ssaków zbudowane są z dziewięciu, bakteryjne z dziesięciu, roślinne nawet z jedenastu transbłonowych fragmentów. W przypadku białek roślinnych, najbardziej konserwatywne części tych powtarzających się elementów, $\alpha 1$ i $\alpha 2$ znajdują się w drugim i trzecim oraz w siódmym i ósmym transbłonowym fragmencie, układając się w wewnątrzmembranową pętlę tworzącą pory, przez które transportowany jest wapń [26].

U rzodkiewnika poznano 11 genów kodujących domniemane antyportery H^+/Ca^{2+} (AtCAX) [24]. AtCAX1, AtCAX2, AtCAX4. Ich białka występują w tonopląście, przy czym AtCAX1 wykazuje wysoką specyficzność i powinowactwo do Ca^{2+} [48], natomiast AtCAX2 wysokie powinowactwo i specyficzność do metali ciężkich. Specyficzność pozostałych AtCAX jest nieznana, przypuszcza się że decyduje o niej 9 aminokwasów tworzących tzw. 'Ca domenę') Homologi AtCAX występują u innych gatunków roślin: *Phaseolus aureus* – VCAX1 [56,57]; *Oryza sativa* – OsCAX1A [27,28], domniemany wymiennicz kationowo-wapniowy oznaczony jako OSJNBA0087G11.21 (AC091787); *Zea mays* – podobne do CAX1, ZCAX2 (AB044567).

KANAŁY WAPNIOWE

Nomenklatura i klasyfikacja białek kanałowych pozostaje nie uporządkowana, w dostępnej literaturze spotkać można różne kryteria podziału. Dla potrzeb niniejszej pracy przyjęto podział stosowany przez White'a i Broadley'a [59] Kanały wapniowe na podstawie zmian potencjału elektrycznego dzielimy na: DACC-aktywowane przez depolaryzację błon, HACC – aktywowane przez polaryzację błon, VICC- niezależne od napięcia. Białko kanałowe może działać jak sito molekularne (przepuszcza jony o odpowiedniej wielkości) lub jak selektywny filtr (specyficznie wiąże jony a następnie usuwa je z występujących we wnętrzu kanału miejsc wiązania). Kanały wapniowe biorą udział we wtórnym przekazywaniu sygnałów i regulacji przepływu wapnia. W pierwszym przypadku w wyniku pobudzenia następuje szybki wzrost poziomu $Ca[cyt]$. Uwolniony do cytoplazmy Ca^{2+} przyłączany jest następnie przez np. kalmodulinę lub niektóre kinazy białkowe, które przez fosforylację aktywują następnie inne białka.

Kanały DACC, z których większość ulega aktywacji przy napięciu -150 do -100 mV, są przepuszczalne dla kationów jedno- i dwuwartościowych, występują w plazmolemie i odpowiadają za transport Ca^{2+} do cytoplazmy. Aktywowane są głównie w odpowiedzi na czynniki stresowe, np. chłód [63] lub atak patogena [60]. Do lepiej poznanych kanałów wapniowych należą AtTPC1 z protoplastów *Arabidopsis thaliana*: oraz AtSKOR, AtGORC – homologi kanału potasowego KORC, zbadane w komórkach kultur zawiesinowych marchwi.

Kanały HACC aktywują się przy napięciu -100 do -150 mV i niższym. Są przepuszczalne dla dwuwartościowych kationów jak Ba^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} i Zn^{2+} . Scharakteryzowane zostały w komórkach epidermy cebuli [38], komórkach kultury zawiesinowej pomidora [7], komórkach mezofilowych [50] i przysparkowych liści [34,37], we włośnikach korzeni [14]. Aktywowane są pod wpływem: wolnych rodników [19,30,34], stresu suszy oraz przez dotyk.

Niezależne od napięcia są kanały VICC (Voltage- Independent Calcium Channels), o różnych właściwościach elektrofizjologicznych [15,60]. Przepuszczalne dla jedno- i dwuwartościowych kationów [14,15,16], są otwarte w warunkach kontrolnych napięcia (generalnie niewrażliwe na cytoplazmatyczne modulatory). Zbudowane są z 24 fragmentów transbłonowych (TMS), tworzących 4 jednostki (każda z nich składa się 6 TMS) oddzielonych od siebie obszarami hydrofilowymi, przy czym za przepuszczalność kanału odpowiada pierwsza z nich.

W tonoplaście występują kanały określane jako „wolno [otwierające się] wakuolarnie”- SV (Slow Vacuolar) i kilka wysoce selektywnych kanałów dla wapnia, aktywowanych przez cytozolowe przekaźniki informacji (IP₃, IP₆ bądź cADPR), które zaangażowane są w dostarczanie wapnia do cytoplazmy [43,61]. Te drugie mogą wpływać na regulację turgoru komórki oraz brać udział w odpowiedzi na stres solny i osmotyczny.

Kanały SV katalizujące transport małych ilości Ca²⁺ do cytoplazmy w naturalnych warunkach fizjologicznych. Kanały te są regulowane przez wiele efektorów [61] co sugeruje, że mogą odgrywać istotną rolę w regulacji stężenia cytozolowego Ca²⁺ [42]. Kanały te są przepuszczalne dla kationów jedno- i dwuwartościowych.

PERSPEKTYWY

Tuż przed złożeniem niniejszej pracy, Saier i współpracownicy przedstawili w internetowym wydaniu *Nucleic Acids Research* [Nucl Acids Res: 34, D181-D186, 2006] koncepcje i strukturę nowej ogólnodostępnej elektronicznej bazy danych TCDB (Transporter Classification Database). Można oczekiwać, że narzędzie to pozwoli zebrać i uporządkować dostępną wiedzę dotyczącą białek transportowych. Należy również oczekiwać, że dzięki modelowaniu matematycznemu i badaniu właściwości tych białek *in silico*, dynamicznie rozwijająca się proteomika pozwoli wypełnić luki w wiedzy na temat transportu wapnia, pierwiastków i innych związków chemicznych.

PIŚMIENNICTWO

1. **Antosiewicz D.M., Hennig J.:** Overexpression of LCT1 in tobacco enhances the protective action of calcium against cadmium toxicity. *Environ Pollut.*, 129(2), 237-45, 2004.
2. **Axelsen K.B., Palmgren M.G.:** Inventory of superfamily of P-type ion pumps in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 126, 696-708, 2001.
3. **Barta D.J., Tibbitts T.W.:** Calcium localization and tipburn development in lettuce leaves during early enlargement. *J Am Soc Hortic Sci.*, 125(3), 294-8, 2000.
4. **Barta D.J., Tibbitts T.W.:** Calcium localization in lettuce leaves with and without tipburn: comparison of controlled-environment and field-grown plants. *J Am Soc Hortic Sci.*, 116(5), 870-5, 1991.

5. **Barta D.J., Tibbitts T.W.:** Effects of artificial enclosure of young lettuce leaves on tipburn incidence and leaf calcium concentration. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 111(3), 413-6, 1986.
6. **Blackford S., Rea P.A., Sanders D.:** Voltage sensitivity of H^+/Ca^{2+} antiport in higher plant tonoplast suggests a role in vacuolar calcium accumulation. *J. Biol. Chem.*, 265, 9617-20, 1990.
7. **Blumwald E., Aharon G.S., Lam B.C.:** Early signal transduction pathways in plant-pathogen interactions. *Trends in Plant Science*, 3, 342-346, 1998.
8. **Casado-Vela J., Selles S., Bru Martinez R.:** Proteomic approach to blossom-end rot in tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* M.): antioxidant enzymes and the pentose phosphate pathway. *Proteomics.*, 5(10), 2488-96, 2005.
9. **Chiu T.F., Bould C.:** Sand-culture studies on the calcium nutrition of young apple tree with particular reference to bitter pit. *J. Hort. Sci.*, 52, 19-28, 1977.
10. **Chung Y.J, Krueger C., Metzgar D., Saier M.H.Jr.:** Size comparisons among integral membrane transport protein homologues in bacteria, Archaea, and Eucaryota. *J. Bacteriol.*, 183(3), 1012-21, 2001.
11. **Clarkson D.T.:** Roots and delivery of solutes to the xylem. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B*, 341, 5-17, 1993.
12. **Clemens S., Antosiewicz D.M., Ward J.M., Schachtman D.P., Schroeder J.I.:** The plant cDNA LCT1 mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95(20), 12043-8, 1998.
13. **Coccuci S., Arbuzzese A., Rizzi E., Mignani I., Poma Treccani C.:** Fruit development, calcium level and bitter pit in apple. *Adv. Hort. Sci.*, 4, 147-150, 1990.
14. **Demidchik V., Bowen H.C., Maathuis F.J., Shabala S.N., Tester M.A., White P.J., Davies J.M.:** *Arabidopsis thaliana* root non-selective cation channels mediate calcium uptake and are involved in growth. *Plant J.*, 32(5), 799-808, 2002a.
15. **Demidchik V., Davenport R.J., Tester M.:** Nonselective cation channels in plants. *Annu Rev Plant Biol.*, 53, 67-107, 2002b.
16. **Demidchik V., Tester M.:** Sodium fluxes through nonselective cation channels in the plasma membrane of protoplasts from *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol.*, 128(2), 379-87, 2002
17. **Drazeta L., Lang A., Hall A.J., Volz R.K., Jameson P.E.:** Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. *Ann Bot (Lond.)*, 93(3), 275-82, 2004.
18. **Evans D.E., Williams L.E.:** P-type calcium ATPase in higher plants – biochemical, molecular and functional properties. *Bioch. Biophys. Acta*, 1376, 1-25, 1998.
19. **Foreman J., Demidchik V., Bothwell J.H.F., Mylona P., Miedema H., Torres M.A., Linstead P., Costa S., Brownlee C., Jones J.D.G., et al.:** Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*, 422, 442-446, 2003.
20. **Fox T.Ch., Guerinot M.L.:** Molecular biology of cation transport in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49, 669-696, 1998.
21. **Frantz J.M., Ritchie G., Cometti N.N., Robinson J., Bugbee B.:** Exploring the limits of crop productivity: beyond the limits of tipburn in lettuce. *J Am Soc Hortic Sci.*, 129(3), 331-8, 2004
22. **Garciadeblas B., Benito B., Rodriguez-Navarro A.:** Plant cells express several stress calcium ATPases but apparently no sodium ATPase. *Plant and Soil*, 235, 181-192, 2001.
23. **Geisler M., Axelsen K.B., Harper J.F., Palmgren M.G.:** Molecular aspects of higher plant P-type Ca^{2+} -ATPases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1465, 52-78, 2000.
24. **Hirschi K.:** Vacuolar H^+/Ca^{2+} transport: who's directing the traffic? *Trends in Plant Science*, 6, 100-104, 2001.
25. **Ho L.C., White P.J.:** A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. *Ann Bot (Lond.)*, 95(4), 571-81, 2005.

26. **Iwamoto T., Nakamura T.Y., Pan Y., Uehara A., Imanaga I., Shigekawa M.:** Unique topology of the internal repeats in the cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. *FEBS Lett.*, 12, 446(2-3), 264-8, 1999.
27. **Kamiya T., Akahori T., Ashikari M., Maeshima M.:** Expression of the vacuolar $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ exchanger, OsCAX1a, in rice: cell- and age-specificity of expression and enhancement by Ca^{2+} . *Plant Cell Physiol.*, 2005.
28. **Kamiya T., Akahori T., Maeshima M.:** Expression profile of the genes for rice cation/ H^+ exchanger family and functional analysis in yeast. *Plant Cell Physiol.*, 46(10), 1735-40, 2005.
29. **Karni L., Aloni B., Bar-Tal A., Moreschet S., Keinan M., Yao C.:** The effect of root restriction on the incidence of blossom-end rot in bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Hort. Sci. Biotech.*, 75, 364-369, 2000.
30. **Kohler B., Hills A., Blatt M.R.:** Control of guard cell ion channels by hydrogen peroxide and abscisic acid indicates their action through alternate signaling pathways. *Plant Physiol.*, 131(2), 385-8, 2003.
31. **Kohler C., Merkle T., Neuhaus G.:** Characterisation of a novel gene family of putative cyclic nucleotide- and calmodulin-regulated ion channels in *A. thaliana*. *Plant J.*, 18(1), 97-104, 1999.
32. **Kopcewicz J., Lewak S.:** Podstawy fizjologii roślin. PWN Warszawa, 1998.
33. **Marschner H.:** Mineral nutrition of higher plants. 2nd edn. London: Academic Press. 1995.
34. **Murata Y., Pei Z.M., Mori I.C., Schroeder J.:** Abscisic acid activation of plasma membrane Ca^{2+} channels in guard cells requires cytosolic NADPH and is differentially disrupted upstream and downstream of reactive oxygen species production in *abi1-1* and *abi2-1* protein phosphatase 2C mutants. *Plant Cell*, 13, 2513-2523, 2001.
35. **Navarro-Avino J.P., Hentzen A.E., Bennett A.B.:** Alternative transcription initiation sites generate two *LCAI* Ca^{2+} -ATPase mRNA transcripts in tomato roots. *Plant Mol. Biol.*, 40, 133-140, 1999.
36. **Park S., Cheng N.H., Pittman J.K., Yoo K.S., Park J., Smith R.H., Hirschi K.D.:** Increased calcium levels and prolonged shelf life in tomatoes expressing Arabidopsis $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ transporters. *Plant Physiol.*, 139(3), 1194-206, 2005.
37. **Perfus-Barbeoch L., Leonhardt N., Vavasseur A., Forestier C.:** Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. *Plant Journal*, 32, 539-548, 2002.
38. **Pickard B.G., Ding J.P.:** The mechanosensory calcium-selective ion channel: key component of a plasmalemmal control centre? *Aust. J. Plant Physiol.*, 20, 439-459, 1993.
39. **Pittman J.K., Sreevidya C.S., Shigaki T., Ueoka-Nakanishi H., Hirschi K.D.:** Distinct N-terminal regulatory domains of $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ antiporters. *Plant Physiol.*, 130(2), 1054-62, 2002.
40. **Sadowski A., Kurowska-Lipniewska M., Ulejczyk M.:** Studia nad gorzką plamistością jabłek. II. Występowanie choroby na odmianie Piękna z Boskoop w zależności od niektórych cech indywidualnych jabłek. *Zeszyty Naukowe SGGW-Ogrodnictwo*, 4, 55-76, 1967.
41. **Saier M.H. Jr., Eng B.H., Fard S., Garg J., Haggerty D.A., Hutchinson W.J., Jack D.L., Lai E.C., Liu H.J., Nusinew D.P., Omar A.M., Pao S.S., Paulsen I.T., Quan J.A., Sliwinski M., Tseng T.T., Wachi S., Young G.B.:** Phylogenetic characterization of novel transport protein families revealed by genome analyses. *Biochim Biophys Acta*, 25, 1422(1), 1-56, 1999.
42. **Sanders D., Brownlee C., Harper J.F.:** Communicating with calcium. *Plant Cell.*, 11(4), 691-706, 1999.
43. **Sanders D., Pelloux J., Brownlee C., Harper J.F.:** Calcium at the crossroads of signaling. *The Plant Cell*, S401-S417, 2002.

44. **Saure M.C.:** Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. *Scientia Horticulturae*, 105, 65-89, 2005.
45. **Saure M.C.:** Reassessment of the role of calcium in development of bitter pit in apple. *Aust. J. Plant Physiol.*, 23, 237-243, 1996.
46. **Schachtman D.P., Kumar R., Schroeder J.I., Marsh E.L.:** Molecular and functional characterization of novel low-affinity cation transporter (LCT1) in higher plants. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 94(20), 11079-84, 1997.
47. **Schuurink R.C., Shartzer S.F., Fath A., Jones R.L.:** Characterization of a calmodulin-binding transporter from the plasma membrane of barley aleurone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(4), 1944-9, 1998.
48. **Shigaki T.N., Cheng N., Pittman J.K., Hirschi K.D.:** Structural determinants of Ca^{2+} transport *Arabidopsis* $\text{H}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ antiporter *CAX1*. *J. Biol. Chem.*, 276, 43152-43159, 2001.
49. **Sorensen J.N., Johansen A.S., Poulsen N.:** Influence of growth conditions on the value of crisphead lettuce. 1. Marketable and nutritional quality as affected by nitrogen supply, cultivar and plant age. *Plant Foods Hum Nutr.*, 46(1), 1-11, 1994.
50. **Stoelzle S., Kagawa T., Wada M., Hedrich R., Dietrich P.:** Blue light activates calcium-permeable channels in *Arabidopsis thaliana* mesophyll cells via the phototropin signaling pathway. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 100, 1456-1461, 2003.
51. **Sunkar R., Kaplan B., Bouche N., Arazi T., Dolev D., Talke I.N., Maathuis F.J., Sanders D., Bouchez D., Fromm H.:** Expression of a truncated tobacco *NtCBP4* channel in transgenic plants and disruption of the homologous *Arabidopsis* *CNGC1* gene confer Pb^{2+} tolerance. *Plant J.*, 24(4), 533-42, 2000.
52. **Suzuki K., Shono M., Egawa Y.:** Localization of calcium in the pericarp cells of tomato fruits during the development of blossom-end rot. *Protoplasma*, 222(3-4), 149-56, 2003.
53. **Sze H., Liang F., Hwang I., Curran A.C., Harper J.F.:** Diversity and regulation of plant Ca^{2+} pumps: insights from expression in yeast. *Annu. Rev. of Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 51, 433-462, 2000.
54. **Tadesse T., Nichols M.A., Hewett E.W., Fisher K.J.:** Relative humidity around the fruit influences the mineral composition and incidence of blossom-end rot in sweet pepper fruit. *J. Hort. Sci. Biotech.*, 76, 9-16, 2001.
55. **Tretyn A.:** Wapń w komórkach eukariotycznych. PWN Warszawa, 1994.
56. **Ueoka-Nakanishi H., Nakanishi Y., Tanaka Y., Maeshima M.:** Properties and molecular cloning of $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter in the vacuolar membrane of mung bean. *Eur J Biochem.*, 262(2), 417-25, 1999.
57. **Ueoka-Nakanishi H., Tsuchiya T., Sasaki M., Nakanishi Y., Cunningham K.W., Maeshima M.:** Functional expression of mung bean $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter in yeast and its intracellular localization in the hypocotyl and tobacco cells. *Eur J Biochem.*, 267(10), 3090-98, 2000.
58. **White P.J., Bowen H.C., Demidchik V., Nichols C., Davies J.M.:** Genes for calcium-permeable channels in the plasma membrane of plant root cells. *Biochem. Biophys. Acta*, 1564(2), 299-309, 2002.
59. **White P.J., Broadley M.R.:** Calcium in plants. *Ann Bot (Lond.)*, 92(4), 487-511, 2003.
60. **White P.J., Whiting S.N., Baker A.J.M., Broadley M.R.:** Does zinc move apoplastically to the xylem in roots of *Thlaspi caerulescens*? *New Phytologist*, 153, 199-211, 2002.
61. **White P.J.:** Calcium channels in higher plants. *Biochim Biophys Acta*, 1465(1-2), 171-89, 2000.
62. **White P.J.:** The pathways of calcium movement to the xylem. *Journal of Experimental Botany*, 52, 891-899, 2001.
63. **Xiong L., Schumaker K.S., Zhu J.K.:** Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell.*, 14 Suppl, S165-83, 2002.

CALCIUM TRANSPORTERS IN PLANTS

Marzena Wińska-Krysiak

Laboratory for Basic Science in Horticulture, Warsaw Agricultural University
ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa
e-mail: winska@alpha.sggw.waw.pl

Abstract. Herein we present an overview of the fate and role of calcium in plants. The article covers Ca^{2+} uptake and transport mechanisms within the plant. Particular attention is given to the role and structure of proteins (Ca^{2+} -ATPases, calcium channels, $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ -antiporters) involved in these processes. We present the structure of transporters on biochemical and molecular level.

Key words: calcium, transport, Ca^{2+} -ATPases, $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ -antiporters, calcium channels