

*Paweł Wójcik<sup>1</sup>, Marzena Wójcik<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach*

<sup>2</sup> *Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi*

## **Rola wapnia w mięknięciu owoców\***

### **1. Wstęp**

Wapń jest niezbędnym składnikiem mineralnym warunkującym prawidłowy wzrost i rozwój roślin wyższych. Ilość dostępnego dla roślin wapnia w glebie przewyższa wielokrotnie ich potrzeby pokarmowe. Występujące objawy niedoboru wapnia w owocach związane są raczej ze specyficznym transportem i dystrybucją tego makroskładnika w roślinie niż z jego niedostatecznym pobieraniem. Jabłka, gruszki i pomidory są owocami, w których stężenie wapnia jest szczególnie niskie. Dlatego owoce te narażone są w dużym stopniu na choroby fizjologiczne związane z niedoborem tego pierwiastka. Dokarmianie tych owoców wapniem przez ich opryskiwanie lub moczenie w roztworze tego składnika efektywnie ogranicza intensywność wielu chorób fizjologicznych. Jabłka i gruszki odznaczające się wysoką zawartością wapnia wykazują nie tylko małą wrażliwość na choroby fizjologiczne, ale także mogą być długo przechowywane. Zdolność owoców o wysokiej zawartości wapnia do długiego przechowywania związana jest z opóźnieniem ich dojrzewania i starzenia. Proces mięknięcia owoców i spowodowane tym obniżenie ich jędrności w znacznym stopniu wiąże się z zawartością wapnia w tych organach [38]. Na proces mięknięcia owoców oprócz zawartości w nich wapnia istotny wpływ wywiera także m.in: stan fizjologiczny owoców w momencie ich zbioru oraz warunki ich przechowywania, tzn. temperatura, wilgotność i skład gazowy powietrza.

Celem tej pracy jest przegląd obecnej wiedzy na temat wpływu jonów wapnia na proces mięknięcia owoców.

### **2. Rola wapnia w apopląście**

Według Diehla i Hamanna [9], mięknięcie jabłek spowodowane jest głównie degradacją ich ścian komórkowych. Sams i Conway [34] stoją na stanowisku, że wapń jest pierwiastkiem, który odgrywa ważną rolę w mięknięciu jabłek poprzez wpływ na

\* Pracę wykonano w ramach stypendium Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej.

zmiany biochemiczne zachodzące w ścianie komórkowej. Tego samego zdania jest Roy i in. [33] oraz Stow [37].

Badania Knee [14] wykazały, że wapń może stymulować syntezę polisacharydów tworzących ścianę komórkową. Ray i Baker [32] stwierdzili, że tkanki roślin traktowane wapniem cechowały się większą zdolnością włączania glukozy do ścian komórkowych. Poovaiah i Veluthambi [29] udowodnili, że wapń zwiększa aktywność syntazy 1,3- $\beta$ -glukanowej u kukurydzy. Włączenie UDP-( $^{14}\text{C}$ )-glukozy do polisacharydów ścian komórkowych w okresie dojrzewania owoców zanotowano w jabłkach, gruszkach i truskawkach [14, 15, 16].

Według Deya i Brinsona [8], pierwotną przyczyną mięknięcia owoców jest rozpuszczenie pektyn znajdujących się w blaszce środkowej. Tego samego zdania jest Glenn i Poovaiah [12]. Zasadniczym składnikiem pektyn jest kwas poligalakturonowy, którego jednostkami podstawowymi są cząsteczki kwasu galakturonowego, połączone wiązaniami  $\alpha$ -1-4-glikozydowymi. Jony  $\text{Ca}^{2+}$ , łącząc się z ujemnie naładowanymi grupami karboksylowymi pektyn, decydują o trwałości blaszki środkowej oraz o szybkości maceracji tkanki. Mimo że w ścianie komórkowej występują trudno rozpuszczalne węglany i siarczany wapnia, to ocenia się, że nie mają one wpływu na szybkość mięknięcia owoców. Tak więc obecność jonów wapnia w blaszce środkowej warunkuje utrzymanie spójności tkanek [36]. Ekstrakcja wapnia ze ścian komórkowych za pomocą EDTA lub innego chelatora o dużym powinowactwie do jonów wapnia przyspiesza proces rozpadu tkanek. Podobnie dzieje się, gdy jony wodoru zastąpią jony wapnia związane z ujemnie naładowanymi grupami karboksylowymi pektyn.

Do czynników powodujących degradację ścian komórkowych należą enzymy hydrolityczne: poligalakturonaza (PG) i pektynometyloesteraza (PME). PG jest enzymem katalizującym rozpad wiązań  $\alpha$ -1-4-glikozydowych między poszczególnymi resztami niezestryfikowanego kwasu galakturonowego. O znaczeniu PG w procesie mięknięcia owoców może świadczyć porównanie owoców pomidora odmiany Rutgers, wykazujących spadek jędrności wraz z ich dojrzewaniem, z odmianą transgeniczną rin, u której nie stwierdza się mięknięcia owoców. W przypadku rośliny transgenicznej rin nie obserwuje się wzrostu aktywności PG, tak jak to ma miejsce u odmiany ulegającej mięknięciu [24]. Dodatkowo przy porównaniu owoców tych odmian wykazano, że aktywność celulazy wzrastała w miarę dojrzewania owoców u obu badanych odmian. Świadczy to o tym, że celulaza nie może odgrywać podstawowej roli w mięknięciu owoców. Wzrost aktywności PG u odmiany Rutgers przed rozpoczęciem mięknięcia owoców oraz brak jej aktywności u rośliny rin sugeruje, że enzym ten wywiera duży wpływ na mięknięcie owoców. Buescher i Hobson [4] wykazali, że degradacja pektyn przez PG w owocach pomidora była ograniczona o 65% po inkubowaniu komórek w 1mM  $\text{CaCl}_2$ . Całkowite zahamowanie aktywności PG obserwowano po inkubacji komórek w 5mM  $\text{CaCl}_2$ . Autorzy ci wykazali również, że najmniejszą wrażliwością na PG odznaczały się młode owoce. Wrażliwość owo-

ców pomidora na ten enzym wzrastała wraz z ich dojrzewaniem, powodując jednocześnie ich mięknięcie. Jest to prawdopodobnie związane z tym, że młode owoce zawierają wyższe stężenie wapnia w porównaniu do owoców dojrzałych, co skutecznie redukuje aktywność PG [10]. Według Deya i Brinsona [8], PG jest dominującym enzymem powodującym mięknięcie owoców, choć autorzy ci nie wykluczają, że inne enzymy mogą również brać udział w tym procesie.

Innym enzymem pektynolitycznym występującym w owocach jest PME. Jest to enzym katalizujący hydrolizę wiązań estrowych utworzonych między grupami karboksylowymi poligalakturonianu i grupą hydroksylową metanolu [40]. Pressey [30] sugeruje, że działanie PME może powodować zmniejszenie rozpuszczalności pektyn, pod warunkiem, że jony wapnia łączą się z wolnymi grupami karboksylowymi. Według Neala [19], całkowita estryfikacja pektyn prowadzi do szybkiej adhezji komórek i utraty spójności tkanki. W okresie przechowywania jabłek Knee [14] nie stwierdził zmian w ilości zestryfikowanych pektyn, co świadczy o braku PME w okresie dojrzewania jabłek. Wills i Rigney [41] wykazali, że aktywność PME w owocach pomidora zależała od stężenia jonów wapnia w ścianie komórkowej. Wzrost stężenia jonów wapnia w ścianie komórkowej był skorelowany ze wzrostem PME.

Badania Suwwana i Poovaiaha [39] wykazały, że wraz z dojrzewaniem owoców pomidora odmiany Rutgers wzrastała ilość rozpuszczalnego w wodzie wapnia. U rośliny transgenicznej rin nie wykazującej mięknięcia owoców nie stwierdzono tak wyraźnej zależności. Wykazano także, że w ciągu 60 dni wzrostu owoców rin wzrastała zarówno ilość całkowitego wapnia, jak i związanego ze ścianą komórkową. W przypadku owoców odmiany Rutgers wraz z ich dojrzewaniem drastycznie spadała zawartość wapnia związanego ze ścianą komórkową. Autorzy ci twierdzą, że proces mięknięcia owoców związany jest ze wzrostem rozpuszczalności jonów wapnia znajdującego się w ścianie komórkowej. Podobnego zdania są Siddiqui i Bangerth [36].

Wydaje się zatem, że działanie jonów wapnia w apoplacie w ograniczaniu szybkości rozpadu ścian komórkowych ma charakter kompleksowy. Dotychczasowe wyniki nie pozwalają na wyznaczenie krytycznego poziomu apoplastycznego wapnia, przy którym proces dojrzewania i starzenia się owoców zostaje efektywnie ograniczony. Wynika to z dużego zróżnicowania zawartości wapnia w apoplacie między gatunkami oraz odmianami należącymi do tego samego gatunku.

### **3. Rola wapnia w błonach plazmatycznych**

Błony plazmatyczne zbudowane są głównie z fosfolipidów i białek. Ich grupy funkcyjne znajdujące się na powierzchni błon odznaczają się ujemnym ładunkiem elektrycznym, co pozwala na łączenie się ich z uwodnionymi jonami wapnia. Ujemnie naładowane grupy funkcyjne błon komórkowych wykazują niskie powinowactwo do jonów wapnia. Wiązanie jonów wapnia na powierzchni błon komórkowych powoduje

neutralizację ich ujemnego ładunku, co prowadzi m.in. do spadku jej przepuszczalności dla wody i uwodnionych kationów. Według Hansona [13], obecność jonów wapnia w błonach komórkowych jest niezbędnym warunkiem zapewniającym utrzymanie jej półprzepuszczalnych właściwości. Poovaiah i Leopold [27] w swoich badaniach wykazali, że wraz ze starzeniem się komórek wzrastała przepuszczalność błon komórkowych. Obniżenie półprzepuszczalnych właściwości błon plazmatycznych było istotnie ograniczone przez jony wapnia. Dodatkowo autorzy ci stwierdzili, że wapń efektywnie redukuje rozpad chlorofilu i białek.

Istotny wpływ na szybkość dojrzewania owoców oraz ich mięknięcie wywiera etylen. Traktowanie jabłek tym hormonem przyspiesza ich dojrzewanie. Według Ben-Arie i in. [2], dostateczna ilość wapnia związanego z błoną komórkową opóźnia lub ogranicza biosyntezę etylenu. Autorzy ci twierdzą, że wapń szczególnie silnie ogranicza produkcję etylenu u jabłek przechowywanych w niskich temperaturach (0–12° C).

Degradacja błon komórkowych może mieć miejsce w wyniku kontaktu komórki z roztworem o niskim pH, gdyż powoduje obniżenie dysocjacji kwasowych grup funkcyjnych fosfolipidów i białek, co prowadzi do wypierania z nich jonów wapnia. Jednocześnie w warunkach niskiego pH dochodzi do uaktywnienia wielu metali ciężkich, obecnych w ścianach komórkowych. Ich działanie na powierzchnię błony powoduje obniżenie jej półprzepuszczalnych właściwości i ostatecznie prowadzi do zamierania komórek [42].

Wszystkie czynniki, które prowadzą do obniżenia półprzepuszczalnych właściwości błon plazmatycznych, przyspieszają dojrzewanie owoców. Jony wapnia występujące w odpowiedniej ilości w membranach plazmatycznych efektywnie opóźniają dojrzewanie owoców, a w konsekwencji prowadzą do spowolnienia ich mięknięcia.

#### **4. Rola wapnia w procesach wewnątrzkomórkowych**

---

Według Poovaiaha i Reddy [28] oraz Poovaiaha [25], kluczową rolę w funkcjonowaniu komórki odgrywa występujący w formie jonowej  $\text{Ca}^{2+}$  wapń znajdujący się w cytozolu. W cytoplazmie podstawowej występuje bardzo niskie stężenie wolnych jonów  $\text{Ca}^{2+}$ . Jedynie około 1% cytoplazmatycznego wapnia występuje w formie nie związanej, co odpowiada 0,1–1  $\mu\text{M}$   $\text{Ca}^{2+}$ . Większość wapnia obecnego w cytoplazmie ulega związaniu przez różnego rodzaju związki organiczne i nieorganiczne oraz przechodzi do niektórych organelli, głównie siateczki śródplazmatycznej, chloroplastów, wakuoli i mitochondriów [23, 24]. Regulacja wolnych jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w cytozolu zachodzi przy udziale pomp wapniowych, zlokalizowanych w błonach plazmatycznych, toteż u wyżej wymienionych organelli stężenie wolnych jonów  $\text{Ca}^{2+}$  jest znacznie wyższe niż w cytozolu. Wzrost stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w cytozolu, indukowany przez sygnał zewnętrzny lub wewnętrzny, powodowany jest zwiększeniem ich trans-

portu z przestrzeni zewnątrzkomórkowej do cytoplazmy lub/i uwalniania ich z organelli komórkowych, pełniących rolę magazynów dla tego składnika. Chwilowy wzrost stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w cytozolu uruchamia wiele biochemicznych i fizjologicznych reakcji modyfikujących metabolizm komórki. Według Poovaiaha [25] oraz Zocchi i Mignami [42], wzrost stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w cytozolu wpływa pośrednio na proces dojrzewania owoców oraz na ich szybkość mięknięcia.

#### 4.1. Kalmodulina

Najpowszechniej występującym w świecie ożywionym białkiem wiążącym  $\text{Ca}^{2+}$  jest kalmodulina, gdyż obecność jej stwierdzono u wszystkich dotąd przebadanych organizmów eukariotycznych. Kalmodulina jest niskocząsteczkowym, kwaśnym i termostabilnym polipeptydem [18, 35]. Uczestniczy ona w regulacji wielu procesów zachodzących z udziałem jonów  $\text{Ca}^{2+}$ . Przyłączenie jonów wapnia do kalmoduliny powoduje u niej zmiany konformacyjne wewnątrz polipeptydu, co przyczynia się do jej aktywacji i łączenia z białkiem docelowym, np. z enzymami. Około 90% kalmoduliny w roślinach znajduje się w cytoplazmie. Pozostała ilość kalmoduliny zlokalizowana jest w mitochondriach (5–9%), chloroplastach (1–2%) i w mikrosomach (< 1%) [34]. Stężenie kalmoduliny w komórkach roślinnych jest niskie i zazwyczaj waha się w granicach 1–10  $\mu\text{M}$  [35]. Zwiększoną zawartość tego białka obserwuje się w szybko rosnących tkankach, a szczególnie w komórkach merystematycznych. W świecie roślin wykazano do tej pory kilka enzymów, których aktywność regulowana jest poprzez oddziaływanie kompleksu kalmoduliny z jonami wapnia.

Według Poovaiaha [24], dojrzewanie owoców oraz ich mięknięcie zależy od aktywności kompleksu  $\text{Ca}^{2+}$  — kalmodulina. Aktywność enzymów uzależnionych od tego kompleksu może ulegać ograniczeniu poprzez zastosowanie różnych syntetycznych pochodnych fenylotiazyny lub sulfonamidów, jak również działania endogennych inhibitorów. W badaniach Paliyath i Poovaiaha [20] wykazano występowanie w komórkach dojrzałych jabłek inhibitora aktywności kalmoduliny, charakteryzującego się wysoką termostabilnością oraz niską masą cząsteczkową. Według Paliyath i Poovaiaha [21] inhibitorami kalmoduliny w dojrzałych jabłkach są flawonoidy, z których najbardziej efektywnym jest katechina. Autorzy ci stoją na stanowisku, że wzrost zawartości inhibitorów kalmoduliny w dojrzewających owocach jabłek, pomidorów i truskawek może być ważnym czynnikiem wpływającym na ich szybkość mięknięcia.

#### 4.2. Fosforylacja białek

W komórkach eukariotycznych stwierdzono funkcjonowanie kinaz białkowych, których aktywność regulowana jest przez jony  $\text{Ca}^{2+}$ . Enzymy te katalizują reakcję fosforylacji różnych białek strukturalnych i regulatorowych. Obecnie uważa się, że fosforylacja i defosforylacja białek jest jednym z głównych mechanizmów kontrolu-

jących metabolizm komórki. W badaniach Paliyath i Poovaiaha [22] wykazano, że o ilości białek plazmatycznych oraz ich rodzaju decyduje nie tylko ilość jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w komórce, ale także stan dojrzałości komórek. Autorzy ci stwierdzili, że komórki miąższu jabłek przetrzymywane w temperaturze powietrza wynoszącej  $20^{\circ}\text{C}$  odznaczały się zdecydowanie mniejszą zawartością białek w membranach plazmatycznych w porównaniu do owoców mniej dojrzałych, przechowywanych w  $2^{\circ}\text{C}$  (kontrola). Inkubowanie komórek w roztworze wapnia z kalmoduliną powodowało wzrost fosforylacji polipeptydów zarówno u owoców kontrolnych, jak i bardziej dojrzałych. Intensywność fosforylacji polipeptydów pod wpływem roztworu wapnia i kalmoduliny była jednak bardziej wyraźna u owoców kontrolnych. Sugeruje to, że wraz z dojrzewaniem jabłek tracą one zdolność do fosforylacji białek, mimo nie zmieniającej się ogólnej zawartości wapnia. Również badania Raghothama i in. [31], przeprowadzone na pomidorach, wykazały, że fosforylacja białek w membranach plazmatycznych uzależniona była nie tylko od zawartości wapnia w komórce, ale także od ich dojrzałości. Według Poovaiaha i in. [26], jony wapnia — wpływając na fosforylację i defosforylację białek — odgrywają ważną rolę w dojrzewaniu i mięknięciu owoców.

#### 4.3. Rola wapnia w regulacji ekspresji genów

Powszechnie wiadomo, że owoce poszczególnych gatunków roślin wykazują różną zdolność do długiego przechowywania. Między odmianami tego samego gatunku obserwuje się także zróżnicowanie pod względem szybkości dojrzewania i starzenia się owoców. Na przykład jabłka odmiany Idared osiągają dojrzałość konsumpcyjną znacznie później niż owoce odmiany Jonagold, mimo że zbierane są w tym samym czasie. Z tego względu odmiana Idared wykorzystywana jest przez hodowców roślin jako jeden z osobników rodzicielskich warunkujących długie przechowywanie owoców. U pomidorów na drodze mutacji uzyskano osobniki, których owoce nie ulegają mięknięciu. Na podstawie pośrednich informacji można przypuszczać, że jony  $\text{Ca}^{2+}$  odgrywają ważną rolę w regulacji ekspresji genów. Obecność jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w cytoplazmie podstawowej i nukleoplazmie może wpłynąć w sposób pośredni na biosyntezę białek. Jony  $\text{Ca}^{2+}$  aktywują m.in. kinazy białkowe, które wpływają na stopień ufosforylowania białek uczestniczących w procesie transkrypcji lub/i translacji. Della Penna i in. [7] badali akumulację poligalakturonowego mRNA w komórce w różnych fazach rozwoju owocu pomidora. Zaobserwowali oni, że poziom poligalakturonowego mRNA był 2000 razy większy w owocach dojrzałych niż w owocach niedojrzałych, co świadczy o tym, że w trakcie procesu dojrzewania zwiększa się zawartość poligalakturonazy. Enzym ten może być więc markerem enzymatycznym procesu dojrzewania i mięknięcia owoców pomidora.

## 5. Rola wapnia w procesie transpiracji owoców

---

Jakkolwiek główną przyczyną mięknięcia owoców jest degradacja ścian komórkowych, to jednak u niektórych gatunków roślin transpiracja owoców odgrywa także ważną rolę w tym procesie. Dotyczy to szczególnie czereśni, wiśni, grusz i pomarańczy. W badaniach Kupfermana [17], przeprowadzonych w temperaturze powietrza wynoszącej 10°C i 10% jej wilgotności, ubytek masy owoców czereśni po 6 godzinach wynosił 1%. Wysokie straty wody z owoców czereśni wynikają z bardzo cienkiej warstwy woskowej znajdującej się na ich powierzchni oraz specyficznej budowy skórki, składającej się jedynie z pojedynczej warstwy epidermy i 1–3 warstw komórek leżących tuż pod nią. Taka budowa skórki owoców czereśni w dużym stopniu sprzyja transpiracji owoców.

W latach z wysokimi opadami deszczu owoce niektórych odmian czereśni odznaczają się dużymi ubytkami wody podczas ich transportu i przechowywania. Duży ubytek wody z owoców czereśni po ich zbiorze związany jest z oddzielaniem się kutykuli od epidermy oraz z występowaniem licznych drobnych spękań na skórcie [11]. Zmiany te stymulują transpirację owoców. Zabiegiem, który zmniejsza intensywność spękań owoców czereśni, jest opryskiwanie związkami wapnia [3,5]. Traktowanie natomiast owoców czereśni EDTA związkiem wykazującym duże powinowactwo do jonów  $\text{Ca}^{2+}$  zwiększa liczbę pęknięć na owocach [1]. Opryskiwanie czereśni innymi pierwiastkami dwuwartościowymi nie wywiera istotnych zmian w liczbie spękanych owoców. Świadczy to, że jony  $\text{Ca}^{2+}$  działają specyficznie na ograniczenie liczby spękań na owocach czereśni. Działanie jonów wapnia polega prawdopodobnie na usztywnieniu ścian komórkowych, co ogranicza nadmierny wzrost objętości komórek tworzących skórę owoców.

## 6. Podsumowanie

---

Zawartość wapnia w owocach jest jednym z czynników wpływających w istotny sposób na proces ich mięknięcia. Wpływ jonów wapnia na mięknięcie owoców ma charakter kompleksowy, gdyż pierwiastek ten odgrywa ważną rolę m.in. w integralności ścian komórkowych, utrzymaniu półprzepuszczalnych właściwości błon plazmatycznych, regulacji wielu procesów metabolicznych dzięki aktywności kalmoduliny i innych białek, fosforylacji białek i ekspresji genów. Molekularne działanie jonów wapnia w procesie mięknięcia owoców jest nadal niedostatecznie poznane.

- [1] Alani K. 1980. Cracking of soft fruits: causes and protective measures. *Obstbau*. 5: 276–278.
- [2] Ben-Arie R., Lurie S., Mattoo A.K. 1982. Temperature-dependent inhibitory effects of calcium and spermine on ethylene biosynthesis in apple discs correlate with changes in microsomal membrane microviscosity. *Plant Sci. Lett.* 24: 239–247.
- [3] Brown G., Wilson S., Boucher W. Graham B., McGlasson B. 1995. Effects of copper-calcium sprays on fruit cracking in sweet cherry. *Scientia Horticulturae*. 62(1/2): 75–80.
- [4] Buescher R.W., Hobson G.E. 1982. Role of calcium and chelating agents in regulating the degradation of tomato fruit tissue by polygalacturonase. *J. Food Biochem.* 6: 147–160.
- [5] Callan N.W. 1986. Calcium hydroxide reduces splitting of 'Lambert' sweet cherry. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 111: 173–175.
- [6] Dekock P.C.D., Vaughan A., Ord B.G. 1980. Biochemical studies on blossom end rot of tomatoes. *Physiol. Plant.* 48: 312–316.
- [7] Della Penna D., Aleksander D.C., Bennett A.B. 1986. Molecular cloning of tomato fruit polygalacturonase: analysis of polygalacturonase mRNA levels during ripening. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 83: 6420–6424.
- [8] Dey P.M., Brinson K. 1984. Plant cell-walls. W: *Adv. Carbohydrate Chem. Biochem.* 265–382.
- [9] Diehl K.C., Hamann D.D. 1979. Relationships between sensory profile parameters and fundamental mechanical parameters for raw potatoes, melons and apples. *J. Texture Studies*. 10: 401–420.
- [10] Ferguson I.B., Grobak B.K. 1988. Calcium and the regulation of plant growth and senescence. *HortSci.* 23(2): 262–266.
- [11] Glenn G.M., Poovaiah B.W. 1989. Cuticular properties and postharvest calcium applications influence cracking of sweet cherries. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114(5):781–788.
- [12] Glenn G.M., Poovaiah B.M. 1990. Calcium-mediated postharvest changes in texture and structure and composition in Golden Delicious apples. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 115(6): 962–968.
- [13] Hanson J.B. 1984. The functions of calcium in plant nutrition. W: *Adv. in Plant Nutrition*: 149–208.
- [14] Knee M. 1978. Properties of polygalacturonate and cell cohesion in apple fruit cortical tissue. *Phytochemistry*. 17: 1257–1260.
- [15] Knee M. 1982. Fruit softening II. Precursor incorporation into pectin by pear slices. *J. Expt. Bot.* 33: 1256–1262.
- [16] Knee M., Sargent J.A., Osborne D.J. 1977. Cell wall metabolism in developing strawberry fruits. *J. Expt. Bot.* 28: 377–396.
- [17] Kupferman E. 1986. An introduction to cherry quality and handling. *Postharvest Pomology Newsletter*. 4: 3–8.
- [18] Leśniak W. 1989. Interakcja kalmoduliny z jej białkami docelowymi. *Post. Biochem.* 35: 63–88.
- [19] Neal G.E. 1965. Changes occurring in the cell walls of strawberries during ripening. *J.Sci. Food Agric.* 16: 604–611
- [20] Paliyath G., Poovaiah B.W. 1984. Calmodulin inhibitor in senescing apples and its physiological and pharmacological significance. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 81: 2065–2069.
- [21] Paliyath G., Povaiah B.W. 1985. Identification of naturally occurring calmodulin inhibitors in plants and their effects on calcium and calmodulin-promoted protein phosphorylation. *Plant Cell Physiol.* 26: 201–209.
- [22] Paliyath G., Poovaiah B.W. 1985. Calcium-and calmodulin-promoted phosphorylation of membrane proteins during senescence in apples. *Plant Cell Physiol.* 26: 977–986.
- [23] Poovaiah B.W. 1987. The role of calcium and calmodulin in senescence. W: *Plant Senescence: Its Biochemistry and Physiology*. Red. Thomson W.W., Nothnagel R.C., Huffaker P. Amer. Soc. of Plant Physiol. Rockville, Md.: 182–189.
- [24] Poovaiah B.W. 1988. Molecular and cellular aspects of calcium action. *HortScience*. 23: 267–271.



- [25] Poovaiah B.W. 1993. Biochemical and molecular aspects of calcium action. *Acta Horticulturae* 326: 139–147.
- [26] Poovaiah B.W., Glenn G.M., Reddy A.S.N. 1988. Calcium and fruit softening: Physiology and biochemistry. *Horticultural Reviews* 10: 107–152.
- [27] Poovaiah B.W., Leopold A.C. 1973. Deferral of leaf senescence with calcium. *Plant Physiol.* 52: 236–239.
- [28] Poovaiah B.W., Reddy A.S.N. 1987. Calcium messenger system in plants. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 6: 47–103.
- [29] Poovaiah B.W., Veluthambi K. 1986. The role of calcium and calmodulin in hormone action in plants: importance of protein phosphorylation. W: *Molecular and Cellular Aspects of Calcium in Plant Development*: 83–90.
- [30] Pressey R. 1977. Enzymes involved in fruit softening. W: *Enzymes in Food and Beverage Processing*. ACS Symposium Series 47: 172–191.
- [31] Raghothama K.G., Veluthambi K., Poovaiah B.W. 1985. Stage-specific changes in calcium-regulated protein phosphorylation in developing tomato fruits. *Plant Cell Physiol.* 26: 1565–1572.
- [32] Ray P.M., Baker D.B. 1965. The effect of auxin on synthesis of oat coleoptile cell wall constituents. *Plant Physiol.* 40: 353–360.
- [33] Roy S., Conway W.S., Wanada A.E., Sams C.E., Pooley C.D., Wergin W.P. 1994. Distribution of the anionic sites in the cell wall of apple fruit after calcium treatment. Quantitation and visualization by a cationic colloidal gold probe. *Protoplasma.* 178(3–4): 156–167.
- [34] Sams C.E., Conway W.S. 1984. Effect of calcium infiltration on ethylene production, respiration rate, soluble polyuronide content and quality of 'Golden Delicious' apple fruit. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 109: 53–57.
- [35] Sączkowska V. 1989. Kalmodulina i jej rola w regulacji metabolizmu komórki roślinnej. *Post. Biochem.* 35: 89–108.
- [36] Siddiqui S., Bangerth F. 1995. Effect of pre-harvest application of calcium on fresh firmness and cell-wall composition of apples-influence of fruit size. *J. Hort. Sci.* 70(2): 263–269.
- [37] Stow J. 1989. The involvement of calcium ions in maintenance of apple fruit tissue structure. *J. Expt. Bot.* 40: 1053–1057.
- [38] Stow J. 1993. Effect of calcium ions on apple fruit softening during storage and ripening. *Postharvest Biol. Techn.* 3: 1–9.
- [39] Suwwan M.A., Poovaiah B.W. 1978. Association between elemental content and fruit ripening in *rin* and normal tomatoes. *Plant Physiol.* 61: 883–885.
- [40] Węgrzyn T.F., MacRae E.A. 1992. Pectinesterase, polygalacturonase and  $\beta$ -galactosidase during softening of ethylene treated kiwifruit. *HortScience* 27: 900–902.
- [41] Wills R.B., Rigney C.J. 1979. Effect of calcium on activity of mitochondria and pectic enzymes isolated from tomato fruits. *J. Food Biochem.* 3: 103–110.
- [42] Zocchi G., Mignami I. 1995. Calcium Physiology and metabolism in fruit trees. W: *Mineral Nutrition of Deciduous Fruit Plants*. Red. Tagliavimi M., Neilsen G.H., Millard P., Trento. Italy: 15–23.

## **Role of calcium in fruit softening**

---

### **Summary**

Calcium plays an important role in many physiological processes, especially in fruit softening. The low calcium content in fruits causes their rapid softening. The role of calcium in fruit softening is complex. Apoplastic calcium strongly affects the function of plant cell walls and membranes. Cell walls are the structures where the main role of calcium is cross-linking with pectin which increases cell cohesiveness. Calcium ions maintain also membrane selectivity. In the symplast  $\text{Ca}^{2+}$  ions alone or in complex with calmodulin influence a lot of metabolic processes which change the rate of fruit softening. However, the role of Ca-calmodulin complex in fruit softening is not sufficiently understood.