

## 综述 Reviews

## 气孔发育及其调控因素的研究进展

陆雯芸, 房克, 边红武\*, 朱睦元

浙江大学生命科学学院遗传学研究所, 杭州310058

**摘要:** 气孔作为植物与外界气体交换的重要通道, 直接影响植物的蒸腾作用和光合作用。近年来, 随着气孔发育模式及其分子机制的研究日益明晰, 更多调控因素的作用机理逐渐成为新的研究热点。最近研究发现, 植物激素生长素是参与调控气孔发育并影响气孔分化与分布的重要调控因子。本文主要总结了植物气孔发育机制的最新研究进展, 以及激素和环境因子对气孔发育的影响, 并提出了今后有待阐明的问题和研究方向。

**关键词:** 气孔发育; 激素; CO<sub>2</sub>

气孔是陆生植物表皮特有的微型小孔, 是植物与外界环境进行水气交换的主要途径, 通常由2个高度特化的保卫细胞(guard cell, GC)包围而成。气孔孔径、数目及其分布均是影响气孔水气交换的重要因素。气孔孔径主要受GC的膨胀运动调控, 而其数目和分布主要受细胞生长、分化调控。在漫长的进化过程中, 植物形成了复杂的气孔发育调控机制, 涉及一系列转录因子、信号肽和促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号途径等诸多调控因素。近年来, 不仅气孔发育模式及其分子机理不断完善, 植物激素和外界环境对气孔发育的调控机制也获得了很多科研成果, 尤其在生长素(auxin)调控气孔分化方面取得了新的发现。本文就当前气孔研究进展进行了综述, 并提出了一些有待解决的问题和今后研究方向。

## 1 植物气孔发育的分子机制

### 1.1 气孔发育模式

在双子叶模式植物拟南芥中, 原表皮细胞(proto dermal cell)进入气孔发育途径, 转变为拟分生母细胞(meristemoid mother cell, MMC)。MMC在一次不对称分裂后形成一个呈小三角形的拟分生组织细胞(meristemoid, M), 和一个大的姐妹细胞, 也称之为气孔世系基细胞(stomatal lineage ground cell, SLGC), 其中M可以继续扩增或直接发育成保卫细胞母细胞(guard mother cell, GMC), 而SLGC则可分化为铺板细胞(pavement cell)或卫星拟分生组织(satellite meristemoid, SM), SM能在胞间信号调控下, 遵循“至少一个细胞间隔”的分布模式形成GMC。GMC经一次对称分裂之后, 产生2个高度特化的GC, 从而形成气孔。以上自MMC起

始, 经过GMC发育成气孔的一系列细胞称为气孔世系(stomatal lineage) (Geisler等2000) (图1)。

在单子叶模式植物水稻中, 表皮细胞转变为MMC后, 同样进行不对称分裂产生2个子细胞, 较小的子细胞可转变为GMC, 然而, 与双子叶植物不同的是, 此时靠近GMC的副卫细胞母细胞(subsidiary mother cell, SMC)进行不对称分裂, 产生一对副卫细胞。随后, GMC细胞进行对称分裂产生2个GC, GC成熟后将从长方形转变哑铃型。最终, 由一对副卫细胞和一对GC共同构成气孔(Liu等2009)。

### 1.2 气孔发育的分子调控机制

碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录因子对植物生长发育有重要调控作用(Heim等2003; Ledent和Vervoort 2001; Zhao等2008), 其中参与气孔发育调控的主要分两大类, 第一类包括SPEECHLESS (SPCH)、MUTE以及FAMA (Pires和Dolan 2010)。尽管这三个转录因子皆属于Ia亚家族, 具有一定的结构相似性, 但功能上并不互补, 而是分别在气孔形成的递进过程中发挥作用。

首先, 由SPCH基因调控气孔世系起始。在突变体*spch-1*中, 气孔完全缺失, 只有锯齿状的表皮细胞; 相反, 当过表达SPCH基因时, 大量的MMC进入不对称分裂, 植株形成过多的气孔, 这表明SPCH对原表皮细胞向MMC转变, 起始不对称分裂产生M具有不可或缺的作用(MacAlister等2007)。

收稿 2015-12-21 修定 2016-05-02

资助 国家自然科学基金(31171615)。

\* 通讯作者(E-mail: hwbian@zju.edu.cn)。

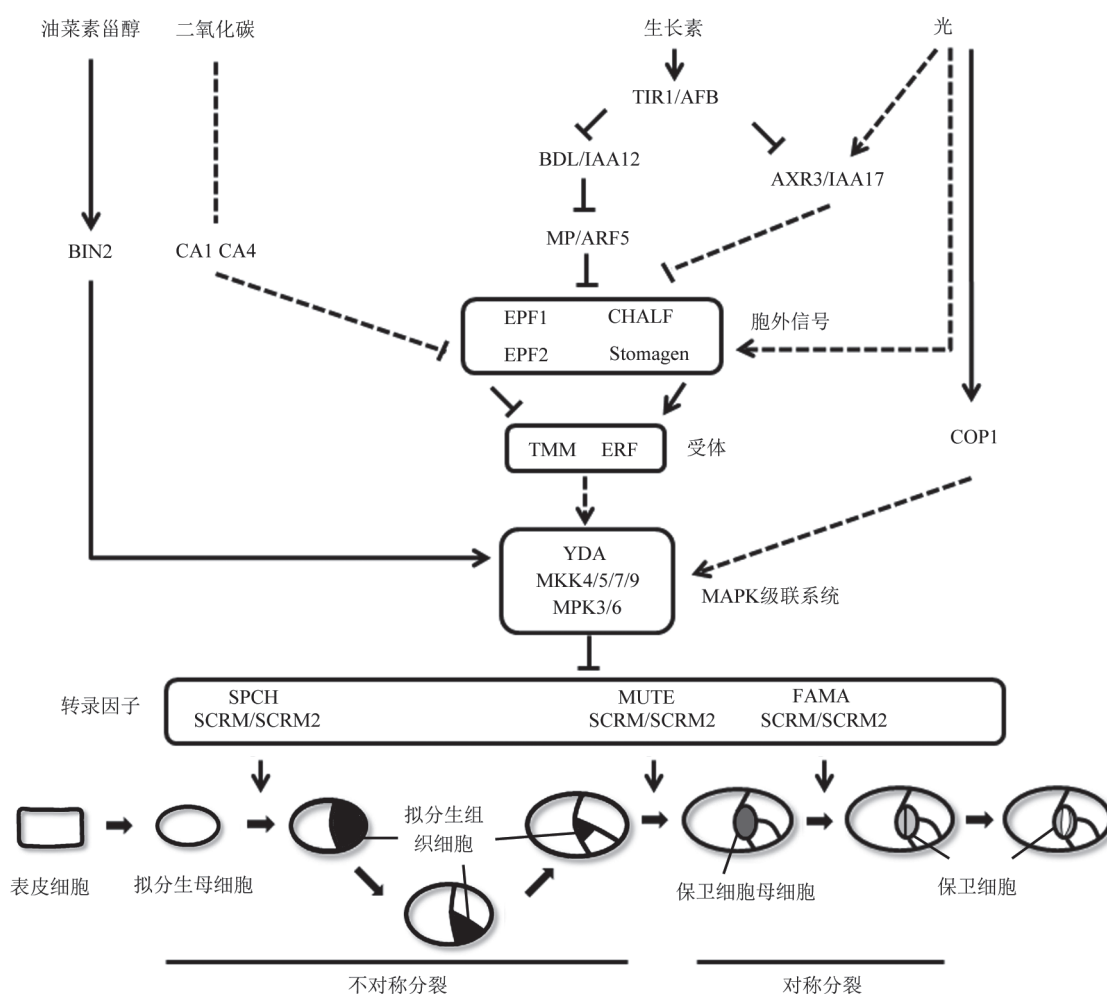


图1 激素、光和CO<sub>2</sub>调控气孔发育的信号通路

Fig.1 Signaling pathway involve in stomatal development regulated by hormone, light and CO<sub>2</sub>, 虚线表示分子相互作用等证据尚不明晰的途径。

MUTE参与M形成后向GMC转变的过程。Pillitteri等(2007)研究发现*mute*缺失突变株系的表型与*spch-1*相似, 气孔完全缺失, 但与之不同的是, 在*mute*株系中可以观察到MMC不对称分裂产生的M, 以及M多次分裂后形成的莲座模式(rosette pattern); 而过表达MUTE时, 几乎所有的表皮细胞都可以发育成气孔, 因此Pillitteri等认为MUTE可以终结M不对称分裂, 同时促使M向GMC转化。最终, 由FAMA调控GMC分裂产生2个GC, 形成气孔。FAMA具有抑制GMC过度分裂、促进GC命运决定的作用, FAMA功能缺失会导致GMC过度分裂, 同时引起GC分化异常, 无法形成正常的气孔形态(Ohashi-Ito和Bergmann 2006)。

第二类bHLH转录因子包括SCREAM (SCRM)/ICE1和SCREAM2 (SCRM2)。与第一类转录因子不同, SCRM和SCRM2具有功能冗余性, 它们在气孔世系形成的各个阶段均有明显表达, 调控3种细胞(MMC、GMC和GC)状态的转变。同时敲除拟南芥SCRM和SCRM2基因后, 出现类似*spch-1*中气孔缺失的表型。*scrm*单突变体表现出类似*fama*中GMC过度分裂的表型, 而*scrm2*单突变体并未呈现气孔发育异常。酵母双杂交实验和双分子荧光互补实验证明SCRM和SCRM2, 分别与SPCH、MUTE和FAMA形成异源二聚体, 调控气孔发育(Kanaoka等2008)。

近年来, 研究人员陆续发现在bHLH的上游,

一些小分子多肽通过胞间信号转导途径调控气孔发育。目前发现的有EPIDERMAL PATTERNING FACTOR1 (EPF1)、EPIDERMAL PATTERNING FACTOR2 (EPF2)、STOMAGEN/EPFL9和CHAL-LAH (CHAL)/EPFL6 (Abrash和Bergmann 2010; Hara 等2007; Hunt和Gray 2009; Sugano等2010)。这些小分子多肽来源于类表皮模式因子家族(EPI-DERMAL PATTERNING FACTOR-LIKE family, EPFL), 需要依赖TMM (too many mouths)和细胞表面受体——ER家族(ERECTA family, ERf)类受体激酶发挥调控作用。EPF1和EPF2具有较高的同源性, 可以分别被ERL1及ERL2识别, 负调控气孔密度, 抑制气孔发育(Hara等2007; Hunt和Gray 2009)。CHAL能够抑制气孔形成, 它需要依赖ERf发挥作用, 且具有明显的组织特异性, 而TMM可减弱CHAL对表皮模式形成的抑制作用(Abrash和Bergmann 2010)。最近研究显示, STOMAGEN和EPF2都能直接与TMM、ER结合, 因此STOMAGEN可以通过竞争性替代EPF2, 减少EPF2引起的下游信号组分磷酸化, 从而正向调控气孔发育(Lee等2015)。

MAPK信号途径广泛存在于真核生物中, 参与调控细胞分裂、生长、应激等多种生命活动。调控拟南芥气孔发育的MAPK级联信号组分包括YODA (YDA, 一种MAPKKK)、MKK4/5/7/9 (MAPKKs)和MPK3/6 (MAPK)。研究表明, SPCH含有一段93个氨基酸构成的MAPK目标域, 其中有10个MAPK磷酸化的作用靶点, 因此SPCH可以作为MAPK3/6的底物, 受YDA-MAPK信号模块调节, 从而影响MMC向M的转变(Lampard等2008)。此外, YDA-MKK4/5-MPK3/6信号模块还对M向GMC的转变起负调控作用(Bergmann等2004)。

研究表明, 拟南芥MMC和M的不对称分裂受到极性蛋白调控。Dong等(2009)发现*breaking of asymmetry in the stomatal lineage (basl)*突变体中, 罕有不对称分裂发生, 这导致大量对称分裂产生的子细胞进入相同的细胞命运引起气孔发育异常。BASL蛋白呈动态双定位, 分别位于细胞边缘和细胞核内, 这种定位模式决定了其功能上的差异, 细胞边缘的BASL蛋白涉及表皮细胞的分化, 而核内的BASL则与气孔分化有关。最近, Zhang

等(2015)提出MPK3/6可使BASL蛋白磷酸化, 而磷酸化后的BASL定位于皮质, 并能在MAPK级联通路中作为支架蛋白, 招募YDA和MPK3/6集中到皮质, 调控MAPK级联组分的空间分布。BASL含3个MAPK结合域(MAPK-docking motifs), 能够与YDA发生相互作用, 提高YDA的活性。BASL与MAPK级联组分形成的正反馈信号通路, 能通过影响细胞极性调控细胞的不对称分裂。POLAR LOCALIZATION DURING ASYMMETRIC DIVISION AND REDISTRIBUTION (POLAR)也是调控拟南芥气孔发育的极性蛋白之一, 其在细胞中的极性定位需要依赖BASL, 当M进行不对称分裂时, POLAR亦呈不对称分离。*polar*功能缺失突变体中没有观察到明显的表型改变, 这或许是由于POLAR的功能具有冗余性(Pillitteri等2011)。

## 2 气孔发育的影响因素

植物与动物不同, 无法整体快速移动应对外界的刺激, 只能通过调控内在生理、发育过程以适应不断变化的环境。气孔作为水气交换的通道, 对于植物优化光合效率、增强适应能力具有重要的作用。植物可以通过改变气孔的孔径和分布应对环境胁迫, 减弱植株损伤。激素、光和CO<sub>2</sub>浓度等均可以影响气孔的发育(图1)。

### 2.1 激素对气孔发育的影响

生长素是第一种被鉴定的植物激素, 能够调控细胞的分裂与分化, 在植物生长发育过程中具有重要作用, 它通过结合生长素受体复合物TIR1/AFBs和AUXIN/indole-3-acetic acid (AUX/IAAs), 促使AUX/IAAs的泛素化降解, 从而释放AUX/IAAs抑制的生长素反应因子(auxin response factors, ARFs), 调控下游基因表达。生长素的空间运输以及动态平衡对于植物生长发育具有重要意义。2014年的3篇文章报道了生长素对气孔发育的调控机制, 发现生长素合成、运输以及核内生长素信号途径是气孔正常发育所必需的(Balcerowicz等2014; Le等2014; Zhang等2014)。在气孔发育过程中, 生长素浓度和分布的动态变化需要依赖PIN FORMED (PIN)蛋白参与, *pin*多突变体(*pin1*, 3, 4, 7; *pin2*, 3, 4, 7)呈现气孔分布模式异常, 即20%的气孔成簇分布(Le等2014)。Le等(2014)利用time lapse技术检测生长素浓度信号DII-VENUS和生长



素反应信号DR5:VENUS, 发现在M中生长素活性很强, 而当其分化成GMC时, 生长素活性急剧下降。这种下降伴随着PIN3蛋白在后期M和GMC质膜的大量积累, 表明生长素消耗可能激发不对称分裂向对称分裂转换, 生长素或为气孔分化的抑制因子。在生长素通路途径中, TIR1/AFB生长素受体和ARF5/MONOPTEROS (MP)的缺失突变, 以及Aux/IAA BODENLOS (BDL)功能获得性突变都会导致气孔或气孔前体数量增加, 并产生大量气孔簇(Balcerowicz等2014; Le等2014; Zhang等2014)。Zhang等(2014)研究发现由于叶肉细胞中的ARF5/MP可以直接与STOMAGEN启动子区域结合, 抑制STOMAGEN转录, 从而降低对EPF1/2-TMM/ERECTA-MAPK通路的抑制作用, 使得气孔发育减弱。此外, 光信号会影响生长素对气孔发育的调控。Balcerowicz等(2014)发现生长素主要在黑暗环境中, 抑制气孔世系的细胞分裂活力, 负调控气孔增长。黑暗培养下, 功能获得性突变体*auxin-resistant2-1 (axr2-1/iaa7)*和*axr3-1 (iaa17)*仍表现出光照培养下的特征, 这说明AXR2和AXR3介导了生长素与光信号的整合(Reed 2001)。上位性效应分析表明, AXR3作用于bHLH转录因子、ERF-MAPK的上游, 且不需要依赖TMM发挥作用。

固醇类是细胞质膜的重要组成部分, 也是多种固醇类激素的前体, 具有维持细胞完整和介导胞间通讯的重要作用。固醇类中的油菜素甾醇(brassinosteroid, BR)是常见的调控气孔发育的激素, 可以通过BR-INSENSITIVE2 (BIN2)激酶介导YODA和SPCH磷酸化调控气孔发育(Gudesblat等2012b; Kim等2012)。BR对气孔发育的调控呈明显的组织特异性。在拟南芥子叶中, BR不敏感株系和BR突变体都会产生过量气孔, 而BR信号输出增强的三突变体*bin2-3/bil1/bil2*气孔减少; 在下胚轴中, BR可以通过稳定SPCH蛋白促进气孔生成(Fuentes等2012; Kim等2012; Qian等2013; Wang等2015)。据报道, 这种组织特异性可能是由于BIN2介导了SPCH磷酸化和MAPK级联磷酸化两条对立的信号途径(Gudesblat等2012a,b; Kim等2012)。同时, 研究人员发现*tmm*突变株系在经BR处理后, 下胚轴部分气孔被抑制的情况消失, 并出现大量气孔簇, 这表明BR的组织特异性作用可能协同TMM

共同调控气孔发育。除此之外, 早期固醇类合成途径中的酶类基因突变体*cyclopropylsterol isomerase1 (cpi1)*、*sterol 14 $\alpha$ -demethylase (cyp51A2)*、*hydra (hyd1)*和*fackel (fk)*气孔发育异常, 但未影响固醇类合成终产物和BR, 由此推测存在某些未知固醇类信号分子, 通过与含有START结构域的HD-ZIP III和IV结合, 参与调控气孔发育模式(Qian等2013)。

植物激素脱落酸(ABA)、赤霉素(GAs)和乙烯(Eth)也具有调控气孔发育的作用。脱落酸可以通过调控GC中的离子通道, 改变GC的体积, 从而关闭气孔, 实现调控气孔功能的作用(Kim等2010)。同时, 脱落酸也调控气孔发育, 影响气孔密度, 且这种调控具有种间差异。在小麦中, 外源脱落酸处理和干旱处理效果一致, 都会导致叶片气孔和铺板细胞减少; 而在紫露草中, 外源脱落酸处理会导致气孔和铺板细胞密度增加, 并使气孔指数下降(Franks和Farquhar 2001; Quarrie和Jones 1977)。脱落酸可能通过调控SPCH和MUTE的表达, 从而改变气孔的发育。赤霉素和乙烯均能促使拟南芥下胚轴的细胞分裂, 调控气孔形成(Saibo等2003)。

## 2.2 二氧化碳对气孔发育的影响

CO<sub>2</sub>在植物与大气之间的交换对于植物生长发育有着极其重要的意义, 因此, 植物在进化过程中形成了一套复杂的气孔发育调控机制, 以适应不断变化的环境。研究显示, 随着大气中CO<sub>2</sub>的浓度不断升高, 植物表现出气孔减少的适应性(Woodward 1987), 使得叶片蒸腾作用减弱, 叶面温度升高, 同时增强蒸腾效率。

拟南芥*high carbon dioxide (HIC)*基因编码3-酮酰基辅酶A合成酶, 涉及长链脂肪酸合成, 同时也调控气孔发育。*hic*突变体在环境CO<sub>2</sub>浓度增加一倍的情况下, 气孔密度升高了42%, 表明HIC是CO<sub>2</sub>影响气孔发育的负调控因子。正常情况下, 高浓度的CO<sub>2</sub>会引起成形成素(morphogen)生成, 负调控GC发育, 从而使气孔指数和气孔密度减少。HIC基因与拟南芥中编码3-酮脂酰辅酶A合成酶的基因KCSI十分相似, *hic*突变体中产生的KCS基因突变会导致GC胞外基质的渗透压变化, 从而影响高浓度CO<sub>2</sub>引起的成形成素扩散, 导致调控气孔分布模式的信号转导途径混乱, 抑制了高浓度CO<sub>2</sub>对气孔的影响(Gray等2000)。

最近, Engineer等(2014)发现碳酸酐酶基因 *carbonic anhydrase1 (CA1)* 和 *CA4* 在  $\text{CO}_2$  调控的气孔发育过程中有重要作用。当环境中  $\text{CO}_2$  浓度升高时, 野生型拟南芥中气孔减少, 与之相反, 在 *cal* 和 *ca4* 双突变体中叶片气孔增多。通过RNA转录组分析发现,  $\text{CO}_2$  浓度升高可以使 *EPF2* 表达水平在野生型中增加, 而在 *cal* 和 *ca4* 双突变体中降低, 这表明  $\text{CO}_2$  可以通过 *EPF2* 调控气孔发育。此外, 利用细胞壁蛋白质组学分析和  $\text{CO}_2$  依赖的转录组分析, 研究人员鉴定了一种新的胞外蛋白酶 CRSP ( $\text{CO}_2$  RESPONSE SECRETED PROTEASE) 参与  $\text{CO}_2$  调控的气孔发育。这是一种丝氨酸蛋白酶, 具有枯草杆菌蛋白酶样活性, 在GC、M和表皮细胞等多种植物组织中广泛表达, 能够切割 *EPF2* 前体, 从而抑制气孔发育。因此, Engineer等(2014)认为高浓度的  $\text{CO}_2$  会引起 *EPF2* 的表达上升, 经过CRSP切割之后, 负调控气孔发育, 在这个过程中, *CA1* 和 *CA4* 具有影响 *EPF2* 表达水平的作用, 但敲除 *CA1* 和 *CA4* 不完全破坏  $\text{CO}_2$  调控作用, 而是使  $\text{CO}_2$  调控作用呈相反效果。

### 2.3 光对气孔发育的影响

光在多种植物中起着调控气孔发育的重要作用。光照强度的增加可以明显提升叶片气孔指数 (Lake等2001; Thomas等2004)。光对植物气孔的调控需要光受体介导, 隐花色素1 (CRYPTOCHROME1, CRY1) 和隐花色素2 (CRY2) 均涉及光调控气孔发育过程, *cry1* 和 *cry2* 双突变体在蓝色光培养时叶面气孔指数下降; 与之相似的, 光敏色素B (phytochrome B, phyB) 和光敏色素A (phyA) 功能缺失突变株系分别以红光及远红光培养时, 也表现出气孔指数下降的表型 (Kang等2009)。这说明在光质和光强促进气孔发育的过程中需要 *CRY1*、*CYR2*、*PHYB* 和 *PHYA* 介导。组成型光形态建成因子1 (CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENESIS 1, COP1) 是一种E3泛素连接酶, 参与调控光引导气孔发育过程。在光照与黑暗培养下, *cop1* 突变体的叶片与 *yda* 突变株相似, 均呈现大量的气孔簇, 表明 *COP1* 在气孔发育过程中起到负调控作用。同时, 研究人员发现 *COP1* 与 *TMM* 在调控气孔发育通路中平行存在于 *CRY*、*phyB* 和 *phyA* 的下游, 受这三个基因的负调控作用, 并影响 *YDA* 及 *SPCH*、*MUTE*、*FAMA*

基因表达。最近, Hronkova等(2015)发现叶肉组织可以感应光照强度的变化, 调控 *STOMAGEN* 基因表达水平从而改变气孔密度。

### 3 展望

由于气孔对植物正常生长发育的重要作用, 在过去的十几年中, 气孔发育的研究一直是植物学领域一大热点。bHLH转录因子对气孔细胞分裂分化的调控、胞间信号组分对气孔分布模式的影响, 以及极性蛋白在拟分生组织细胞不对称分裂中的作用等一系列重要发现, 逐渐阐明了植物气孔发育的分子调控机制。然而, 关于这些因素整合在一起形成气孔发育调控网络的分子机理仍不清晰。例如, 没有明确的生化证据证明MAPKs如何使气孔bHLH蛋白磷酸化; MAPKs在调控多种生命活动时, 如何整合各种信号调控气孔发育仍未知; 气孔世系中, BASL蛋白极性定位及其对气孔的分子机制也有待研究。将最新科研成果与传统发育遗传学结合, 从整体角度来解析气孔发育机制可能会给我们带来一个新的更具动态性的视角。

气孔密度受到光、 $\text{CO}_2$  和植物激素等多方面的影响, 这些内外因素既可以独立作用影响气孔发育, 又可以协同发挥作用调控气孔的形成(如生长素和光)。了解多种信号分子如何整合到气孔发育通路中, 以及如何共同作用仍是未来研究的巨大挑战。由于植物存在复杂的调控网络, 正、负反馈调节和多重信号交互都会使得研究难度增大, 因此, 或许可以从植物整体的生长发育和生理状态入手, 进行各种调控因素引起的分子间交叉作用的研究。

### 参考文献

- Abrash EB, Bergmann DC (2010). Regional specification of stomatal production by the putative ligand CHALLAH. *Development*, 137 (3): 447–455
- Balcerowicz M, Ranjan A, Rupprecht L, Fiene G, Hoecker U (2014). Auxin represses stomatal development in dark-grown seedlings via Aux/IAA proteins. *Development*, 141 (16): 3165–3176
- Bergmann DC, Lukowitz W, Somerville CR (2004). Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase. *Science*, 304 (5676): 1494–1497
- Dong J, MacAlister CA, Bergmann DC (2009). BASL controls asymmetric cell division in *Arabidopsis*. *Cell*, 137 (7): 1320–1330
- Engineer CB, Ghassemian M, Anderson JC, Peck SC, Hu HH, Schroeder JI (2014). Carbonic anhydrases, *EPF2* and a novel protease

- mediate CO<sub>2</sub> control of stomatal development. *Nature*, 513 (7517): 246–250
- Franks PJ, Farquhar GD (2001). The effect of exogenous abscisic acid on stomatal development, stomatal mechanics, and leaf gas exchange in *Tradescantia virginiana*. *Plant Physiol*, 125 (2): 935–942
- Fuentes S, Canamero RC, Serna L (2012). Relationship between brassinosteroids and genes controlling stomatal production in the *Arabidopsis* hypocotyl. *Int J Dev Biol*, 56 (9): 675–680
- Geisler M, Nadeau J, Sack FD (2000). Oriented asymmetric divisions that generate the stomatal spacing pattern in *Arabidopsis* are disrupted by the *too many mouths* mutation. *Plant Cell*, 12 (11): 2075–2086
- Gray JE, Holroyd GH, van der Lee FM, Bahrami AR, Sijmons PC, Woodward FI, Schuch W, Heterington AM (2000). The *HIC* signalling pathway links CO<sub>2</sub> perception to stomatal development. *Nature*, 408 (6813): 713–716
- Gudesblat GE, Betti C, Russinova E (2012a). Brassinosteroids tailor stomatal production to different environments. *Trends Plant Sci*, 17 (12): 685–687
- Gudesblat GE, Schneider-Pizon J, Betti C, Mayerhofer J, Vanhoutte I, van Dongen W, Boeren S, Zhiponova M, de Vries S, Jonak C, et al (2012b). *SPEECHLESS* integrates brassinosteroid and stomata signalling pathways. *Nat Cell Biol*, 14 (5): 548–554
- Hara K, Kajita R, Torii KU, Bergmann DC, Kakimoto T (2007). The secretory peptide gene *EPF1* enforces the stomatal one-cell-spacing rule. *Gene Dev*, 21 (14): 1720–1725
- Heim MA, Jakoby M, Werber M, Martin C, Weisshaar B, Bailey PC (2003). The basic helix-loop-helix transcription factor family in plants: a genome-wide study of protein structure and functional diversity. *Mol Biol Evol*, 20 (5): 735–747
- Hronkova M, Wiesnerova D, Simkova M, Skupa P, Dewitte W, Vrablova M, Zazimalova E, Santrucek J (2015). Light-induced STOMAGEN-mediated stomatal development in *Arabidopsis* leaves. *J Exp Bot*, 66 (15): 4621–4630
- Hunt L, Gray JE (2009). The signaling peptide EPF2 controls asymmetric cell divisions during stomatal development. *Curr Biol*, 19 (10): 864–869
- Kanaoka MM, Pillitteri LJ, Fujii H, Yoshida Y, Bogenschutz NL, Takabayashi J, Zhu JK, Torii KU (2008). *SCREAM/ICE1* and *SCREAM2* specify three cell-state transitional steps leading to *Arabidopsis* stomatal differentiation. *Plant Cell*, 20 (7): 1775–1785
- Kang CY, Lian HL, Wang FF, Huang JR, Yang HQ (2009). Cryptochromes, phytochromes, and COP1 regulate light-controlled stomatal development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21 (9): 2624–2641
- Kim TH, Bohmer M, Hu HH, Nishimura N, Schroeder JI (2010). guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO<sub>2</sub>, and Ca<sup>2+</sup> signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 61: 561–591
- Kim TW, Michniewicz M, Bergmann DC, Wang ZY (2012). Brassinosteroid regulates stomatal development by GSK3-mediated inhibition of a MAPK pathway. *Nature*, 482 (7385): 419–422
- Lake JA, Quick WP, Beerling DJ, Woodward FI (2001). Plant development - Signals from mature to new leaves. *Nature*, 411 (6834): 154
- Lampard GR, MacAlister CA, Bergmann DC (2008). *Arabidopsis* stomatal initiation is controlled by MAPK-mediated regulation of the bHLH *SPEECHLESS*. *Science*, 322 (5904): 1113–1116
- Le J, Liu XG, Yang KZ, Chen XL, Zou JJ, Wang HZ, Wang M, Van Neste S, Morita M, Tasaka M, et al (2014). Auxin transport and activity regulate stomatal patterning and development. *Nat Commun*, 5: 3090
- Ledent V, Vervoort M (2001). The basic helix-loop-helix protein family: comparative genomics and phylogenetic analysis. *Genome Res*, 11 (5): 754–770
- Lee JS, Hnilova M, Maes M, Lin YCL, Putarjunan A, Han SK, Avila J, Torii KU (2015). Competitive binding of antagonistic peptides fine-tunes stomatal patterning. *Nature*, 522 (7557): 435–443
- Liu T, Ohashi-Ito K, Bergmann DC (2009). Orthologs of *Arabidopsis thaliana* stomatal bHLH genes and regulation of stomatal development in grasses. *Development*, 136 (13): 2265–2276
- MacAlister CA, Ohashi-Ito K, Bergmann DC (2007). Transcription factor control of asymmetric cell divisions that establish the stomatal lineage. *Nature*, 445 (7127): 537–540
- Ohashi-Ito K, Bergmann DC (2006). *Arabidopsis* FAMA controls the final proliferation/differentiation switch during stomatal development. *Plant Cell*, 18 (10): 2493–2505
- Pillitteri LJ, Peterson KM, Horst RJ, Torii KU (2011). Molecular profiling of stomatal meristemoids reveals new component of asymmetric cell division and commonalities among stem cell populations in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23 (9): 3260–3275
- Pillitteri LJ, Sloan DB, Bogenschutz NL, Torii KU (2007). Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata. *Nature*, 445 (7127): 501–505
- Pires N, Dolan L (2010). Origin and diversification of basic-helix-loop-helix proteins in plants. *Mol Biol Evol*, 27 (4): 862–874
- Qian PP, Han B, Forestier E, Hu ZH, Gao N, Lu WW, Schaller H, Li J, Hou SW (2013). Sterols are required for cell-fate commitment and maintenance of the stomatal lineage in *Arabidopsis*. *Plant J*, 74 (6): 1029–1044
- Quarrie SA, Jones HG (1977). Effects of abscisic-acid and water stress on development and morphology of wheat. *J Exp Bot*, 28: 192–203
- Reed JW (2001). Roles and activities of Aux/IAA proteins in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 6 (9): 420–425
- Saibo NJM, Vriezen WH, Beemster GTS, Van der Straeten D (2003). Growth and stomata development of *Arabidopsis* hypocotyls are controlled by gibberellins and modulated by ethylene and auxins. *Plant J*, 33 (6): 989–1000
- Sugano SS, Shimada T, Imai Y, Okawa K, Tamai A, Mori M, Hara-Nishimura I (2010). Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*. *Nature*, 463 (7278): 241–244
- Thomas PW, Woodward FI, Quick WP (2004). Systemic irradiance signalling in tobacco. *New Phytol*, 161 (1): 193–198
- Wang M, Yang KZ, Le J (2015). Organ-specific effects of brassinosteroids on stomatal production coordinate with the action of *TOO MANY MOUTHS*. *J Integr Plant Biol*, 57 (3): 247–255
- Woodward FI (1987). Stomatal numbers are sensitive to increases in

- CO<sub>2</sub> from preindustrial levels. *Nature*, 327 (6123): 617–618
- Zhang JY, He SB, Li L, Yang HQ (2014). Auxin inhibits stomatal development through MONOPTEROS repression of a mobile peptide gene *STOMAGEN* in mesophyll. *Proc Natl Acad Sci Usa*, 111 (29): E3015–E3023
- Zhang Y, Wang PC, Shao WC, Zhu JK, Dong J (2015). The BASL polarity protein controls a MAPK signaling feedback loop in asymmetric cell division. *Dev Cell*, 33 (2): 136–149
- Zhao M, Morohashi K, Hatlestad G, Grotewold E, Lloyd A (2008). The TTG1-bHLH-MYB complex controls trichome cell fate and patterning through direct targeting of regulatory loci. *Development*, 135 (11): 1991–1999

## Advances in stomatal development and its regulation factors

LU Wen-Yun, FANG Ke, BIAN Hong-Wu\*, ZHU Mu-Yuan

*Institution of Genetics, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*

**Abstract:** Stomata provide the main route for gas exchange between the plant and the environment, which directly affects transpiration and photosynthesis. Stomatal development is under the control of transcription factors regulated by many peptide ligands and transmembrane receptors. Recent researches identify that auxin is a novel regulator during stomatal development, especially in cellular differentiation. This review summarizes the latest progress of plant stomatal development mechanism, and discusses how hormones and environmental factors established signaling network to control cell-fate specification, cell division and differentiation within the stomatal cell lineage. Furthermore, we also put forward some questions to be answered in the future.

**Key words:** stomatal development; hormone; CO<sub>2</sub>

---

Received 2015-12-21 Accepted 2016-05-02

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31171615).

\*Corresponding author (E-mail: hwbian@zju.edu.cn).