Journal de la Société de Biologie, 195 (3), 303-308 (2001)

Les supports de la spécificité calcique dans la réponse des plantes aux stimuli extracellulaires

par Nicolas Pauly, Annick Graziana, Christian Mazars, Raoul Ranjeva et Patrice Thuleau*

Signaux et Messages Cellulaires chez les Végétaux, Centre National de la Recherche Scientifique, Université Paul Sabatier UMR5546, BP 17 Auzeville, F-31326 Castanet-Tolosan, France.
**Auteur correspondant*

Reçu le 22 mars 2001

RÉSUMÉ

L'ion calcium est maintenant unanimement considéré comme un second messager intracellulaire primordial dans les processus de signalisation chez les végétaux. Il intervient en effet dans le couplage entre la perception d'un grand nombre de stimuli externes et la réponse physiologique adaptative des plantes à chacun de ces signaux. Néanmoins se pose la question de savoir comment la plante peut répondre de manière spécifique alors que la plupart des stimuli conduisent, d'une manière globale, à une augmentation du calcium dans la cellule. Ces dernières années, de nombreuses études ont permis d'apporter des éléments de réponse pouvant expliquer les bases de cette spécificité. Dans cette revue, nous décrivons ces différents éléments qui font intervenir, entre autres, les notions de « voies de signalisation croisées », de « signatures calcium » et de « compartimentation du signal calcium ».

SUMMARY Basis of the specificity in Ca^{2+} signalling processes in plants

The Ca^{2+} cation is fully recognized as an important intracellular second messenger coupling a wide range of extracellular stimuli to characteristic responses in plant cells. Such a pleiotropic effect raises questions regarding the mechanisms by which the signalling pathways, all of then involving an increase in intracellular calcium concentration, can be specific to a given stimulus. Here, we present recent results which shed light into different concepts which may explain the response specificity in signalling processes, such as « the cross-talk between signalling pathways », « the Ca^{2+} signatures » and « the compartmentation of Ca^{2+} -signalling ».

INTRODUCTION

Depuis maintenant plus d'une décennie, l'ion calcium est considéré, chez les végétaux et chez les animaux, comme un élément-clé dans la signalisation cellulaire. Il intervient en effet en tant que second messager dans la cascade d'événements couplant la perception de stimuli extracellulaires à la réponse adaptative de la plante (pour revue, Bush, 1995, Sanders *et al.*, 1999, Reddy, 2001). Le développement des techniques de mesures du taux de calcium par l'utilisation de sondes fluorescentes ratiométriques ou de l'aequorine recombinante, a permis de mieux cerner l'implication du calcium dans ces processus de perception et de transduction de signaux. Le tableau I donne une liste non exhaustive de stimuli induisant une réponse calcique dans le cytosol des cellules végétales. Il en ressort que la plupart des stimuli perçus par les végétaux conduisent à une augmentation du calcium cytosolique bien que la réponse finale demeure spécifique du signal initial. Ainsi, deux hormones végétales, l'acide abscissique et l'auxine, provoquant toutes les deux une augmentation du calcium dans le cytosol des cellules de garde des stomates, induisent une réponse totalement opposée, à savoir respectivement la fermeture des stomates ou leur ouverture (Mc Ainsh *et al.*, 1990; Irving *et al.*, 1992). Il n'y a donc pas de relation linéaire

entre la perception d'un stimulus, l'augmentation de calcium et la réponse biologique, et on peut par conséquent s'interroger sur le rôle de cet ion dans la spécificité de réponse des plantes à un stimulus donné. Dans cette revue, nous présentons des données bibliographiques et expérimentales qui visent à définir les bases de cette spécificité.

Spécificité dans la signalisation calcium-dépendante : origine multifactorielle

On admet actuellement que la spécificité de réponse des plantes à un signal donné ne dépend pas d'un seul facteur. Elle ne peut s'expliquer que par l'intervention de multiples mécanismes qui, selon les situations, agissent indépendamment, en opposition, ou en synergie. L'un des premiers niveaux de spécificité concerne la compétence de la cellule qui perçoit le stimulus. En effet, la cellule doit être en mesure d'exprimer tous les gènes codant les différents acteurs de la cascade de signalisation nécessaires à la transduction, pour répondre de manière adéquate à un signal donné. Ainsi l'imagerie calcique *in vivo* a montré, chez le tabac, qu'un choc froid provoque une réponse beaucoup plus importante dans les cellules des cotylédons et de la racine que dans celles de l'hypocotyle (Knight *et al.*, 1993). Néanmoins, au delà de ce concept de compétence, en supposant que la cellule renferme toute la machinerie lui permettant d'être sensible à un éventail de stimuli, comment fait-elle pour différencier les différents signaux induisant une augmentation du calcium cytosolique ? Quelques éléments de réponse à cette question sont développés dans les paragraphes suivants.

Interconnexions entre voies de signalisation

Pour des raisons de simplicité, une cascade de signalisation est souvent représentée de manière linéaire à savoir : perception du signal – augmentation de la concentration en second messager – prise en charge de ce messager par des protéines relais – réponse biologique. Cependant la présence dans la cellule de seconds messagers autres que le calcium (H^+, phosphoinositides, lipides, nucléotides cycliques, espèces activé de l'oxygène,...) suggère que la réponse finale d'une cellule à un stimulus donné est le résultat d'une interaction complexe entre différentes voies. Par exemple, chez la tomate, les voies de signalisation phytochrome-dépendante en réponse à la lumière impliquent l'intervention simultanée et coordonnée du Ca^{2+} et du GMPc (Bowler *et al.*, 1994 ; Neuhaus *et al.*, 1997). Par ailleurs, il a pu être observé, dans de nombreux cas, en parallèle à la modification du calcium cytosolique, une variation du pH intracellulaire (pour revue, Bush, 1995). Il semble donc qu'une illustration plus juste de la réponse d'une cellule végétale à un stimulus donné serait l'établissement d'un réseau complexe de voies de signalisation, similaire à la représentation d'un plan du métropolitain parisien.

« Signatures calcium »

Cette notion développée depuis quelques années (McAinsh & Heterington, 1998) repose sur l'observation que la réponse calcique dans la cellule varie selon le stimulus perçu. Ainsi, l'augmentation du calcium peut être rapide et transitoire ou être soutenue dans le temps, elle peut prendre la forme d'oscillations ou de vagues, ou encore l'amplitude et la localisation dans le cytosol du ou des pics calciques peuvent être variables (tableau I). Plus récemment à ces aspects cinétiques, de forme et de localisation du signal calcique, s'est ajoutée la notion de compartimentation du signal calcium, d'autres compartiments intracellulaires tels que les chloroplastes ou le noyau pouvant participer activement aux processus de signalisation dépendant du calcium (Jonhson *et al.*, 1995 ; Pauly *et al.*, 2000 ; Pauly *et al.*, 2001). Ces différents aspects, qui contribuent à une signature calcium spécifique d'un stimulus donné, soulèvent néanmoins plusieurs questions. Par quels mécanismes sont engendrées des signatures calcium spécifiques et quels sont les processus qui permettent à la cellule de décoder ces signatures pour aboutir à une réponse biologique adaptée ? Les réponses à ces questions reposent essentiellement sur plusieurs éléments, la provenance du calcium à l'origine du signal, la régulation des sytèmes contrôlant son homéostasie et les cibles moléculaires de l'ion.

L'origine du calcium

Les signaux calcium cytosoliques en réponse à des stimuli sont essentiellement la résultante de deux mécanismes opposés, d'une part un influx de l'ion dans le cytosol, d'autre part son efflux. La coordination de ces deux mécanismes et leur efficacité relative vont contribuer a une signature spécifique. Ces dernières années, de nombreuses recherches ont donc visé à identifier les transporteurs de calcium présents sur les différentes membranes cellulaires en particulier la membrane plasmique, la membrane vacuolaire ou tonoplaste et la membrane du reticulum endoplasmique. Ainsi on peut distinguer dans chaque membrane deux grands types de système de transports : les transporteurs actifs, des ATPases à calcium et des échangeurs H^+/Ca^{2+}, qui assurent l'extrusion de l'ion hors du cytoplasme et les transporteurs passifs fonctionnant dans le sens du gradient de concentration de l'ion (les canaux calcium) qui, pour leur part, assurent l'entrée dans la cellule. Si, à ce jour, les données concernant le rôle des transporteurs actifs dans les processus de signalisation chez les végétaux restent fragmentaires (Sze *et al.*, 2000), les canaux calcium ont, quant à eux, retenu l'attention d'un bon nombre de chercheurs. Ainsi, il a pu être mis en évidence plusieurs types de canaux sur les différentes membranes cellulaires indiquant que le calcium cytosolique peut avoir une origine soit extracellulaire, soit intracellulaire, la vacuole ou le reticulum endoplasmique (pour revue, Thuleau *et al.*, 1998 ; Sanders *et al.*, 1999, White, 2000). Il est en outre intéressant de noter que tous ces canaux présentent une régulation différente. En particulier, il a

Tableau1. – Exemples de réponses calciques chez les végétaux.

stimuli	Organisme/ Type Cellulaire	Type de signal	Méthodes de mesures	Réponse biologique observée	Références
Acide abscissique	*Commelina;* cellule de garde	Augmentions répétées	a	Fermeture des stomates	Gilroy *et al.*, 1990 ; McAinsh *et al.*, 1990
	Vicia; cellule de garde	Influx répétés	c	Fermeture des stomates	Schroeder & Hagiwara, 1990
	Sorgho; protoplaste d'aleurone	Elévation et plateau	a	Synthèse et sécrétion de l'a-amylase	Bush & Jones, 1988
Aluminium	Tabac; Culture cellulaire	Diminution	a		Jones *et al.*, 1998b
	Arabidopsis; poils absorbants	Élévation prolongée	a		Jones *et al.*, 1998a
Anoxie	Maïs; Culture cellulaire	Pic transitoire	a	Expression génique	Subbaiah *et al.*, 1998a
Auxine	Maïs; coléoptile	Pic transitoire	a	Elongation et division cellulaire	Gehring *et al.*, 1990
Calcium extracellulaire	*Arabidopsis;* cellules de garde	Oscillations	e	Fermeture des stomates	Allen *et al.*, 1990
Choc froid	Tabac; épidermes	Pic transitoire	b		Knight *et al.*, 1990
	Arabidopsis; plantules	Pic transitoire	b	Expression génique	Knight *et al.*, 1990
Choc thermique	Tabac; plantules	Élévation	b	Thermotolérance	Gong *et al.*, 1990
Cytokinines	*Funaria caulonema*	Elévation et plateau	a		
Facteurs Nod	Luzerne; poils absorbants	Oscillations	a	Courbure des poils absorbants	Ehrhardt *et al.*, 1996
Fusion gamétophytique	Maïs; gamètes	Influx membranaire	d		Antoine *et al.*, 2000
Gravité	Maïs; coléoptiles	Augmentation	a		Gehring *et al.*, 1998
H_2O_2	*Arabidopsis;* plantules	Pic transitoire	b		Knight *et al.*, 1998
H_2O_2	Tabac; culture cellulaire	Pic transitoire	b		Price *et al.*, 1994
H_2O_2	*Arabidopsis;* cellules de garde	Influx	c		Pei *et al.*, 2000
Hyper-osmotique	Arabidopsis; plantules	Pic transitoire	b	Synthèse de proline	Kiegle et al., 2000 ; Knight *et al.*, 1997
Hypo-osmotique	*Fucus;* Rhizoïde	Vague calcique	a	Osmoadaptation	Goddard *et al.*, 2000 ; Taylor *et al.*, 1996
	Tabac; Culture cellulaire	Pic transitoire	b		Cessna *et al.*,1998 ; Takahashi *et al.*, 1997
Lumière bleue	Tabac; plantules	Pic transitoire	b		Baum *et al.*,1999
Lumière rouge	Blé; protoplastes	Pic transitoire	a	Photomorphogenèse	Shacklock *et al.*,1992
Mastoparan	Tabac; culture cellulaire	Pic transitoire	b		Takahashi *et al.*,1998
Ozone	*Arabidopsis*; plantules	Augmentation	b	Production d'espèces activées de l'oxygène	Clayton *et al.*,1999
Pathogènes et éliciteurs	Persil; protoplastes	Influx transitoire	c		Zimmermann *et al.*,1997
	Persil; Culture cellulaire	Elévation et plateau	b	Synthèse de phytoalexines	Blume *et al.*, 2000
	Tabac; épiderme	Pic transitoire	b		Knight *et al.*, 1991
	Tabac; épidermes	Pic transitoire	b	Retard de croissance	Knight *et al.*, 1991
Vent	Tabac; plantules	Pic transitoire	b	Expression génique	Van Der Luit *et al.*, 1999

a : sonde fluorescente; b : aequorine; c : patch-clamp; d : sonde vibrante; e : protéine caméléon.

pu être caractérisé sur le tonoplaste des canaux calcium activés par l'inositol 1,4,5 triphosphate et d'autres régulés par le ADPc-ribose (deux seconds messagers importants dans les processus de signalisation). Par ailleurs, de la même façon, on a identifié sur la membrane plasmique différents types de canaux calcium dont la régulation varie selon l'origine tissulaire des cellules et les plantes retenues. Certains seraient activés par le voltage et d'autres par des contraintes mécaniques ou des composés fongiques éliciteurs de réactions de défense des végétaux. Bien qu'à ce jour aucune preuve formelle n'ait été encore apportée, les différentes données suggèrent que ces canaux seraient des acteurs clés dans les processus de signalisation, et pourraient contribuer de manière importante, par leurs propriétés, à la spécificité de réponse des plantes à un signal (Thuleau *et al.*, 1998 ; Sanders *et al.*, 1999). Dans ce cadre, des études récentes sur les cellules de garde d'*Arabidopsis thaliana* et de *Vicia faba*, ont montré l'activation d'un canal calcium de la membrane plasmique par l'acide abscissique et H_2O_2 (Hamilton *et al.*, 2000 ; Pei *et al.*, 2000). Néanmoins, les données expérimentales ne permettent pas d'attribuer à un stimulus donné une origine précise du calcium. En effet, il a pu être démontré par exemple que le choc froid ou la sécheresse induisent aussi bien une entrée de l'ion du milieu extérieur qu'un relargage de calcium vacuolaire (Knight *et al.*, 1996 ; Knight *et al.*, 1997). De même pour la réponse des cellules à l'acide abscissique, l'origine du calcium est controversé, certains auteurs ayant observé l'implication de pools intracellulaires alors que d'autres suggèrent une entrée du milieu extérieur (McAinsh *et al.*, 1991 ; Wood *et al.*, 2000). Il est donc clair que l'origine de l'ion ne peut pas expliquer à elle seule la spécificité d'un signal calcium.

Les cibles du calcium

De plus en plus d'arguments expérimentaux tendent à démontrer l'importance de la machinerie cellulaire en aval de la réponse calcique dans la mise en place d'une réponse spécifique. Les données du séquençage systématique du génome d'*Arabidopsis* indiquent la présence, chez les végétaux, d'un grand nombre de protéines présentant des motifs « EF-hands », responsables de la fixation des ions calcium. Nous ne présenterons pas ici toutes ces protéines dont les fonctions, quand elles sont connues, apparaissent très diverses. Nous nous limiterons seulement à quelques généralités. Les cibles du calcium peuvent être divisées en deux grandes classes. La première regroupe des protéines constituant la cible finale du calcium, la fixation de l'ion contribuant directement à la réponse biologique de la cellule. Les canaux anioniques de la membrane plasmique des cellules de garde des stomates font partie de cette catégorie. Ainsi ces protéines, impliquées dans l'extrusion des ions du cytoplasme participant ainsi à la fermeture des stomates, sont directement activées par une augmentation du calcium cytosolique (Schroeder & Keller, 1992). Par ailleurs, par analogie au modèle animal (Carrion *et al.*, 1999) bien que n'ayant pas été à ce jour mis en évidence, on peut supposer chez les plantes l'existence de facteurs de transcription reconnaissant le calcium, la fixation de l'ion régulant ainsi directement l'expression de gènes. La deuxième catégorie, de loin la plus importante, est constituée de protéines relais (« senseurs primaires ») appartenant aux éléments de la cassette de signalisation et qui sont de ce fait des intermédiaires dans la chaîne de transduction conduisant à la réponse finale. La calmoduline ainsi que des kinases, des phosphatases ou des phospholipases font partie de cette famille. Ces différentes protéines, par le nombre de leurs isoformes, présentant une compartimentation cellulaire et des affinités variables pour le calcium, contribuent à définir la spécificité de réponse à un signal donné.

– *La calmoduline*

Parmi les protéines affines pour le calcium, la calmoduline est de loin la plus étudiée. Ne présentant pas d'activité catalytique propre, le complexe Ca^{2+}-calmoduline est capable d'activer en aval un grand nombre de protéines intervenant dans différents processus cellulaires allant du métabolisme primaire, à la régulation d'activités de transporteur d'ions. Des isoformes de la calmoduline ayant des affinités différentes contribuent à la spécificité de réponses des plantes aux stimuli extracellulaires (pour revue, Sneden & Fromm, 1998 ; Zielinski, 1998).

– *Les protéines kinases calcium-dépendantes*

Une autre population de protéines très étudiée dans le domaine végétal est la famille des « calcium-dépendante protéine kinases » (CDPKs) (pour revue, Harmon *et al.*, 2000). Les CDPKs sont une famille de kinases unique et spécifique au règne végétal et aux protozoaires. Elles présentent dans leur partie C-terminale un domaine de régulation très homologue avec la calmoduline. La quantité importante d'isoformes de CDPKs (12 chez *Arabidopsis*), en comparaison du nombre faible de « calmoduline-dépendante kinases » ou de protéines kinases C, laisse supposer que, chez les plantes, la majorité des processus de phosphorylation associés au calcium passent par des voies CDPK-dépendantes. Comme pour la calmoduline, la liste des protéines cibles des CDPKs ne cesse d'augmenter et il ne fait plus de doute aujourd'hui que ces protéines sont impliquées dans un grand nombre de voies de transduction de signaux (Harmon *et al.*, 2000).

– *Les phosphatases*

Le rôle des phosphatases calcium-dépendantes (calcineurine) dans les processus de signalisation chez les végétaux apparaît également de plus en plus évident. Ainsi, il a pu être montré que ces protéines interviennent dans la régulation de canaux ioniques importants dans les processus d'ouverture et de fermeture des stomates (Luan *et al.*, 1993). De même, des travaux sur un mutant hypersensible au NaCl (*sos3*) affecté sur une protéine homologue à la sous-unité β de la calcineurine de levure, suggèrent que cette protéine aurait un rôle dans la réponse des plantes au stress salin (Liu & Zu, 1998). D'une

manière plus générale, certains auteurs ont emis l'hypothèse de l'intervention couplée de phosphatases Ca^{2+}-dépendantes et de kinases Ca^{2+}-indépendantes dans le décryptage des signatures calcium de type oscillatoire (cf. tableau I), par le biais de phosphorylations/déphosphorylations successives de protéines cibles (McAinsh & Hetherington, 1998).

La compartimentation du signal calcium

Comme nous l'avons mentionné précédemment, selon le stimulus perçu par la cellule, les pics calcium dans le cytosol vont prendre des configurations variées par leur cinétique, leur intensité, leur forme ou leur localisation (tableau I). Au delà de ces paramètres, différents arguments tendent à montrer l'importance d'organites cellulaires dans les processus de signalisation. Ainsi dans les chloroplastes de tabac, des variations de calcium de type oscillatoire associées aux rythmes circadiens ont pu être enregistrées (Johnson *et al.*, 1995). Par ailleurs, des études plus récentes suggèrent l'intervention du compartiment nucléaire. En effet, en réponse aux facteurs Nod, molécules bactériennes à l'origine des processus de nodulation des légumineuses, des pics calcium ont été observés dans l'espace périnucléaire des cellules de poils absorbants des racines de luzerne (Ehrhardt *et al.*, 1996). De même, chez le fucus, un choc hypoosmotique provoque un signal calcium dans la région perinucléaire du rhizoïde (Goddard *et al.*, 2000). Enfin, au laboratoire en utilisant un réactif pharmacologique, le mastoparan, capable d'induire des réponses calciques aussi bien dans le compartiment nucléaire que dans le cytosol, nous avons pu montrer que le noyau chez le tabac était capable de générer sa propre réponse calcique indépendamment du cytoplasme (Pauly *et al.*, 2000) et qu'il était impliqué dans la signalisation calcium-dépendante en réponse à des contraintes osmotiques (Pauly *et al.*, 2001).

Conclusions

De nombreux facteurs contribuent à expliquer le rôle du calcium dans la spécificité de réponse des plantes à un stimulus. L'un des principaux objectifs des études menées dans différents laboratoires visent maintenant à démontrer sans ambiguïté un lien entre une signature calcium donnée et une réponse biologique adaptée. Dans ce cadre, des travaux récents montrent, chez le persil, que le signal calcique induit par une protéine fongique (Pep13 de *Phytophtora sojae*) contrôle la synthèse de phytoalexines, composés de défense des plantes (Blume *et al.*, 2000). Néanmoins, seules les molécules élicitrices, comme Pep 13, capables d'induire une variation soutenue du calcium provoquent la réponse biologique. Les signaux qui ne provoquent qu'un pic calcique transitoire (choc froid par exemple) sont sans effet (Blume *et al.*, 2000). Parallèlement, chez *Arabidopsis*, il a été montré que des réponses calciques de type oscillatoire dans les cellules de garde sont nécessaires à la fermeture des stomates (Allen *et al.*, 2000). Ainsi, en reproduisant artificiellement des oscillations calciques chez le mutant *det3* incapable de fermer les stomates en réponse à un stress oxydatif ou à des variations de calcium externe, les auteurs ont pu restaurer la réponse biologique. Ces deux exemples illustrent donc l'importance de la forme et de la cinétique d'un signal calcium dans la mise en place d'une réponse spécifique.

Il est à attendre que l'avenir apportera non seulement des exemples supplémentaires mais surtout des données permettant d'établir un lien entre la compartimentation du signal calcium et la réponse biologique à un stimulus donné.

Remerciements. – Les auteurs remercient le CNRS, l'Université Paul Sabatier, la région Midi-Pyrénées et le CNES pour leur soutien financier.

BIBLIOGRAPHIE

Allen G.J., Kwak J.M., Chu S.P., Llopis J., Tsien R.Y., Harper, J.F. & Schroeder J.I. Cameleon calcium indicator reports cytoplasmic calcium dynamics in *Arabidopsis* guard cells. *Plant J.*, 1999, *19*, 735-747.

Allen G.J., Chu S.P., Schumacher K., Shimazaki C.T., Vafeados D., Kemper A., Hawke S.D., Tallman G., Tsien R.Y., Harper J.F., Chory J. & Schroeder J.I. *Alteration of stimulus-specific guard cell calcium oscillations and stomatal closing in Arabidopsis det3 mutant. Science, 2000,* 289, *2338-2341.*

Antoine A.F., Faure J.E., Cordeiro S., Dumas C., Rougier M. & Feijo J.A. A calcium influx is triggered and propagates in the zygote as a wavefront during *in vitro* fertilization of flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, *97*, 10643-10648.

Baum G., Long J.C., Jenkins G.I. & Trewavas A.J. Stimulation of the blue light phototropic receptor NPH1 causes a transient increase in cytosolic Ca^{2+}. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 1999, 96, 13554-13559.

Blume B., Nürnberger T., Nass N. & Scheel D. Receptor-mediated increase in cytoplasmic free calcium required for activation of pathogen defense in Parsley. *Plant Cell, 2000,* 12, 1425-1440

Bowler C., Neuhaus G., Yamagata H. & Chua N.-H. Cyclic GMP and calcium mediate phytochrome phototransduction. *Cell*, 1994, *77*, 73-81.

Bush D.S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1995, *46*, 95-122.

Bush D.S. & Jones R.L. Cytoplasmic calcium and alpha-amylase secretion from barley aleurone protoplasts. *Eur. J. Cell Biol.*, 1988, *46*, 466-469.

Carrion A.M., Link W.A., Ledo F., Mellstrom B. & Naranjo J.R. Dream is a Ca^{2} +-regulated transcriptional repressor. *Nature*, 1999, *398*, 80-84.

Cessna S.G., Chandra S. & Low P.S. Hypo-osmotic shock of tobacco cells stimulates Ca^{2} + fluxes deriving first from external and then internal Ca^{2} + stores. *J. Biol. Chem.*, 1998, *273*, 27286-27291.

Clayton H., Knight M.R., Knight H., McAinsh M.R. & Hetherington A.M. Dissection of the ozone-induced calcium signature. *Plant J.*, 1999, *17*, 575-579.

Ehrhardt D.W., Wais R. & Long S.R. Calcium spiking in plant root hairs responding to *Rhizobium* nodulation signals. *Cell*, 1996, *85*, 673-681.

Gehring C.A., Williams D.A., Cody S.H. & Parish R.W. Phototropism and geotropism in maize coleoptiles are spatially correlated with increase in cytosolic free calcium. *Nature*, 1990, *345*, 528-530.

Gilroy S., Fricker M.D., Read N.D. & Trewavas A.J. Role of calcium in signal transduction of *Commelina* guard cells. *Plant Cell*, 1990, *3*, 333-344.

Goddard, H., Manison, N. F., Tomos, D. & Brownlee, C. Elemental propagation of calcium signals in response-specific patterns determined by environmental stimulus strength. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 1932-1937.

Gong M., van der Luit A.H., Knight M.R. & Trewavas A.J. Heat-shock-induced changes in intracellular calcium level in tobacco seedlings in relation to thermotolerance. *Plant Physiol.*, 1998, *116*, 429-437.

Hahm S.H. & Saunders M.J. Cytokinin increases intracellular Ca^{2+} in *Funaria*: detection with Indo-1. *Cell Calcium*, 1991, *12*, 675-681.

Hamilton DWA, Hills A, Köhler B, Blatt MR. Ca^{2+} channels at the plasma membrane of stomatal guard cells are activated by hyperpolarization and abscisic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, *97*, 4967-4972.

Harmon A.C., Gribskov M. & Harper J.F. CDPKs – a kinase for every Ca^{2+} signal. *Trends Plant Sci.*, 2000, *5*, 154-159.

Irving H.R., Gehring C.A. & Parish R.W. Changes in cytosolic pH and calcium of guard cells precede stomatal movements. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, *89*, 1790-1794.

Johnson C., Knight M.R., Kondo T., Masson P., Sedbrook J., Haley A. & Trewavas A.J. Circadian oscillations in cytosolic and chloroplast free calcium in transgenic luminous plants. *Science*, 1995, *269*, 1863-1866.

Jones D.L., Gilroy S., Larsen P.B., Howell S.H. & Kochian L.V. Effect of aluminum on cytoplasmic Ca^{2} + homeostasis in root hairs of *Arabidopsis thaliana* (L.). *Planta*, 1998a, *206*, 378-387.

Jones D.L., Kochian L.V. & Gilroy S. Aluminium induces a decrease in cytosolic calcium concentration in BY-2 tobacco cell cultures. *Plant Physiol.*, 1998b, *116*, 81-89.

Kiegle E., Moore C.A., Haseloff J., Tester M.A. & Knight M.R. Cell-type-specific calcium responses to drought, salt and cold in the *Arabidopsis* root. *Plant J.*, 2000, *23*, 267-278.

Knight H., Brandt S. & Knight M.R. A history of stress alters drought calcium signalling pathways in *Arabidopsis*. *Plant J.*, 1998, *16*, 681-687.

Knight, H., Trewavas A.J. & Knight M.R. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. *Plant Cell*, 1996, *8*, 489-503.

Knight, H., Trewavas A.J. & Knight M.R. Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. *Plant J.*, 1997, *12*, 1067-1078.

Knight M.R., Campbell A.K., Smith S.M. & Trewavas A.J. Transgenic plant aequorin reports the effects of touch and cold-shock and elicitors on cytoplasmic calcium. *Nature*, 1991, *352*, 524-526.

Knight M.R., Read N.D., Campbell A.K. & Trewavas A.J. Imaging calcium dynamics in living plants using semi-synthetic recombinant aequorins. *J. Cell Biol.*, 1993, *121*, 83-90.

Liu J. & Zhu J.-K. A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. *Science*, 1998, *280*, 1943-1945.

Luan S., Li W., Rusnak F., Assman S.M. & Schreiber S.L. Immunosuppressants implicate protein-phosphatase regulation of K + channels in guard cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, *91*, 2202-2206.

McAinsh M.R., Brownlee C. & Hetherington A.M. Abscisic acid-induced elevation of guard cell cytosolic Ca^{2+} precedes stomatal closure. *Nature*, 1990, *343*, 186-188.

McAinsh M.R., Brownlee C. & Hetherington A.M. Partial inhibition of ABA-induced stomatal closure by calcium channel blockers. *Proc. R. Soc. Lond. [B]*, 1991, *243*, 195-201.

McAinsh M.R. & Hetherington A.M. Encoding specificity in Ca^{2+} signalling systems. *Trends Plant Sci.*, 1998, *3*, 32-36.

Neuhaus G., Bowler C., Hiratsuka K., Yamagata H. & Chua N.-H. Phytochrome-regulated repression of gene expression requires calcium and cGMP. *EMBO J.*, 1997, *16*, 2554-2564.

Pauly N., Knight M. R., Thuleau P., Graziana A., Muto S., Ranjeva R. & Mazars C. The nucleus together with the cytosol generate patterns of specific cellular calcium signatures in tobacco suspension culture cells. *Cell Calcium*, 2001, sous presse.

Pauly N., Knight M. R., Thuleau P., Moreau M., Van Der Luit A., Trewavas A. J., Ranjeva R. & Mazars C. Control of free calcium in plant nuclei. *Nature*, 2000, *405*, 754-755.

Pei Z.-M., Murata Y., Benning G., Thomine S., Klüsener B., Allen G.J., Grill E. & Schroeder J.I. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature*, 2000, *406*, 731-734.

Price A.H., Taylor A., Ripley S.J., Griffith A., Trewavas A.J. & Knight M.R. Oxidative signals in tobacco increase cytosolic calcium. *Plant Cell*, 1994, *6*, 1301-1310.

Reddy A.S.N. Calcium : silver bullet in signaling. *Plant Sci.*, 2001, *160*, 381-404.

Sanders D., Brownlee C. & Harper J.F. Communicating with calcium. *Plant* Cell, 1999, *11*, 691-706.

Schroeder J.I. & Hagiwara, S. Repetitive increases in cytosolic Ca^{2} + of guard cells by abscisic acid activation of nonselective Ca^{2} + permeable channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, *87*, 9305-9309.

Schroeder J.I. & Keller B.U. Two types of anion channel currents in guard cells with distinct voltage regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, *89*, 5025-5029.

Shacklock P.S., Read N.D. & Trewavas A J. Cytosolic free calcium mediates red light-induced photomorphogenesis. *Nature*, 1992, *358*, 753-755.

Sneden W.A & Fromm H. Calmodulin, calmodulin-related proteins and plant responses tothe environment. *Trends Plant Sci.*, 1998, *3*, 299-304.

Subbaiah C.C., Bush D.S. & Sachs M.M. Elevation of cytosolic calcium precedes anoxic gene expression in maize suspension-cultured cells. *Plant Cell*, 1994, *6*, 1747-1762.

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. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 2000, *51*, 433-462.

Takahashi K., Isobe M. & Muto S. An increase in cytosolic calcium ion concentration precedes hypoosmotic shock-induced activation of protein kinases in tobacco suspension culture cells. *FEBS Lett.*, 1997, *401*, 202-206.

Takahashi K., Isobe M. & Muto S. Mastoparan induces an increase in cytosolic calcium ion concentration and subsequent activation of protein kinases in tobacco suspension culture cells. Biochem. Biophys. Acta, 1998, *1401*, 339-346.

Taylor C.W., Manison N.F., Fernandez C., Wood J.W. & Brownlee C. Spatial organization of calcium signaling involved in cell volume control in the *fucus* rhizoid. *Plant Cell*, 1996, *8*, 2015-2031.

Thuleau P., Schroeder J.I. & Ranjeva R. Recent Advances in the regulation of plant calcium channels: evidence for regulation by G-proteins, the cytoskeleton and second messengers. *Curr. Opi. Plant Biology*,1998, *1*, 424-427.

Van Der Luit A.H., Olivari C., Haley A., Knight M.R. & Trewavas, A. J. Distinct calcium signaling pathways regulate calmodulin gene expression in tobacco. *Plant Physiol.*, 1999, *121*, 705-714.

White P.J. Calcium channels in higher plants. *Biochemica et Biophysica Acta*, 2000, *1465*, 171-189.

Wood N.T., Allan A.C., Viry-Moussaïd M. & Trewavas A.J. The characterization of differential calcium signalling in tobacco guard cells. *Plant J.*, 2000, *24*, 335-344.

Zielinski R.E. Calmodulin and calmodulin-binding proteins in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, *49*, 697-725.

Zimmermann S., Nurnberger T., Frachisse J.-M., Wirtz W., Guern J., Hedrich R. & Scheel D. Receptor-mediated activation of a plant Ca^{2} +-permeable ion channel involved in pathogen defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, *94*, 2751-2755.