

# Les senseurs de calcium dans la signalisation osmotique chez les plantes

Marie Boudsocq

Institut des Sciences du Végétal, CNRS UPR2355, 1 avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France

Auteur correspondant : Marie Boudsocq, [boudsocq@isv.cnrs-gif.fr](mailto:boudsocq@isv.cnrs-gif.fr)

Reçu le 20 mai 2009

**Résumé** – Le calcium est un second messager essentiel qui centralise les réponses à divers signaux développementaux et environnementaux. Les signatures calciques, spécifiques de chaque stimulus, sont perçues et décodées par divers senseurs de calcium qui induisent alors les réponses appropriées. La calmoduline est le médiateur de calcium le plus important et le mieux conservé chez les eucaryotes. D'autres senseurs spécifiques des plantes sont codés par des familles multigéniques comme les *calcineurin B-like* et les protéines kinases dépendantes du calcium. La fixation du calcium sur les senseurs induit un changement conformationnel qui modifie alors leur interaction avec des partenaires ou leur activité enzymatique. Les senseurs de calcium ainsi activés régulent leurs protéines cibles qui peuvent être impliquées dans la transduction du signal, comme des protéines kinases ou des facteurs de transcription, ou directement dans la protection cellulaire face aux dommages induits par les stress, comme des transporteurs d'ions ou des enzymes de détoxification. Le calcium joue un rôle important dans la signalisation osmotique induite par le froid, la sécheresse et la salinité. La multiplicité des senseurs de calcium végétaux associés aux diverses cibles cellulaires constituent un réseau de signalisation finement régulé qui induit des réponses de stress spécifiques et améliore la survie des plantes dans un environnement défavorable.

**Mots clés** : Calcium / calmoduline / protéines *calcineurin B-like* / protéines kinases  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendantes / contraintes osmotiques

**Abstract** – Plant calcium sensors in osmotic signaling.

Calcium is an essential second messenger that mediates plant responses to developmental and environmental clues. Specific calcium signatures are sensed and decoded by diverse  $\text{Ca}^{2+}$  sensors to induce appropriate downstream responses. Calmodulin is the most important and conserved  $\text{Ca}^{2+}$  transducer in all eukaryotes. Additional plant-specific sensors are encoded by multigene families, i.e. calcineurin B-like and  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinases. Calcium binding induces structural conformational changes in  $\text{Ca}^{2+}$  sensors, resulting in the modification of protein interaction or enzymatic activity. Activated  $\text{Ca}^{2+}$  sensors subsequently regulate downstream targets which can be involved in signal transduction, like protein kinases and transcription factors, or in direct cell protection from stress damages, like ion transporters or detoxification enzymes.  $\text{Ca}^{2+}$  plays an important role in osmotic signaling triggered by cold, drought and salinity. The multiplicity of plant calcium sensors associated with diverse cellular targets constitute a tightly regulated signaling network that induces specific stress responses to improve plant survival under unfavourable conditions.

**Key words**: Calcium / calmodulin / calcineurin B-like proteins /  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinases / osmotic stress

## Introduction

Le calcium représente le second messager majeur des voies de transduction chez les plantes et les animaux (Hepler, 2005). Il est maintenu en faible concentration dans le cytosol par des mécanismes d'extrusion et de séquestration dans les organelles (McAinsh & Pittman, 2009). Cette compartimentation du calcium et sa faible diffusion permettent la formation de signaux calciques capables d'induire des réponses cellulaires, telles que la modification d'activités enzymatiques ou la régulation d'expression de gènes (McAinsh & Pittman, 2009). Chez les plantes, des augmentations rapides et transitoires de la concentration en calcium cytosolique  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  ont été observées en réponse à de multiples stimuli développementaux et environnementaux (White & Broadley, 2003). Ces signaux calciques varient en amplitude, en fréquence, ainsi que par la localisation et l'origine du calcium, et constituent ainsi des signatures spécifiques de chaque stimulus. Ils sont générés par différents systèmes de transport qui sont présents sur la majorité des membranes végétales (McAinsh & Pittman, 2009). L'influx de calcium dans le cytosol s'effectue selon le gradient électrochimique *via* des canaux régulés par le potentiel membranaire ou la fixation de ligands comme l'inositol triphosphate (IP<sub>3</sub>). L'efflux de calcium hors du cytosol permet de moduler la forme du signal calcique, de renflouer les compartiments de stockage et de retourner au niveau de base. Il est assuré par des pompes à calcium de type ECA (*Endoplasmic reticulum-type Ca<sup>2+</sup>-ATPases*) et ACA (*Auto-inhibited Ca<sup>2+</sup>-ATPases*), et par des transporteurs tels que les échangeurs H<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> CAX (*CA*lcium *EX*changer).

Les signaux calciques doivent être décodés par des protéines senseurs capables de reconnaître les modulations du calcium et de les traduire en réponse biochimique. Chez les plantes, ces senseurs se regroupent en trois familles majeures (White & Broadley, 2003; Reddy & Reddy, 2004) : la calmoduline (CaM), les protéines *calcineurin B-like* (CBLs) et les protéines kinases dépendantes du calcium (CDPKs ou CPKs). Ces senseurs diffèrent par leur affinité pour le calcium, leur expression, leur localisation et leurs substrats, ce qui contribue à la spécificité de la signalisation calcique.

Le calcium joue un rôle important dans la signalisation osmotique qui est induite par la forte salinité, la sécheresse et le froid. Ces contraintes osmotiques, qui entraînent une réduction de la turgescence et une perte d'eau, représentent les facteurs environnementaux affectant le plus la production des plantes cultivées. La phytohormone acide abscissique (ABA), produite lors des contraintes osmotiques, régule une partie des réponses cellulaires comme la fermeture des stomates,

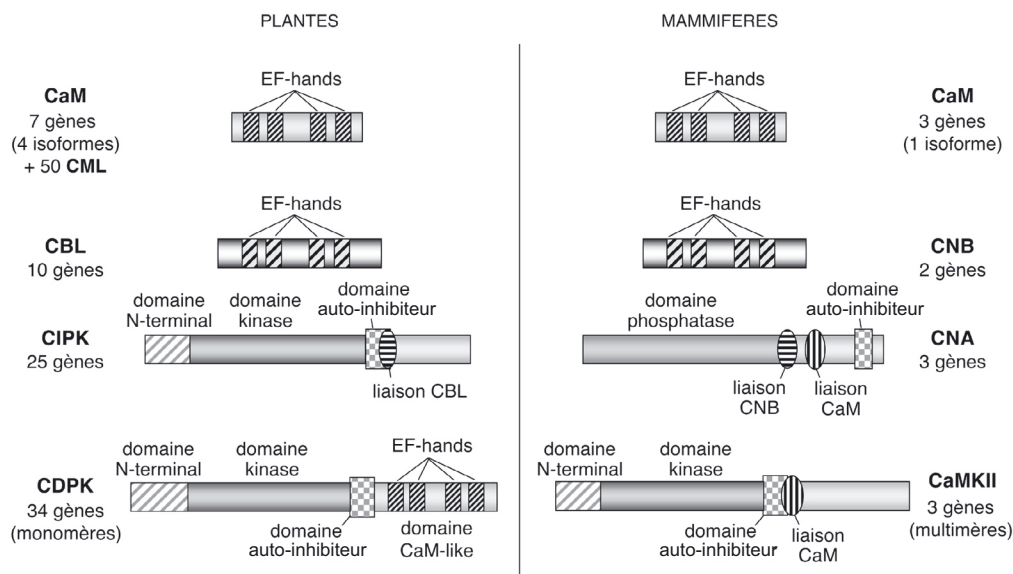
ou l'expression de certains gènes. Cette revue présente les connaissances actuelles sur les senseurs de calcium végétaux dans la signalisation osmotique.

## 1 Caractérisation des senseurs de calcium végétaux

Les senseurs de calcium se classent en deux catégories : (i) les senseurs relais, comme la calmoduline et les CBLs qui ne possèdent aucune activité enzymatique propre et doivent transmettre le changement de conformation induit par le calcium à des protéines cibles, (ii) les senseurs répondeurs comme les CDPKs, dont l'activité enzymatique est directement modulée par la liaison au calcium. Ces trois types de senseurs constituent des familles multigéniques chez les plantes (figure 1). Ils sont caractérisés par la présence de motifs hélice-boucle-hélice appelés *EF-hand* qui lient le calcium.

### 1.1 La calmoduline et les protéines *calmodulin-like*

La calmoduline est une petite protéine de 149 acides aminés composée de 2 paires de motifs *EF-hand* (Yang & Poovaiah, 2003). Elle présente une très forte sélectivité pour le calcium, avec un  $K_d$  compris entre  $10^{-6}$  et  $10^{-7}$  M. La liaison du calcium fait passer la calmoduline d'une structure globulaire fermée à une conformation ouverte, exposant deux surfaces hydrophobes capables d'interagir avec des protéines (Yang & Poovaiah, 2003). L'interaction entraîne l'activation ou l'inhibition de la protéine cible (Lee *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2005b; Yoo *et al.*, 2005). Une particularité essentielle de la CaM réside dans sa capacité à réguler un large spectre de protéines impliquées dans des processus cellulaires variés tels que le métabolisme, le transport d'ions, l'organisation du cytosquelette et la régulation d'expression de gènes (Reddy & Reddy, 2004; Bouché *et al.*, 2005). La calmoduline est une des protéines eucaryotiques les plus conservées au cours de l'évolution. Alors que trois gènes *CaM* codent une même protéine chez les mammifères, le génome d'*Arabidopsis* contient sept gènes *CaM* codant quatre isoformes qui ne varient que d'un à quatre acides aminés. Les gènes *CaM* semblent donc soumis à une très forte sélection pour maintenir la séquence primaire. Cette redondance génétique unique pourrait s'expliquer par le besoin d'une grande quantité de protéines simultanément, probablement dû à la multitude de protéines cibles des CaMs (Reddy & Reddy, 2004; Bouché *et al.*, 2005; McCormack *et al.*, 2005). Parallèlement, les CaMs peuvent aussi présenter des spécificités fonctionnelles, dues à des différences d'expression, de localisation



**Fig. 1.** Structure des principaux senseurs de calcium chez les plantes : spécificités et similarités avec leurs équivalents animaux. Les senseurs végétaux sont codés par des familles multigéniques comportant jusqu'à 34 membres chez *Arabidopsis*, alors que les familles équivalentes chez les mammifères ne contiennent au maximum que 3 gènes. Les CaMs et CBLs sont des senseurs relais qui lient le calcium sur les motifs *EF-hand*. Les CaMs animales et végétales régulent alors une multitude de protéines impliquées dans divers processus cellulaires. En revanche, les CBLs, spécifiques des plantes, activent principalement les protéines kinases CIPKs en interagissant avec le domaine FISL/NAF (liaison CBL) pour lever l'auto-inhibition. Chez les mammifères, la sous-unité régulatrice CNB active la sous-unité catalytique CNA de la calcineurine, une protéine phosphatase qui requiert également la liaison de la CaM pour son activité. Les CDPKs végétales sont des senseurs répondeurs directement activés par la liaison du calcium sur les motifs *EF-hand*. À l'inverse, les CaMKII animales sont activées par fixation de la CaM sur un motif chevauchant avec le domaine auto-inhibiteur.

et de protéines cibles (Yang & Poovaiah, 2003). De façon surprenante et contrairement aux mammifères, le génome d'*Arabidopsis* contient également 50 gènes *CaM-like* (CML) qui possèdent des séquences plus divergentes et parfois des domaines fonctionnels additionnels (McCormack *et al.*, 2005). Cette diversité de CaMs et CMLs chez les végétaux offre un plus large spectre de protéines cibles, ainsi qu'une régulation plus fine. En effet, les protéines cibles sont modulées de façon différentielle par les CaMs et CMLs, les cibles étant spécifiques ou communes à plusieurs isoformes (Lee *et al.*, 2000; Yoo *et al.*, 2005; Popescu *et al.*, 2007). Dans ce dernier cas, les CaMs et CMLs peuvent entrer en compétition pour la liaison à la protéine cible qu'elles régulent avec des efficacités variables. Ainsi, la régulation des protéines cibles dépend aussi de la quantité de chaque isoforme. Différentes sensibilités au calcium ont été décrites en fonction des CaMs et des protéines cibles, ajoutant un niveau supplémentaire de régulation (Lee *et al.*, 2000).

Les CaMs sont majoritairement cytosoliques mais elles ont également été observées dans le noyau, le peroxisome et la matrice extracellulaire (Yang & Poovaiah, 2003). L'état de prénylation de certaines CaMs contrôle leur adressage à la membrane plas-

mique ou au noyau (Yang & Poovaiah, 2003). Les CaMs et surtout les CMLs sont régulées au niveau transcriptionnel selon le stade de développement, le tissu et le type cellulaire, et certaines sont induites par des contraintes osmotiques comme le froid et la salinité (Yang & Poovaiah, 2003; McCormack *et al.*, 2005).

## 1.2 Les protéines calcineurine B-like (CBLs) et leurs kinases-cibles

Comme la calmoduline, les CBLs sont des petites protéines composées de deux domaines globulaires formés chacun de deux motifs *EF-hand* (figure 1). Ces motifs présentent des degrés variables de conservation avec les séquences canoniques de CaMs, suggérant des différences d'affinité pour le calcium (Batistic & Kudla, 2004). L'analyse de la structure cristalline a révélé que CBL2 fixe deux atomes de calcium tandis que CBL4/SOS3 (*Salt Overly Sensitive 3*) en fixe quatre (Batistic & Kudla, 2004; Sanchez-Barrena *et al.*, 2005). La liaison du calcium entraîne un changement conformationnel qui permet aux CBLs de former des interactions hydrophobes avec des protéines cibles

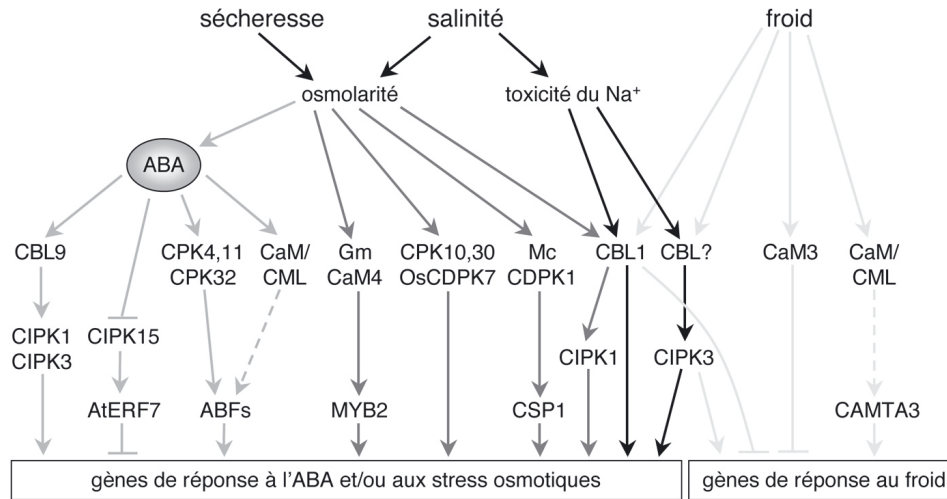
(Sanchez-Barrena *et al.*, 2005). Bien que spécifiques des plantes, les CBLs partagent une similarité de séquence avec la sous-unité régulatrice CNB (*Calci-Neurin B*), qui, associée à la sous-unité catalytique CNA (*CalciNeurin A*), constitue une protéine phosphatase très conservée des mammifères à la levure, chez laquelle elle est impliquée dans la tolérance au stress salin (Cyert, 2003; Luan, 2009). La capacité des CNAs à interagir avec les CBLs (Kudla *et al.*, 1999) et à induire une tolérance au stress salin chez le tabac (Pardo *et al.*, 1998) suggère que les CBLs pourraient également réguler des protéines phosphatases chez les plantes. Pourtant, aucun homologue de CNA n'a été identifié chez les plantes et des protéines kinases d'une famille spécifique des plantes ont été révélées comme partenaires majeurs des CBLs par un criblage double-hybride (Gong *et al.*, 2004; Luan, 2009).

Les *CBL-interacting protein kinases* (CIPKs) ou *SOS2-like protein kinases* (PKS) constituent le sous-groupe 3 de la famille *Sucrose nonfermenting Related protein Kinase* (SnRK3) (Harper *et al.*, 2004). Le motif FISL/NAF présent dans la région C-terminale est suffisant pour la liaison avec les CBLs, tandis que la partie N-terminale contribue à la spécificité d'interaction (Batistic & Kudla, 2004; Gong *et al.*, 2004). Les familles CIPK et CBL d'*Arabidopsis* contiennent 25 et 10 membres, respectivement (Batistic & Kudla, 2004). Des expériences *in vitro* et de double-hybride ont révélé que les CBLs pouvaient interagir avec une ou plusieurs CIPKs et réciproquement, avec des intensités variables (Batistic & Kudla, 2004; Gong *et al.*, 2004). Un tel réseau d'interactions entre les deux familles reflète probablement à la fois une spécificité et une redondance fonctionnelle *in vivo*. La liaison CBL-CIPK entraîne l'activation de la kinase de façon calcium-dépendante (Gong *et al.*, 2004; Quan *et al.*, 2007) et peut réguler sa localisation subcellulaire (Luan, 2009). En effet, certaines CBLs, comme SOS3, CBL1 et CBL9, sont associées aux membranes par myristoylation et induisent la relocalisation des CIPKs vers la membrane plasmique où se situent leurs substrats (D'Angelo *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2006; Cheong *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2007). De plus, la fixation du calcium induit la dimérisation de SOS3, ce qui pourrait renforcer l'association membranaire (Sanchez-Barrena *et al.*, 2005). Les deux familles sont également régulées au niveau transcriptionnel, avec l'induction par divers stress abiotiques comme le froid, la sécheresse, la salinité et l'ABA (Batistic & Kudla, 2004).

### 1.3 Les protéines kinases dépendantes du calcium

Les CDPKs constituent une famille de protéines kinases spécifiques des plantes, qui sont liées aux CaMKII (*calmodulin kinase II*) animales sur le plan

phylogénétique (figure 1) (Cheng *et al.*, 2002). Cependant, alors que les CaMKII sont des protéines multimériques activées par le complexe  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ , les CDPKs sont des monomères capables de fixer directement le calcium (Cheng *et al.*, 2002; Franklin *et al.*, 2006). Cette particularité structurale des CDPKs leur confère une fonctionnalité indépendante de tout senseur exogène, à l'inverse d'autres protéines kinases végétales comme les CIPKs. Les CDPKs sont composées d'un domaine variable N-terminal et d'un domaine kinase relié à une région régulatrice *CaM-like* (CaM-LD) par un domaine de jonction auto-inhibiteur. Le modèle d'activation propose une levée de l'auto-inhibition par le changement conformationnel induit lors de la fixation du calcium sur le domaine CaM-LD (Harper *et al.*, 2004). Cohérent avec un rôle de senseur de calcium, le  $K_d$  des CDPKs pour le calcium est de l'ordre de  $10^{-6}$  M. De plus, la sensibilité au calcium varie en fonction des CDPKs et de leurs substrats, suggérant une capacité à reconnaître des signatures calciques différentes (Harper *et al.*, 2004). Parallèlement au calcium, d'autres processus sont capables de moduler l'activité des CDPKs. Un effet positif ou négatif de l'autophosphorylation a été observé *in vitro* sur l'activité des CDPKs (Cheng *et al.*, 2002; Klimecka & Muszynska, 2007), ce qui peut s'expliquer par la présence de sites d'autophosphorylation dans différents domaines de la kinase (région N-terminale, domaine kinase et partie régulatrice CaM-LD) (Hegeman *et al.*, 2006). Ces autophosphorylations pourraient donc affecter la localisation, l'activité kinase, la liaison au calcium et l'interaction avec d'autres protéines, comme les protéines 14-3-3 qui stimulent l'activité d'AtCPK1 (Harper *et al.*, 2004; Klimecka & Muszynska, 2007). À l'inverse, les CaMKII animales s'autophosphorylent sur le domaine de jonction, rendant leur activité indépendante du calcium (Franklin *et al.*, 2006). Une telle différence suggère que la présence du calcium est nécessaire tout au long de l'activité CDPK. Les phospholipides peuvent aussi moduler l'activité CDPK (Klimecka & Muszynska, 2007). Certains d'entre eux, comme l'acide phosphatidique, ont un rôle de messenger secondaire qui pourrait s'exercer notamment par la régulation des CDPKs. Les phospholipides sont également des éléments structuraux des membranes qui pourraient stimuler l'activité de certaines CDPKs qui sont plus actives lorsqu'elles sont liées aux membranes (Li *et al.*, 1998). Les CDPKs ont été localisées dans différents compartiments cellulaires, comme le cytosol, le noyau, le chloroplaste, le peroxisome, le réticulum endoplasmique et la membrane plasmique (Harper *et al.*, 2004). La myristoylation de certaines CDPKs est responsable de leur association membranaire, qui peut être maintenue par palmitoylation (Martin & Busconi, 2000) ou par la présence d'un



**Fig. 2.** Rôle des senseurs de calcium végétaux dans la régulation transcriptionnelle en réponse aux contraintes osmotiques. Les senseurs de calcium végétaux régulent l'expression de gènes de réponse aux stress, en conduisant à une induction ou une répression. Dans certains cas, des facteurs de transcription ont été identifiés comme substrats des senseurs de calcium (flèches pleines) ; dans d'autres cas, le rôle de l'interaction avec le senseur de calcium reste à définir (flèches en pointillés). Bien que certains complexes CBLs-CIPKs aient été caractérisés dans la régulation transcriptionnelle, la fonction d'un seul partenaire du complexe a été déterminée dans la majorité des cas.

domaine polybasique (Chehab *et al.*, 2004). De plus, des modifications de la localisation des CDPKs ont été observées en réponse aux contraintes osmotiques (Patharkar & Cushman, 2000 ; Chehab *et al.*, 2004 ; Raichaudhuri *et al.*, 2006). Enfin, l'expression des CDPKs est également régulée en réponse à de nombreux stimuli, notamment des contraintes osmotiques comme le froid, la salinité, la sécheresse et l'ABA (Cheng *et al.*, 2002 ; Klimecka & Muszynska, 2007).

## 2 Rôles des senseurs de calcium dans les réponses osmotiques

Les senseurs de calcium ont pour cibles deux types de protéines : des protéines de transduction impliquées dans la régulation des voies de signalisation comme des protéines kinases, phosphatases ou des facteurs de transcription, et des protéines effectrices des réponses cellulaires comme des transporteurs ou des enzymes métaboliques.

### 2.1 Régulation de la transcription et signalisation

#### 2.1.1 Les facteurs de transcription comme cibles des senseurs de calcium

Les trois familles de senseurs de calcium sont impliquées dans la régulation transcriptionnelle en réponse aux contraintes osmotiques et certains facteurs de transcription ont été identifiés parmi leurs

cibles (figure 2). PKS3/CIPK15, dont l'activité est bloquée par l'ABA, inhibe l'expression de gènes de réponses à l'ABA en activant le répresseur transcriptionnel AtERF7 (*Arabidopsis thaliana Ethylene Response Factor 7*) (Guo *et al.*, 2002 ; Song *et al.*, 2005). À l'inverse, plusieurs CDPKs d'*Arabidopsis* (CPK4, 11 et 32), dont l'activité est stimulée par l'ABA, sont capables d'activer par phosphorylation les facteurs ABF1 et ABF4 (*ABA-responsive element Binding Factor*), conduisant à l'induction de leurs gènes cibles (Choi *et al.*, 2005a ; Zhu *et al.*, 2007). Chez le soja, GmCaM4 augmente la capacité de liaison à l'ADN du facteur de transcription MYB2, et la surexpression de GmCaM4 chez *Arabidopsis* confère une tolérance au stress salin, parallèlement à une induction des gènes cibles de MYB2 (Yoo *et al.*, 2005). En particulier, l'induction du gène de biosynthèse de la proline *P5CS* est corrélée à l'accumulation de proline. Ainsi, GmCaM4 jouerait un rôle positif dans la tolérance à la salinité en régulant l'expression de gènes et en contribuant à l'ajustement osmotique (Yoo *et al.*, 2005). La salinité et la sécheresse entraînent une relocalisation de McCDPK1 de la membrane plasmique vers le noyau, où se situe son substrat putatif, le facteur de transcription CSP1 (*CDPK Substrate Protein 1*) (Patharkar & Cushman, 2000 ; Chehab *et al.*, 2004). McCDPK1 pourrait donc réguler l'expression de gènes *via* CSP1 qui lie les promoteurs de gènes de réponse aux stress (Patharkar & Cushman, 2000). Les facteurs de transcription CAMTA/AtSR (*CaM Modulin binding Transcription Activator/Arabidopsis thaliana Stress-Responsive*) sont des protéines nucléaires capables de

lier la CaM (Yang & Poovaiah, 2003; Bouché *et al.*, 2005). Chez *Arabidopsis*, CAMTA3 est un régulateur positif de l'expression de *CBF1*, *CBF2* et *ZAT12*, et contribue à l'acclimatation au froid et à la tolérance au gel (Doherty *et al.*, 2009).

### 2.1.2 Régulation transcriptionnelle *via* des mécanismes inconnus

Des approches génétiques ont révélé des profils d'expression de gènes altérés dans des mutants ou surexprimeurs de senseurs de calcium sans que les mécanismes moléculaires aient été identifiés (figure 2). C'est le cas de CBL1 dont l'étude indique un rôle positif en réponse à la sécheresse et à la salinité, mais négatif en réponse au froid (Albrecht *et al.*, 2003; Cheong *et al.*, 2003). Alors que CBL1 interagit avec CIPK1 *in vivo*, le mutant *cipk1* n'est affecté que dans ses réponses à l'hyperosmolarité, indiquant que le complexe CBL1-CIPK1 ne fonctionne que dans la signalisation osmotique (D'Angelo *et al.*, 2006). Les partenaires de CBL1 en réponse au froid et à la salinité restent à identifier. Tandis que CBL1 est impliqué dans une voie ABA-indépendante, son plus proche homologue CBL9 est un régulateur négatif de la signalisation ABA et de la synthèse de l'hormone (Pandey *et al.*, 2004). De plus, les mutants *cbl9* et *cipk1* présentent une même hypersensibilité à l'ABA, notamment pour l'induction de gènes (Pandey *et al.*, 2004; D'Angelo *et al.*, 2006). Puisque CBL1 et CBL9 interagissent *in vivo* avec CIPK1, la formation de complexes alternatifs a été proposée pour expliquer l'implication de CIPK1 dans des voies de signalisation ABA-dépendantes et -indépendantes (D'Angelo *et al.*, 2006). Cependant, l'effet de ces deux complexes sur l'expression des gènes est probablement indirect puisque l'interaction des CBLs avec CIPK1 entraîne son adressage à la membrane plasmique (D'Angelo *et al.*, 2006). L'analyse de mutants perte-de-fonction indique que CIPK3 est nécessaire durant la phase précoce d'induction de gènes en réponse au froid et à la salinité tandis que la kinase joue un rôle positif pour le maintien de l'induction en réponse à l'ABA (Kim *et al.*, 2003). Une étude récente a montré que CBL9 est le régulateur de CIPK3 dans la signalisation ABA (Pandey *et al.*, 2008).

La surexpression de CaM3 inhibe l'induction par le froid des gènes *RD29A* et *KIN1/2*, suggérant un rôle négatif de CaM3 dans la signalisation « froid » (Townley & Knight, 2002). Parmi plusieurs protéines kinases d'*Arabidopsis* exprimées transitoirement en protoplastes de maïs, seules CPK10 et CPK30 sont capables d'activer le promoteur du gène d'orge *HVA1* inductible par l'ABA, le froid et la salinité (Sheen, 1996), suggérant une conservation des voies de signalisation de stress impliquant les CDPKs chez les

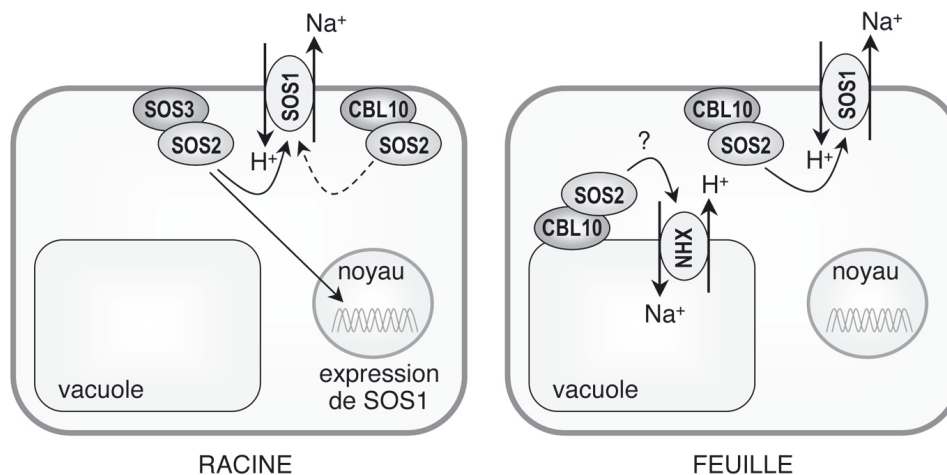
mono- et dicotylédones. De façon cohérente, la surexpression de OsCDPK7 confère une tolérance accrue à la sécheresse et à la salinité, corrélée à une augmentation de l'expression de gènes de stress tandis que la diminution d'expression par co-suppression induit le phénotype opposé (Saijo *et al.*, 2000).

Les senseurs de calcium peuvent également moduler l'expression de gènes indirectement, en régulant les voies de transduction. La CaM recrute la diacylglycérol kinase (DGK) de tomate à la membrane où se situe son substrat pour produire de l'acide phosphatidique (Snedden & Blumwald, 2000). La CaM peut aussi induire indirectement la production d' $H_2O_2$  en activant la NAD kinase (Harding *et al.*, 1997). Comme l'acide phosphatidique et l' $H_2O_2$  sont des messagers secondaires essentiels de la signalisation osmotique (Boudsocq & Laurière, 2005), la CaM pourrait jouer un rôle positif dans les réponses au stress en induisant la synthèse de ces deux régulateurs.

## 2.2 Régulation du transport d'eau et d'ions

### 2.2.1 Rôle dans la tolérance au stress salin

La voie SOS (*Salt Overly Sensitive*) est l'une des voies de signalisation les plus étudiées en réponse à la salinité. Elle comprend la protéine kinase SOS2/CIPK24, son régulateur SOS3 et leur protéine cible SOS1, un antiport  $Na^+/H^+$  (figure 3) (Baticic & Kudla, 2004; Gong *et al.*, 2004). L'étude moléculaire et phénotypique de ces trois gènes a démontré leur participation dans une même voie de signalisation spécifiquement impliquée dans l'homéostasie ionique en réponse à un stress salin (Gong *et al.*, 2004). Le modèle propose que la protéine SOS2, maintenue inactive par une interaction intramoléculaire, est activée par SOS3, qui entraîne alors la kinase à la membrane plasmique où se situe SOS1 (Gong *et al.*, 2004). Le complexe SOS2-SOS3 active SOS1 par phosphorylation, qui induit alors l'extrusion des ions  $Na^+$  (Gong *et al.*, 2004). La protéine CBL10, qui est partiellement localisée à la membrane plasmique, est également capable d'activer SOS2 et sa cible SOS1 pour induire la tolérance au stress salin chez la levure (Quan *et al.*, 2007). Cette redondance fonctionnelle est confirmée *in planta* par la capacité de CBL10 à compléter en partie le phénotype d'hypersensibilité racinaire de *sos3* sur milieu salin (Quan *et al.*, 2007). Les profils d'expression et l'analyse phénotypique des mutants a révélé que CBL10 fonctionne principalement dans les parties aériennes tandis que SOS3 agit surtout dans la racine (Quan *et al.*, 2007). Par ailleurs, CBL10 est majoritairement localisé au tonoplaste où il interagit également avec SOS2, et le mutant *cbl10* sous-accumule les ions sodium en réponse au stress salin (Kim *et al.*, 2007). Ces résultats suggèrent qu'en plus



**Fig. 3.** Représentation schématique de la voie SOS. Le senseur SOS3/CBL4, ayant perçu l'influx de calcium induit par la salinité, active SOS2/CIPK24 et l'adresse à la membrane plasmique. Le complexe SOS2-SOS3, qui fonctionne surtout dans la racine, active alors l'antiporteur  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  SOS1 pour promouvoir l'extrusion des ions  $\text{Na}^+$ . Le complexe SOS2-SOS3 induit également l'expression de *SOS1*. Par ailleurs, CBL10 est capable de jouer le même rôle que SOS3, majoritairement dans les parties aériennes, où il permet aussi l'adressage de SOS2 au tonoplaste pour permettre la séquestration des ions  $\text{Na}^+$  dans la vacuole.

de réguler SOS1, le complexe SOS2-CBL10 pourrait réguler un transporteur de sodium vacuolaire impliqué dans la séquestration des ions  $\text{Na}^+$ , comme AtNHX1 dont l'activation par SOS2 est indépendante de SOS3 (figure 3) (Qiu *et al.*, 2004). De façon cohérente, SOS3 n'est pas exprimé dans les parties aériennes et il est incapable de compléter le mutant *cbl10* pour son hypersensibilité au stress salin dans les parties aériennes (Quan *et al.*, 2007). Ainsi, en plus de la redondance partielle entre CBL10 et SOS3, ces deux CBLs présentent aussi des spécificités fonctionnelles (figure 3).

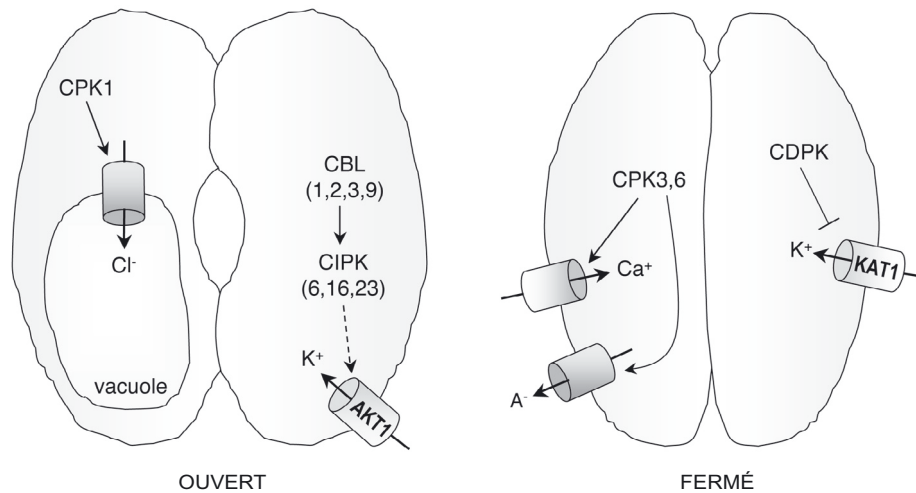
Le maintien de l'absorption du potassium en condition saline est également essentiel pour la tolérance au stress salin. Le mutant *cpk23* possède une résistance accrue à la salinité corrélée à un contenu plus élevé en potassium, suggérant que CPK23 pourrait être un régulateur négatif de canaux potassiques (Ma & Wu, 2007).

### 2.2.2 Rôles des senseurs de calcium dans les mouvements stomatiques et la sécheresse

Le transport d'ions joue un rôle clé dans la régulation des mouvements stomatiques, qui est notamment contrôlée par l'ABA. Les protéines CBL1 et CBL9 agissent de façon synergique pour activer CIPK23 et inhiber la fermeture des stomates induite par l'ABA, car seul le double mutant *cbl1cbl9* présente le même phénotype stomatique que *cpk23* (Cheong *et al.*, 2007). Par ailleurs, il a été montré que les complexes CBL1/9-CIPK23 phosphorylent et activent le

canal potassique AKT1 de façon  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendante (Xu *et al.*, 2006), suggérant que CBL1/9-CIPK23 pourrait empêcher la fermeture des stomates en stimulant l'accumulation de potassium dans les cellules de garde (figure 4). La régulation d'AKT1 est probablement plus complexe puisque les différentes isoformes CIPK6, 16, 23 et CBL1, 2, 3, 9 sont capables de former des complexes fonctionnels pour activer AKT1 (Lee *et al.*, 2007). Chez la fève, une CDPK phosphoryle le canal potassique KAT1 *in vitro* (Li *et al.*, 1998), ce qui entraîne l'inhibition du canal et contribue ainsi à la fermeture des stomates (Berkowitz *et al.*, 2000). En réponse à l'ABA, le double mutant d'*Arabidopsis cpk3cpk6* présente une réduction de la fermeture des stomates, parallèlement à une diminution de l'activation de canaux anioniques de type lent et de canaux calciques (Mori *et al.*, 2006). Ces résultats suggèrent un rôle positif de ces deux CDPKs dans la fermeture des stomates en régulant non seulement la turgescence des cellules de garde mais aussi les signaux calciques (figure 4). À l'inverse, CPK1 active un canal chlore du tonoplaste, conduisant à l'accumulation d'ions  $\text{Cl}^-$  dans la vacuole et à l'ouverture des stomates (Pei *et al.*, 1996).

Parallèlement à la fermeture des stomates, la perte en eau peut également être limitée en régulant l'activité des aquaporines, les canaux à eau. L'aquaporine d'épinard PM28A/SoPIP2;1 est phosphorylée par une CDPK, ce qui stimule son activité de transport d'eau (Cheng *et al.*, 2002). PM28A étant localisée à la membrane plasmique, la diminution de phosphorylation en réponse à une déshydratation permet de réduire les pertes en eau (Johansson *et al.*, 1996).



**Fig. 4.** Rôle des senseurs de calcium végétaux dans la régulation des mouvements du stomate. Les CDPKs favorisent à la fois l'ouverture et la fermeture des stomates, en activant un canal chlore vacuolaire d'une part, ou en modulant l'activité de canaux calciques, anioniques et potassiques (KAT1), d'autre part. Les complexes CBL-CIPK présentent une redondance fonctionnelle dans l'activation du canal potassique AKT1 qui pourrait être impliqué dans l'ouverture des stomates.

### 2.2.3 Rétrocontrôle des signaux calciques par les senseurs de calcium

Les senseurs de calcium peuvent aussi stimuler ou inhiber l'activité de canaux calciques, réalisant ainsi une amplification du signal ou un rétrocontrôle négatif pour induire le retour au niveau basal une fois la cascade de signalisation activée. Une modulation fine des canaux calciques peut également contribuer à la formation du signal calcique pour assurer la spécificité de réponse. Ainsi, l'ATPase à calcium d'*Arabidopsis* ACA2 est régulée de façon antagoniste par la calmoduline et les CDPKs, la phosphorylation par CPK1 inhibant la stimulation induite par CaM (Hwang *et al.*, 2000). Le mutant de levure K616 déficient en pompe à Ca<sup>2+</sup> produit un signal calcique altéré en milieu salin, qui est lié à une hypersensibilité. Il a été montré que la surexpression d'ACA2, qui est localisée dans le réticulum endoplasmique, conférerait à K616 une tolérance à la salinité, corrélée à une augmentation de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub> similaire à la souche sauvage, démontrant ainsi le rôle d'ACA2 dans la formation du signal calcique en réponse à un stress salin (Anil *et al.*, 2008). De même, la pompe vacuolaire ACA4, dont l'auto-inhibition est levée par la liaison à la CaM, confère une osmo-protection et une tolérance à la salinité chez le mutant de levure K616 (Geisler *et al.*, 2000).

## 2.3 Régulation d'enzymes métaboliques

Les contraintes osmotiques induisent un stress oxydatif avec l'accumulation de dérivés toxiques de

l'oxygène (ROS) dont la détoxification fait intervenir la signalisation calcique. Chez le tabac, l'activité de la catalase qui détoxifie l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est stimulée par la liaison à la CaM, une régulation qui apparaît spécifique des plantes (Yang & Poovaiah, 2003). Le glutathion joue aussi un rôle essentiel dans la détoxification des ROS. La phosphorylation par une CDPK de GmSERAT (sérine acétyltransférase 2;1 de soja) lève le rétrocontrôle inhibiteur de cette enzyme impliquée dans la biosynthèse de la cystéine (Liu *et al.*, 2006). Comme cette phosphorylation est induite par un stress oxydatif *in vivo*, la CDPK pourrait jouer un rôle positif dans la détoxification en fournissant de la cystéine pour la production de glutathion. La voie glyoxalase détoxifie le méthylglyoxal, sous-produit du métabolisme carboné et lipidique, en libérant du glutathion réduit. L'activation de la glyoxalase I par un stress salin pourrait donc permettre de recycler le glutathion, parallèlement à la détoxification du méthylglyoxal. L'activité de la glyoxalase I est stimulée par la calmoduline (Deswal & Sopory, 1999) et sa surexpression confère une résistance à la salinité chez le tabac (Reddy & Reddy, 2004). Ainsi, le niveau de glutathion, qui joue un rôle clé dans la détoxification des ROS, est soumis à une régulation fine à la fois par la calmoduline et les CDPKs. Le GABA (acide  $\gamma$ -aminobutyrique) est un métabolite dont l'accumulation en réponse aux contraintes environnementales pourrait participer à la détoxification des ROS. L'enzyme de biosynthèse du GABA, la glutamate décarboxylase GAD, est activée par les CaM de soja SCaM1 et SCaM4 *in vitro* (Lee *et al.*, 2000) et la surexpression d'une CaM bovine confère au tabac



une résistance au stress salin, liée à un taux plus élevé de GABA (Olsson *et al.*, 2004). Ces résultats suggèrent que la CaM active la GAD *in vivo* pour induire la tolérance aux contraintes osmotiques.

## Conclusion

Le calcium est reconnu comme un second messager essentiel chez les plantes, qui intègre les réponses à divers stimuli développementaux et environnementaux. La spécificité de la signalisation calcique réside dans la combinaison de différentes signatures calciques avec la diversité des senseurs de calcium qui diffèrent par leur expression, leur localisation subcellulaire, leur sensibilité au calcium et leurs multiples protéines cibles. La complexité de la signalisation calcique s'illustre également par les interactions entre les différentes voies  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendantes, mais aussi avec des voies  $\text{Ca}^{2+}$ -indépendantes. En effet, certaines CDPKs et CIPKs pourraient être régulées par la calmoduline (Popescu *et al.*, 2007), tandis que des CDPKs et CaMs partagent des cibles communes, comme les facteurs ABF ou la pompe ACA2, conduisant à des régulations très fines (Hwang *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2005a; Popescu *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2007). Deux familles de protéines kinases indépendantes du calcium, les MAPKs (*Mitogen-Activated Protein Kinases*) et SnRK2s, représentent des éléments majeurs de la signalisation osmotique (Boudsocq & Laurière, 2005) qui interagissent aussi avec les voies  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendantes. Les facteurs ABF, cibles des CDPKs et CaMs, sont également régulés par les SnRK2s (Furihata *et al.*, 2006), et la MAPK phosphatase NtMKP1 pourrait être régulée par la CaM (Yamakawa *et al.*, 2004). Bien que de nombreuses questions restent à explorer sur les protéines cibles et les mécanismes moléculaires régissant la signalisation calcique, il est clair que le calcium et ses senseurs constituent des éléments clés de la signalisation osmotique pour permettre la survie des plantes en conditions défavorables.

*Remerciements.* Je remercie Christiane Laurière pour la relecture critique du manuscrit.

## Références

- Albrecht V., Weinel S., Blazevic D., D'Angelo C., Batistic O., Kolukisaoglu U., Bock R., Schulz B., Harter K., Kudla J., The calcium sensor CBL1 integrates plant responses to abiotic stresses. *Plant J*, 2003, 36, 457-470.
- Anil V.S., Rajkumar P., Kumar P., Mathew M.K., A plant  $\text{Ca}^{2+}$  pump, ACA2, relieves salt hypersensitivity in yeast. Modulation of cytosolic calcium signature and activation of adaptive  $\text{Na}^+$  homeostasis. *J Biol Chem*, 2008, 283, 3497-3506.
- Batistic O., Kudla J., Integration and channeling of calcium signaling through the CBL calcium sensor/CIPK protein kinase network. *Planta*, 2004, 219, 915-924.
- Berkowitz G., Zhang X., Mercie R., Leng Q., Lawton M., Co-expression of calcium-dependent protein kinase with the inward rectified guard cell  $\text{K}^+$  channel KAT1 alters current parameters in *Xenopus laevis* oocytes. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41, 785-790.
- Bouché N., Yellin A., Snedden W.A., Fromm H., Plant-specific calmodulin-binding proteins. *Ann Rev Plant Biol*, 2005, 56, 435-466.
- Boudsocq M., Laurière C., Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families. *Plant Physiol*, 2005, 138, 1185-1194.
- Chehab E.W., Patharkar O.R., Hegeman A.D., Taybi T., Cushman J.C., Autophosphorylation and subcellular localization dynamics of a salt- and water deficit-induced calcium-dependent protein kinase from ice plant. *Plant Physiol*, 2004, 135, 1430-1446.
- Cheng S.H., Willmann M.R., Chen H.C., Sheen J., Calcium signaling through protein kinases. The *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase gene family. *Plant Physiol*, 2002, 129, 469-485.
- Cheong Y.H., Kim K.N., Pandey G.K., Gupta R., Grant J.J., Luan S., CBL1, a calcium sensor that differentially regulates salt, drought, and cold responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2003, 15, 1833-1845.
- Cheong Y.H., Pandey G.K., Grant J.J., Batistic O., Li L., Kim B.G., Lee S.C., Kudla J., Luan S., Two calcineurin B-like calcium sensors, interacting with protein kinase CIPK23, regulate leaf transpiration and root potassium uptake in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2007, 52, 223-239.
- Choi H.I., Park H.J., Park J.H., Kim S., Im M.Y., Seo H.H., Kim Y.W., Hwang I., Kim S.Y., *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase AtCPK32 interacts with ABF4, a transcriptional regulator of abscisic acid-responsive gene expression, and modulates its activity. *Plant Physiol*, 2005a, 139, 1750-1761.
- Choi M.S., Kim M.C., Yoo J.H., Moon B.C., Koo S.C., Park B.O., Lee J.H., Koo Y.D., Han H.J., Lee S.Y., Chung W.S., Lim C.O., Cho M.J., Isolation of a calmodulin-binding transcription factor from rice (*Oryza sativa* L.). *J Biol Chem*, 2005b, 280, 40820-40831.
- Cyert M.S., Calcineurin signaling in *Saccharomyces cerevisiae*: how yeast go crazy in response to stress. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311, 1143-1150.
- D'Angelo C., Weinel S., Batistic O., Pandey G.K., Cheong Y.H., Schültke S., Albrecht V., Ehlert B., Schulz B., Harter K., Luan S., Bock R., Kudla J., Alternative complex formation of the  $\text{Ca}^{2+}$ -regulated protein kinase CIPK1 controls abscisic acid-dependent and independent stress responses in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2006, 48, 857-872.
- Deswal R., Sopory S.K., Glyoxalase I from *Brassica juncea* is a calmodulin stimulated protein. *Biochim. Biophys Acta*, 1999, 1450, 460-467.

- Doherty C.J., Van Buskirk H.A., Myers S.J., Thomashow M.F., Roles for *Arabidopsis* CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance. *Plant Cell*, 2009, 21, 972-984.
- Franklin R.A., Rodriguez-Mora O.G., Lahair M.M., McCubrey J.A., Activation of the calcium/calmodulin-dependent protein kinases as a consequence of oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*, 2006, 8, 1807-1817.
- Furihata T., Maruyama K., Fujita Y., Umezawa T., Yoshida R., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K., Abscisic acid-dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator AREB1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103, 1988-1993.
- Geisler M., Frangne N., Gomes E., Martinoia E., Palmgren M.G., The ACA4 gene of *Arabidopsis* encodes a vacuolar membrane calcium pump that improves salt tolerance in yeast. *Plant Physiol*, 2000, 124, 1814-1827.
- Gong D., Guo Y., Schumaker K.S., Zhu J.K., The SOS3 family of calcium sensors and SOS2 family of protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2004, 134, 919-926.
- Guo Y., Xiong L., Song C.P., Gong D., Halfter U., Zhu J.K., A calcium sensor and its interacting protein kinase are global regulators of abscisic acid signaling in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 2002, 3, 233-244.
- Harding S.A., Oh S.H., Roberts D.M., Transgenic tobacco expressing a foreign calmodulin gene shows an enhanced production of active oxygen species. *EMBO J*, 1997, 16, 1137-1144.
- Harper J.F., Breton G., Harmon A., Decoding Ca<sup>2+</sup> signals through plant protein kinases. *Ann Rev Plant Biol*, 2004, 55, 263-288.
- Hegeman A.D., Rodriguez M., Han B.W., Uno Y., Phillips G.N.J., Hrabak E.M., Cushman J.C., Harper J.F., Harmon A.C., Sussman M.R., A phyloproteomic characterization of *in vitro* autophosphorylation in calcium-dependent protein kinases. *Proteomics*, 2006, 6, 3649-3664.
- Heppler P.K., Calcium: a central regulator of plant growth and development. *Plant Cell*, 2005, 17, 2142-2155.
- Hwang I., Sze H., Harper J.F., A calcium-dependent protein kinase can inhibit a calmodulin-stimulated Ca<sup>2+</sup> pump (ACA2) located in the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97, 6224-6229.
- Johansson I., Larsson C., Ek B., Kjellbom P., The major integral proteins of spinach leaf plasma membranes are putative aquaporins and are phosphorylated in response to Ca<sup>2+</sup> and apoplastic water potential. *Plant Cell*, 1996, 8, 1181-1191.
- Kim B.G., Waadt R., Cheong Y.H., Pandey G.K., Dominguez-Solis J.R., Schultke S., Lee S.C., Kudla J., Luan S., The calcium sensor CBL10 mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2007, 52, 473-484.
- Kim K.N., Cheong Y.H., Grant J.J., Pandey G.K., Luan S., CIPK3, a calcium sensor-associated protein kinase that regulates abscisic acid and cold signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2003, 15, 411-423.
- Klimecka M., Muszynska G., Structure and functions of plant calcium-dependent protein kinases. *Acta Biochim Pol*, 2007, 54, 219-233.
- Kudla J., Xu Q., Harter K., Gruijssem W., Luan S., Genes for calcineurin B-like proteins in *Arabidopsis* are differentially regulated by stress signals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96, 4718-4723.
- Lee S.C., Lan W.Z., Kim B.G., Li L., Cheong Y.H., Pandey G.K., Lu G., Buchanan B.B., Luan S., A protein phosphorylation/dephosphorylation network regulates a plant potassium channel. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104, 15959-15964.
- Lee S.H., Johnson J.D., Walsh M.P., Van Lierop J.E., Sutherland C., Xu A., Snedden W.A., Kosk-Kosicka D., Fromm H., Narayanan N., Cho M.J., Differential regulation of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent enzymes by plant calmodulin isoforms and free Ca<sup>2+</sup> concentration. *Biochem J*, 2000, 350, 299-306.
- Li J., Lee Y.R., Assmann S.M., Guard cells possess a calcium-dependent protein kinase that phosphorylates the KAT1 potassium channel. *Plant Physiol*, 1998, 116, 785-795.
- Liu F., Yoo B.C., Lee J.Y., Pan W., Harmon A.C., Calcium-regulated phosphorylation of soybean serine acetyltransferase in response to oxidative stress. *J Biol Chem*, 2006, 281, 27405-27415.
- Luan S., The CBL-CIPK network in plant calcium signaling. *Trends Plant Sci*, 2009, 14, 37-42.
- Ma S.Y., Wu W.H., AtCPK23 functions in *Arabidopsis* responses to drought and salt stresses. *Plant Mol Biol*, 2007, 65, 511-518.
- Martin M.L., Busconi L., Membrane localization of a rice calcium-dependent protein kinase (CDPK) is mediated by myristoylation and palmitoylation. *Plant J*, 2000, 24, 429-435.
- McAinsh M.R., Pittman J.K., Shaping the calcium signature. *New Phytol*, 2009, 181, 275-294.
- McCormack E., Tsai Y.C., Braam J., Handling calcium signaling : *Arabidopsis* CaMs and CMLs. *Trends Plant Sci*, 2005, 10, 383-389.
- Mori I.C., Murata Y., Yang Y., Munemasa S., Wang Y.F., Andreoli S., Tiriach H., Alonso J.M., Harper J.F., Ecker J.R., Kwak J.M., Schroeder J.I., CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion- and Ca<sup>2+</sup>-permeable channels and stomatal closure. *PLoS Biol*, 2006, 4, 1749-1762.
- Olsson P., Yilmaz J.L., Sommarin M., Persson S., Bülow L., Expression of bovine calmodulin in tobacco plants confers faster germination on saline media. *Plant Sci*, 2004, 166, 1595-1604.
- Pandey G.K., Cheong Y.H., Kim K.N., Grant J.J., Li L., Hung W., D'Angelo C., Weill S., Kudla J., Luan S., The calcium sensor calcineurin B-like 9 modulates abscisic acid sensitivity and biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16, 1912-1924.
- Pandey G.K., Grant J.J., Cheong Y.H., Kim B.G., Li L.G., Luan S., Calcineurin B-like protein CBL9 interacts with target kinase CIPK3 in the regulation of ABA response in seed germination. *Mol Plant*, 2008, 1, 238-248.

- Pardo J.M., Reddy M.P., Yang S., Maggio A., Huh G.H., Matsumoto T., Coca M.A., Paino-D'Urzo M., Koiwa H., Yun D.J., Watad A.A., Bressan R.A., Hasegawa P.M., Stress signaling through  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent protein phosphatase calcineurin mediates salt adaptation in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95, 9681-9686.
- Patharkar O.R., Cushman J.C., A stress-induced calcium-dependent protein kinase from *Mesembryanthemum crystallinum* phosphorylates a two-component pseudo-response regulator. *Plant J*, 2000, 24, 679-691.
- Pei Z.M., Ward J.M., Harper J.F., Schroeder J.I., A novel chloride channel in *Vicia faba* guard cell vacuoles activated by the serine/threonine kinase, CDPK. *EMBO J*, 1996, 15, 6564-6574.
- Popescu S.C., Popescu G.V., Bachan S., Zhang Z., Seay M., Gerstein M., Snyder M., Dinesh-Kumar S.P., Differential binding of calmodulin-related proteins to their targets revealed through high-density *Arabidopsis* protein microarrays. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104, 4730-4735.
- Qiu Q.S., Guo Y., Quintero F.J., Pardo J.M., Schumaker K.S., Zhu J.K., Regulation of vacuolar  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange in *Arabidopsis thaliana* by the salt overly sensitive (SOS) pathway. *J Biol Chem*, 2004, 279, 207-215.
- Quan R., Lin H., Mendoza I., Zhang Y., Cao W., Yang Y., Shang M., Chen S., Pardo J.M., Guo Y., SCABP8/CBL10, a putative calcium sensor, interacts with the protein kinase SOS2 to protect *Arabidopsis* shoots from salt stress. *Plant Cell*, 2007, 19, 1415-1431.
- Raichaudhuri A., Bhattacharyya R., Chaudhuri S., Dasgupta M., Domain analysis of a groundnut calcium-dependent protein kinase: nuclear localization sequence in the junction domain is coupled with nonconsensus calcium binding domains. *J Biol Chem*, 2006, 281, 10399-10409.
- Reddy V.S., Reddy A.S.N., Proteomics of calcium-signaling components in plants. *Phytochemistry*, 2004, 65, 1745-1776.
- Saijo Y., Hata S., Kyojuka J., Shimamoto K., Izui K., Overexpression of a single  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants. *Plant J*, 2000, 23, 319-327.
- Sanchez-Barrena M.J., Martinez-Ripoll M., Zhu J.K., Albert A., The structure of the *Arabidopsis thaliana* SOS3: molecular mechanism of sensing calcium for salt stress response. *J Mol Biol*, 2005, 345, 1253-1264.
- Sheen J.,  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinases and stress signal transduction in plants. *Science*, 1996, 274, 1900-1902.
- Snedden W.A., Blumwald E., Alternative splicing of a novel diacylglycerol kinase in tomato leads to a calmodulin-binding isoform. *Plant J*, 2000, 24, 317-326.
- Song C.P., Agarwal M., Ohta M., Guo Y., Halfter U., Wang P., Zhu J.K., Role of an *Arabidopsis* AP2/EREBP-type transcriptional repressor in abscisic acid and drought stress responses. *Plant Cell*, 2005, 17, 2384-2396.
- Townley H.E., Knight M.R., Calmodulin as a potential negative regulator of *Arabidopsis* *COR* gene expression. *Plant Physiol*, 2002, 128, 1169-1172.
- White P.J., Broadley M.R., Calcium in plants. *Ann Bot*, 2003, 92, 487-511.
- Xu J., Li H.D., Chen L.Q., Wang Y., Liu L.L., He L., Wu W.H., A protein kinase, interacting with two calcineurin B-like proteins, regulates  $\text{K}^+$  transporter AKT1 in *Arabidopsis*. *Cell*, 2006, 125, 1347-1360.
- Yamakawa H., Katou S., Seo S., Mitsuhara I., Kamada H., Ohashi Y., Plant MAPK phosphatase interacts with calmodulins. *J Biol Chem*, 2004, 279, 928-936.
- Yang T., Poovaiah B.W., Calcium/calmodulin-mediated signal network in plants. *Trends Plant Sci*, 2003, 8, 505-512.
- Yoo J.H., Park C.Y., Kim J.C., Heo W.D., Cheong M.S., Park H.C., Kim M.C., Moon B.C., Choi M.S., Kang Y.H., Lee J.H., Kim H.S., Lee S.M., Yoon H.W., Lim C.O., Yun D.J., Lee S.Y., Chung W.S., Cho M.J., Direct interaction of a divergent CaM isoform and the transcription factor, MYB2, enhances salt tolerance in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 2005, 280, 3697-3706.
- Zhu S.Y., Yu X.C., Wang X.J., Zhao R., Li Y., Fan R.C., Shang Y., Du S.Y., Wang X.F., Wu F.Q., Xu Y.H., Zhang X.Y., Zhang D.P., Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19, 3019-3036.