

DOI: 10.13376/j.cblls/2018059

文章编号: 1004-0374(2018)05-0491-09

· 评述与综述 ·

## 气孔发育机制及其内外调控因子的研究进展

李 岩<sup>1</sup>, 徐珊珊<sup>2\*</sup>, 王根轩<sup>1</sup>

(1 浙江大学生命科学学院, 杭州 310058; 2 上海科技馆上海自然博物馆自然史研究中心, 上海 200041)

**摘 要:** 气孔是植物与外界环境进行气体与水分交换的重要通道, 调节着植物的蒸腾与光合作用。在长期进化过程中, 植物通过调节气孔行为和气孔发育机制来适应环境变化。不同植物气孔系的形成方式不尽相同, 但过程均受到气孔发育信号网络系统的调节作用。近年来关于气孔发育机制的研究层出不穷, 现重点综述各类转录因子、信号肽以及环境因子和植物激素对气孔发育的调节作用。该领域的研究为在微观层面揭示植物对环境变化的适应机制提供了科学基础。

**关键词:** 气孔; 气孔行为; 气孔发育; 信号转导; 环境调控; 植物激素

**中图分类号:** Q943.2; Q945 **文献标志码:** A

## Advance in stomatal development mechanism and its regulation of external and internal cues

LI Yan<sup>1</sup>, XU Shan-Shan<sup>2\*</sup>, WANG Gen-Xuan<sup>1</sup>

(1 College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2 Natural History Research Center, Shanghai Natural History Museum, Shanghai Science & Technology Museum, Shanghai 200041, China)

**Abstract:** Stomata play important roles in regulating gas and water exchange between plants and the environment, which determine transpiration and photosynthesis. In the process of evolution, land plants have adapted to environmental changes by regulating stomatal behavior and development. Stomatal patterning and development varies among diverse plant groups, while all the forming processes are mediated by series of signaling network. Studies on the mechanism underlying stomatal development have attracted wide academic attention in recent years. In this paper, we discuss how transcriptional factors, peptides, environmental cues and hormones affect stomatal development, so as to provide foundation of scientific research in revealing plant adaptive mechanisms to environmental changes at a molecular level.

**Key words:** stomata; stomatal behavior; stomatal development; signal transduction; environmental regulation; phytohormone

气孔着生于植物表皮, 是植物与外界环境进行水气交换的重要通道, 其孔径大小决定着植物的蒸腾和光合作用<sup>[1-2]</sup>。气孔的形态、分布、运动及发育调控在植物适应环境方面发挥着重要的作用。

在长期的进化过程中, 不同种类的植物形成了不同类型的气孔, 双子叶植物气孔一般由一对肾形的保卫细胞 (guard cell, GC) 构成, 单子叶植物气孔一般由一对哑铃型的 GC 和两侧的一对副卫细胞 (subsidiary cell, SC) 构成<sup>[3-5]</sup>。不同的植物种类气孔的分布模式也不相同, 大多数植物叶远轴下表面的

气孔密度较大, 这是因为叶远轴下表面很少暴露在高热环境中, 该模式能够减少水分的散失<sup>[6]</sup>。单双子叶植物气孔的分布模式也不相同, 如在双子叶植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中气孔似乎是随机分布的, 而在单子叶草本植物水稻 (*Oryza sativa*) 中气孔显示为一种高度有序分布模式<sup>[7]</sup>。尽管不同

收稿日期: 2017-10-11; 修回日期: 2017-12-14

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(31330010);

浙江省自然科学基金重点项目(LZ13C030001)

\*通信作者: E-mail: shanshanxu2033@163.com

种类植物的气孔分布是不同的,但其分布几乎都遵循“单细胞间隔法则(one cell spacing)”,即任何两个气孔之间至少间隔一个非气孔表皮细胞的距离<sup>[5,8]</sup>,这对于提高气孔与临近细胞离子交换效率具有重要作用<sup>[9]</sup>。

气孔运动受多种环境与生物因子的影响,是一个复杂的生理过程<sup>[10]</sup>。GC通过感应环境和生物等因子来调节自身膨压的变化,从而控制气孔的开合运动,进而调控和促进光合作用和水分散失的动态平衡<sup>[2,11]</sup>。大量研究证明,干旱、CO<sub>2</sub>浓度、光照、温度、生物胁迫(如丁香假单胞杆菌、大肠杆菌、大麦霉菌、酵母菌、小球藻、鞭毛蛋白、几丁质和酵母菌激发子等)、植物生长素、细胞分裂素、脱落酸(ABA)、乙烯、赤霉素(GAs)、水杨酸、茉莉酸,以及糖等因素可以调控气孔运动<sup>[12-18]</sup>。这些生物与非生物因子对气孔运动的调控作用主要是由GC内复杂的信号网络所介导的。研究发现,参与气孔运动信号转导系统的主要包括H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>S、NO、促分裂原活化蛋白激酶级联(mitogen-activated protein kinase, MAPKs)、细胞骨架、蛋白激酶、蛋白磷酸酶、G蛋白、CAM、K<sup>+</sup>和Ca<sup>2+</sup>等<sup>[12-24]</sup>。气孔运动信号通路中的级联反应包括G蛋白的激活、保卫细胞激酶OST1的活化、ROS和NO的合成、胞内pH值的升高、Ca<sup>2+</sup>浓度的提高和Ca<sup>2+</sup>振荡、蛋白质的磷酸化和去磷酸化以及MAPK的激活和细胞骨架的重组等<sup>[12, 25-26]</sup>。

在自然界中,短期的气孔开闭运动不能满足植物长期适应不断变化的环境,植物必须通过调控气孔发育来改变植物表皮上的气孔密度。近年来,随着对气孔发育信号通路研究的深入,越来越多的证据表明植物气孔发育受到环境因子的调节,如研究显示植物的气孔密度和气孔指数(叶片单位面积上气孔数与表皮细胞数的比值)与环境中CO<sub>2</sub>浓度呈负相关而与光强呈正相关<sup>[27]</sup>。对激素的深入研究还进一步揭示了油菜素内脂、生长素和茉莉酸对气孔发育的反向调节作用<sup>[28-30]</sup>。环境因子与激素对气孔发育的影响也存在互作,如光照和干旱度可以影响ABA的代谢,而ABA可以调节气孔开闭和影响气孔指数。研究气孔发育的信号转导通路以及环境因子和植物激素对气孔发育信号成分的整合作用,将为揭示气孔对环境气候变化的响应与反馈驱动作用提供科学依据。

## 1 气孔发育的基本过程

对拟南芥气孔发育模式的深入研究(图1)发现,气孔起源于植物表皮原细胞。拟南芥幼叶的某些原表皮细胞靠自身分裂能力转化为拟分生组织母细胞(meristemoid mother cell, MMC),然后MMC进行一次不对称分裂,产生一个小的拟分生组织细胞(meristemoid cell, MC)和一个气孔系基础细胞(stomatal lineage ground cell, SLGC)。在经历0~2次不对称分裂后,MC形成保卫母细胞(guard mother

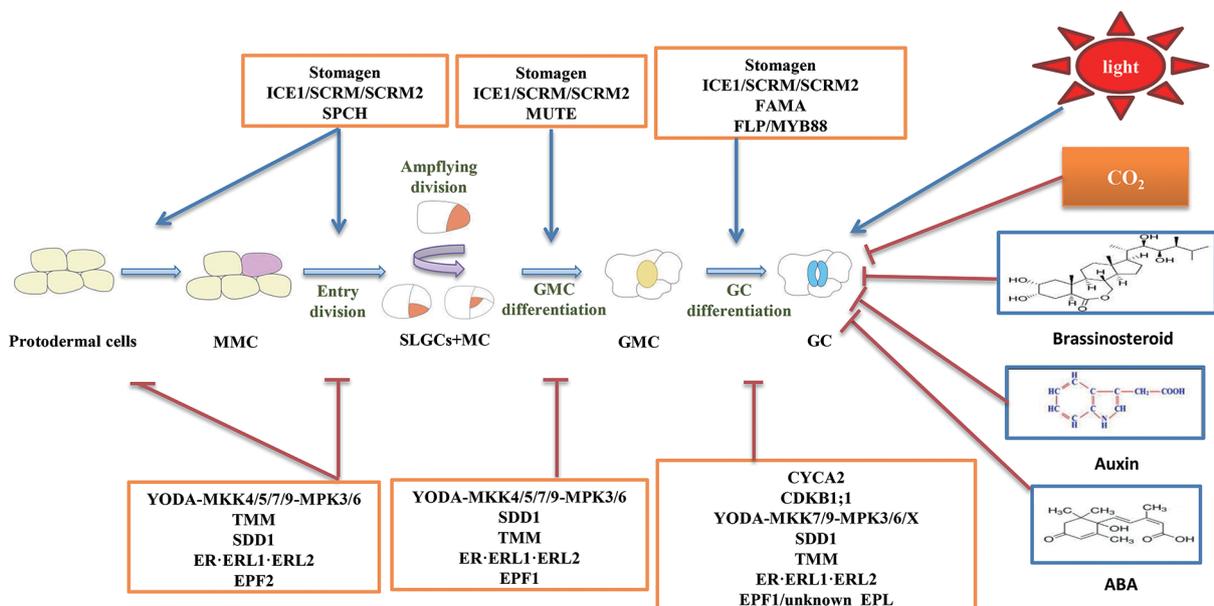


图1 双子叶植物拟南芥气孔发育过程及其内外调节因子<sup>[5,9,11,31]</sup>

cell, GMC), GMC 最后进行一次对称分裂形成两个高度特化的 GC, GC 包围的空间即为气孔<sup>[32]</sup>。一些 SLGCs 最后形成扁平细胞, 另外一些还可以分化成卫星拟分生组织细胞, 其远离已形成的气孔并最终发育成新的气孔, 确保气孔发育遵循“单细胞间隔法则”<sup>[5,31-32]</sup>。

## 2 气孔发育的信号通路

### 2.1 转录因子对气孔发育的调控

在气孔发育过程中, 碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH) 转录因子发挥着重要作用<sup>[33-34]</sup>。气孔发育的第一步就是进入气孔系, 其过程是拟分生组织母细胞经过不对称分裂产生一个有限制自我更新能力的体积较小的三角形拟分生组织细胞(meristemoid cell 1, M1) 和体积较大的毗邻细胞(neighbouring cell, NC)。在拟南芥中, bHLH 转录因子 SPECHLESS(SPCH) 调控此过程。*spch* 突变体不能够产生正常的气孔, 表明转录因子 SPCH, 正向调控原表皮细胞向 MMC 转变<sup>[35]</sup>。在 MMC 和 M 的不对称分裂过程中, 除了转录因子 SPCH, 还需要一个植物特异性的极性蛋白 BASL 参与, BASL 能与 MAPK 级联组分形成正反馈信号通路, 通过影响细胞极性调控细胞的不对称分裂过程<sup>[36]</sup>。第二步是拟分生组织细胞不对称分裂为拟分生组织细胞 2(meristemoid cell 2, M2) 和 NC, M2 再进行不对称分裂形成拟分生组织细胞 3(meristemoid cell 3, M3) 和 NC, M3 在细胞壁的强化和内部因素的共同作用下形成 GMC<sup>[37]</sup>。研究发现, 此过程受 bHLH 转录因子 MUTE 所调控。植物体内 *MUTE* 基因的突变或过表达研究发现, *mute* 突变体的原表皮细胞虽然能够从 MMC 不对称分裂形成拟分生组织, 然而与野生型 1~3 次分裂相比, 突变体中 MC 的不对称分裂次数达到 3~6 次, 而且 *mute* 突变体不能形成气孔, 其植株也表现出矮小、苍白和不育的性状。这可能是因为气孔的缺失影响了植物与外界环境的气体交换, 进而影响到植物的光合作用和蒸腾作用。与此相反, *MUTE* 过表达植株形成的气孔较野生型多, 这也进一步说明转录因子 MUTE 在气孔形成过程中具有终止不对称分裂以及促进 MC 向 GMC 转化的作用<sup>[38]</sup>。气孔形成的第三步是 GMC 进行对称分裂产生两个形状、大小完全一致的 GC, 两者围成气孔<sup>[39]</sup>。转录因子 FAMA 调控此过程, *FAMA* 的异常或过表达都影响气孔的最后形成, 说明 *FAMA* 不仅在 GMC 转化成 GC 的对称分裂中起重要作用, 而

且细化了 GC 的特性<sup>[40]</sup>。*R<sub>2</sub>R<sub>3</sub>* MYB 转录因子 FLP 和 MYB88 的缺失也会影响 GMC 到 GC 的转化<sup>[41]</sup>。目前研究发现, 细胞周期依赖性蛋白激酶 B1;1(cyclin-dependent kinase B1;1, CDKB1;1) 和周期蛋白 A2(cyclin A2, CYCA2) 是 FLP 和 MYB88 的下游靶蛋白。*cdkb1;1 cycA2;2 cycA2;3 cycA2;4* 四重突变体比 *cycA2;2 cycA2;3 cycA2;4* 三重突变体产生更多的 GC, 这表明 *CDKB1;1* 与 *CYCA2* 基因家族协同抑制 GMC 的分化<sup>[42-43]</sup>。此外, 研究还发现 SPCH、MUTE 和 FAMA 转录因子在气孔的形成过程中并非单独发挥作用, 而是通过与另外的转录因子如 ICE1/SCRM、SCRM2 等结合来调控气孔的形成<sup>[42]</sup>。表型分析已经显示 *scrm scrm2* 双突变体和 *spch* 突变体的表型相同, 且 *SCRM* 或 *SCRM2* 的缺失突变体与 *fama* 和 *mute* 突变体也有相似的表型, 而 *scrm-D* 突变体产生过多的气孔, 与 *MUTE* 过表达植株有相似的表型<sup>[42]</sup>。

### 2.2 信号肽对气孔发育的调控

气孔发育遵守“单细胞间隔法则”, 即任何两个气孔至少会被一个非气孔表皮细胞的距离所隔开。目前发现与此法则相关的控制气孔发育的蛋白有 TOO MANY MOUTHS(TMM)、ERECTA(ER)、ERECTA-LIKE 1(ERL1)、ERL2、STOMATAL DENSITY AND DISTRIBUTION 1(SDD1) 以及 YODA(YDA) 等, 它们在气孔发育过程中发挥着至关重要的作用。*TMM* 仅在气孔系表达并编码一个受体类似蛋白, 该蛋白仅能调控植物气孔发育, 缺乏任何胞内结构域将导致不能转导任何信号<sup>[32]</sup>; 但是, *TMM* 可以与 *ERECTA* 家族受体类似激酶(ER、ER1、ER2) 结合, 共同完成对气孔发育的调控<sup>[44]</sup>。*tmm* 和 *erecta* 拟南芥突变体的叶片形成成簇的气孔, 违背了“单细胞间隔法则”, 证明 *TMM* 和 *ERECTA* 对于气孔密度起到了负调控作用<sup>[45]</sup>。进一步的研究确定了几个和受体结合的调控气孔发育的肽类配体, 如对气孔发育具有负调控作用的 EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 1(EPF1)<sup>[46]</sup>、EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 2(EPF2)<sup>[47]</sup> 和 EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-LIKE 6(EPFL6)/CHALLAH(CHAL)<sup>[48]</sup>, 以及具有正调控作用的 EPL9/STOMAGEN<sup>[49]</sup>。EPF1、EPF2 和 CHAL 的受体被推定为 *ERECTA* 家族受体类似激酶。比如, *EPF1* 主要在拟分生组织和 GMC 中表达, 且可以与 *ERL1* 受体结合, *EPF1-ERL1* 的结合控制 SLGCs 不对称间隔分裂的方向和抑制 GMC 的分化, *EPF1* 缺失突变体形成成簇的气孔, 而 *EPF1* 过表达植株没有气孔形成但

形成 SLGCs<sup>[46]</sup>。此外,在 SLGCs 中,ERL1 和 TMM 也有少量积累<sup>[37,50]</sup>。最新的研究揭示拟分生组织和 SLGCs 共享 EPF1 库,SLGCs 中的 ERL1 可以识别来自临近拟分生组织细胞释放的 EPF1,这种 EPF1-ERL1 旁分泌信号确定了不对称间隔分裂的方向,同时 EPF1 的旁分泌信号也限制了拟分生组织 EPF1-ERL1 自分泌信号的抑制活性<sup>[51]</sup>。在 MMC 和早期的拟分生组织中,EPF2 基因的启动子是有活性的,且 EPF2 能够与 ER 受体结合抑制不对称分裂并抑制气孔系的形成,功能缺失突变体 *epf2* 可形成更多的气孔和非气孔细胞但无成簇的气孔,而 EPF2 基因过表达植株的表皮仅有扁平细胞没有任何气孔,且 *epf2* 突变体和 EPF2 过表达植株与 *spch* 突变体和 SPCH 过表达植株显示相似的表型<sup>[47]</sup>。与 EPF1 和 EPF2 基因不同,CHAL 基因主要在下胚轴和茎的内部组织表达而不在表皮上表达,且 CHAL 功能的缺失可以恢复 *tmm* 突变体在下胚轴和茎中无气孔的表型<sup>[48]</sup>。*tmm chal* 双突变体与 *tmm erl1* 双突变体有相似的气孔表型,暗示了 CHAL 受 ER 家族受体调节,该过程同时受 TMM 调节<sup>[48]</sup>。而产生于叶肉细胞中而在 GC 中发挥作用的 STOMAGEN (EPL9) 正调控气孔发育,研究已发现过表达 STOMAGEN 基因促进气孔簇的形成,且与 ERECTA 家族基因、TMM 和 YODA-MAPK 基因缺失突变体有相似的表型,而抑制 STOMAGEN 的转录可以降低植物表皮上气孔的密度<sup>[52]</sup>。机制学研究揭示,STOMAGEN 可能主要是通过竞争性代替 EPF2 与 ER 受体结合,抑制后者引起的下游信号组分磷酸化,从而促进气孔发育<sup>[52]</sup>。然而,STOMAGEN 的受体仍不清晰<sup>[53]</sup>。研究还发现,由 *SDD1* 基因编码的碱性蛋白酶类似蛋白酶可能也参与气孔形成的信号通路,SDD1 与 TMM 和 ERECTA 家族受体类似激酶在同一通路中发挥作用,而 EPF1 和 EPF2 独立于 SDD1 发挥作用<sup>[54]</sup>。已有研究发现,*sdd1* 拟南芥突变体进入气孔发生途径的原表皮细胞数目大量增加,产生很多拟分生组织细胞,并且 MMC 不是在 3 次不对称分裂后而是直接由 M1 或 M2 发育成气孔,导致多个气孔聚集在一起,违背了“单细胞间隔法则”<sup>[55]</sup>,说明 SDD1 在调控气孔密度过程中起到反向作用。

### 2.3 MEKK-MEK-MAPK 信号级联对气孔发育的调控

此外,大量的研究还发现,MEKK-MEK-MAPK 信号级联可以在信号肽-受体的下游和转录因子的

上游调控气孔的形成。譬如,信号级联 YDA<sup>[56]</sup>、MKK4/5 和 MPK3/6 通过抑制转录因子 SPCH 的活性实现对气孔发育的负调控<sup>[7,57]</sup>。研究者还发现另一级联信号通路 YDA-MKK7/9-MPK3/6/X 正调控气孔的发育<sup>[58]</sup>。在这些级联信号成分中,YDA 蛋白的 N 末端对酶活性有抑制作用,拟南芥 YDA 蛋白 N 末端缺失可导致植物叶片表皮上几乎没有气孔形成<sup>[59]</sup>,而 *yda* 突变体的叶片和下胚轴表皮却产生大量气孔,且气孔出现“簇生”现象,说明 YDA 蛋白是气孔发育的负调控因子<sup>[50]</sup>。还有研究表明,BASL 含有 3 个可以与 YDA 蛋白互作的 MAPK 结合域,可以提高 YDA 蛋白活性<sup>[60]</sup>。

## 3 气孔发育的环境调控

环境因子(如水分、CO<sub>2</sub>、光照、温度等)对气孔发育具有重要影响。水分是植物赖以生存的必要条件,研究证明适度的干旱能够增加植物的气孔密度并减小植物的气孔开度,而过度的干旱将导致植物的气孔密度和开度都降低<sup>[61-62]</sup>。CO<sub>2</sub> 浓度水平对气孔的行为也有影响,通过对比不同时期的植物标本发现,植物叶片上的气孔密度随 CO<sub>2</sub> 浓度升高呈下降趋势且气孔的分布也趋向均匀<sup>[63-67]</sup>,这可能是因为高浓度的 CO<sub>2</sub> 可以抑制拟分生组织的分裂,造成气孔数目的减少<sup>[68]</sup>。然而,低水平的 CO<sub>2</sub> 浓度可以增加气孔开度,而高水平促进气孔关闭,这种现象的机制尚不明确<sup>[69-70]</sup>。光照是植物进行光合作用所必需的元素,气孔在光照条件下开放,在黑暗条件下关闭<sup>[69]</sup>。随着光强的增加,气孔密度和气孔指数有逐渐上升的趋势<sup>[71-73]</sup>。不同的光质对气孔的密度也有一定的影响,蓝光照射下的气孔密度最大,红光次之,自然漫射光最低<sup>[74]</sup>。温度对气孔性状的影响还无定论,Beerling 和 Chaloner<sup>[65]</sup> 对欧洲三个地区的欧洲栎 (*Quercus robur*) 进行研究,结果显示气孔密度与温度成负相关;王秀玲等<sup>[75]</sup> 对玉米 (*Zea mays*) 进行研究发现气孔密度与叶温差呈正相关;张大鹏等<sup>[76]</sup> 却发现,随着温度的升高气孔密度没有显著变化。植物气孔密度最终受气孔发育的影响,环境因子多通过对气孔发育的影响来调控气孔密度,而环境因子如何影响气孔发育也是现在气孔领域的研究热点。

### 3.1 光照对气孔发育的调控机制

气孔密度和气孔指数随着光强的增加呈现上升的趋势<sup>[77]</sup>,说明光信号影响气孔发育,但其具体机制尚未完全清晰。已有的研究表明光敏色素受体参

与此信号通路,光敏色素 B (phytochrome B, PHYB) 是介导光信号调控气孔发育的主要光受体;光激活的 PHYB 从细胞质中转运到细胞核内,在细胞核内 PHYB 与光敏色素互作因子 (phytochrome interacting factors, PIFs) 相互作用。研究人员发现 *pif4* 突变体在强光下气孔指数下降,因此推断 PIF4 可能参与调控光介导的植物气孔形成,而 *phy Bpif4* 双突变体的研究分析进一步证实 PIF4 和 PHYB 共同调控光照条件影响下的气孔发育<sup>[78]</sup>。最近研究者还发现,LLM-结构域 B-GATA 转录因子在 PIF 转录因子的下游发挥作用,与另外一些 PIF 依赖的因子共同调控光介导的拟南芥下胚轴气孔的形成<sup>[79-80]</sup>。在蓝光培养下, *cry1 cry2* 双突变体叶面气孔指数下降,说明隐花色素 1 (cryptochrome 1, CRY1) 和隐花色素 2 (cryptochrome 2, CRY2) 具有调控气孔发育的作用<sup>[81]</sup>。*cop1* 突变体的叶片有大量气孔簇出现,违背了气孔排列的“单细胞间隔法则”,说明组成型光形态建成因子 1 (constitutive photomorphogenesis 1, COP1) 负调控气孔发育过程。研究表明, *COP1* 基因的表达受 CRY 和 PHYB 的负调控,且 COP1 蛋白能影响 *YDA*、*SPCH*、*MUTE* 和 *FAMA* 基因的表达<sup>[81]</sup>。

### 3.2 CO<sub>2</sub>对气孔发育的调控机制

CO<sub>2</sub> 浓度与气孔发育关系密切。一般认为气孔密度和气孔指数与 CO<sub>2</sub> 浓度负相关<sup>[60]</sup>,但也有研究表明气孔指数与 CO<sub>2</sub> 浓度之间没有明显关系<sup>[82]</sup>,或高 CO<sub>2</sub> 浓度可以提高气孔密度和水分利用效率,但与气孔导度没有直接关系<sup>[83]</sup>。Gray 等<sup>[64]</sup>发现 *HIGH CARBON DIOXIDE (HIC)* 基因编码的蛋白参与 CO<sub>2</sub> 调控的气孔形成的信号通路, *hic* 突变体植株在高浓度 CO<sub>2</sub> 环境中气孔密度增加。*HIC* 在 GC 中表达,并编码酮脂酰辅酶 A 合成酶,此酶参与植物细胞外基质和腊状表皮的长链脂肪酸合成,然而 *HIC* 在 CO<sub>2</sub> 调控的气孔形成中如何发挥作用仍不明晰。近年来,碳酸酐酶 1 (carbonic anhydrase 1, CA1) 和 CA4 被证明与 CO<sub>2</sub> 调控的气孔发育有关,其主要是通过影响 *EPF2* 基因的表达调控气孔发育,敲除 *CA1* 和 *CA4* 基因会使 CO<sub>2</sub> 的调控呈现反作用<sup>[84]</sup>。

## 4 气孔发育的植物激素调控

植物激素参与植物生长发育多项生理生化过程,是植物体内重要的生长调节因子。植物激素信号系统与气孔发育存在着密切的联系,目前已经发现有多种植物激素参与到气孔发育的调控过程中。如研究发现经过乙烯处理后,黄瓜 (*Cucumis*

*sativus*) 下胚轴的气孔发育能力增强<sup>[85]</sup>,而 GA 和乙烯前体 1-氨基环丙烷羧酸共同作用可反向调控拟南芥下胚轴的气孔发育<sup>[86]</sup>。很多植物激素也是胁迫响应激素,环境因子通过影响植物信号系统来影响气孔的发育过程,因此环境因子和植物激素在调节气孔发育的过程中存在着复杂的交互作用。如 ABA 可以通过调控 GC 膨压来调节气孔运动,干旱条件下 ABA 与气孔指数呈反比<sup>[87]</sup>。光信号也被证明可以影响生长素对气孔发育的调控,在黑暗条件下生长素负调控气孔生长<sup>[88]</sup>。近期研究发现,油菜素内酯、生长素和茉莉酸也在气孔发育过程中起到了调节作用<sup>[28-30]</sup>。

### 4.1 油菜素内酯对气孔发育的调控机制

油菜素内酯 (brassinosteroid, BR) 在植物的生长、发育和抗胁迫响应中发挥着重要作用。Kim 等<sup>[28]</sup>首次揭示了 BR 对气孔发育的负调控作用。研究表明在 BR 合成缺失的拟南芥突变体中,叶片气孔相对较多且分布不均。当利用外源 BR 处理植株时,叶片气孔发育受到抑制。遗传学分析显示,受体激酶介导的 BR 信号通过 GLYCOGEN SYNTHASE KINASE 3 (GSK3) 类似激酶 BR-INSENSITIVE 2 (BIN2) 介导 MAPKs 途径来负调控拟南芥气孔的发育。当 BR 水平低时, BIN2 的活性被激活, BIN2 磷酸化 YDA 并抑制 YDA 去磷酸化底物 MKK4,引起下游 MAPKs 活性的减少, SPCH 活性提高,气孔数目增多。当 BR 水平高时, BR 被受体识别激活下游信号通路并抑制 BIN2 的活性,导致 YDA 和下游 MAPKs 的激活,气孔发育受到抑制<sup>[28,89]</sup>。然而, BR 对气孔的调节作用具有组织特异性,在叶片和下胚轴细胞中的调节功能相反,研究表明这种组织特异性可能与 TOO MANY MOUTHS (TMM) 有关<sup>[90]</sup>。机制学研究揭示 BR 促进拟南芥下胚轴气孔的发育,主要通过抑制 BIN2 对 SPCH 的磷酸化,从而促进 SPCH 的活性<sup>[91]</sup>。近来,研究者结合遗传学和基因表达学发现赤霉素能够促进气孔的发育,且在受体类似膜蛋白 TMM、BR 和 TRANSPARENT TESTA GLABRA (TTG)/bHLHs/MYBs/GLABRA2 (GL2) 信号网络的上游发挥作用<sup>[80,91]</sup>。de Macos 等<sup>[92]</sup>筛选了一个新的 *spch-5* 拟南芥突变体,该突变体生长正常,叶面上形成极少数成簇的气孔,而下胚轴无任何气孔的形成。值得注意的是,利用外源 BR 可以部分恢复 *spch-5* 叶片气孔的形成,转录组分析进一步揭示 BR 通过恢复一系列的转录因子 SPCH 下游的靶基因的表达恢复气孔的形成。

## 4.2 生长素对气孔发育的调控机制

生长素是最早被发现的植物激素,调节着植物的生长和发育过程。研究表明,基因 *iaaL* 控制内源游离活性生长素合成,气孔表型数据显示 *iaaL* 基因过表达的植株气孔合成明显增加<sup>[29]</sup>。此外,参与生长素合成途径的关键酶基因 *bdl* 突变体和下游信号 *arf5* 突变体植株中气孔数目明显增多,生长素水平的降低加速了细胞由不对称分裂向对称分裂转化的过程,促进了气孔的合成,也说明了生长素对气孔发育的反向调控作用<sup>[29,93]</sup>。外源利用生长素运输抑制剂会导致气孔或气孔前体数目的增加以及大量气孔簇的出现,遗传学分析显示生长素信号转导途径介导了此过程。生长素响应因子 ARF5 可以与 *STOMAGEN* 启动子区域结合并抑制其转录,从而抑制气孔的发育<sup>[93]</sup>。此外,研究还发现,生长素可以通过调控 Auxin/IAA 蛋白介导黑暗条件下生长的幼苗子叶的气孔发育模式<sup>[88]</sup>。

## 4.3 茉莉酸对气孔发育的调控机制

茉莉酸在植物的防御反应中发挥着至关重要的作用。近年来的研究发现,茉莉酸可以负调控拟南芥子叶表皮气孔的发育<sup>[30]</sup>。在气孔表型观测实验中,经过外源茉莉酸处理后的野生型拟南芥子叶下表皮气孔的数目减少且分布紊乱。遗传性分析进一步揭示,茉莉酸通过调节气孔发育信号转导途径来影响气孔的发育。茉莉酸信号通路中的转录因子 MYC 与控制气孔发育的转录因子 SPCH 相互作用,实现对气孔发育的抑制。

## 5 其他植物的气孔发育机制

目前,气孔发育机制在双子叶植物拟南芥中有了深入研究,其他植物如小立碗藓、二穗短柄草、水稻、大麦的气孔发育机制也受到了一定的关注<sup>[5]</sup>。Caine 等<sup>[94]</sup>和 Chater 等<sup>[95]</sup>揭示小立碗藓 (*Physcomitrella patens*) 有气孔,且与拟南芥气孔有共同的祖先。研究发现, *PpSMF1* 和 *PpSCRM1* 在小立碗藓气孔形成中发挥着与拟南芥基因 *FAMA* 和 *ICE/SCRM* 相似的作用; *PpSMF1* 和 *PpSCRM1* 基因敲除后,小立碗藓不能形成气孔<sup>[94-96]</sup>。此外, Caine 等<sup>[94]</sup>还发现在拟南芥 *epf2* 突变体中过表达 *PpEPF1*, 气孔的分布格局不能恢复。研究还揭示了一些草本植物如二穗短柄草、水稻、大麦气孔的起始及形成过程中核心的转录因子。Raissig 等<sup>[97]</sup>在二穗短柄草 (*Brachypodium distachyon*) 中发现了 *SPCH*、*MUTE* 和 *ICE/SCRM* 的同源基因 *BdSPCH1*、*BdSPCH2*、*BdMUTE*、*BdICE1*

和 *BdSCRM2*。 *BdSPCH1* 和 *BdSPCH2* 在气孔发育的早期起作用, *BdSPCH2* 基因过表达促进叶毛细胞分化为气孔; *BdMUTE* 可以从 GMC 经胞间连丝进入邻近的副卫母细胞 (subsidiary mother cell, SMC), *BdMUTE* 基因缺失突变体产生没有 SC 的 GC; *BdICE1* 主要在细胞不对称分裂期间发挥作用,而 *BdSCRM2* 在 GMC 分化之后 SMCs 形成之前起作用, *BdSCRM2* 基因的缺失造成不成熟的 GC 和四细胞复合物的形成<sup>[97]</sup>。2017年,研究者在大麦 (*Hordeum vulgare*) 中发现了拟南芥 *AtEPF1/2* 的同源蛋白 *HvEPF1*, 在 *HvEPF1* 基因过表达植株的叶表皮上,很多 GMC 没有进一步形成气孔复合体;此外, *HvEPF1* 基因的高水平表达抑制了细胞的不对称分裂,导致不能形成成熟的 GMC、SMC 及亚气孔腔<sup>[98]</sup>。研究也发现,水稻 *osspch2-1* 突变体表现出降低的气孔密度及不正常的气孔模式,而 *osspch1* 突变体的表型不明显,且过表达 *OsSPCH2* 基因而不是 *OsSPCH1* 基因可以促进拟南芥扁平细胞的分裂,显示了两种 *OsSPCH* 同源蛋白的功能有差异<sup>[34]</sup>。研究还发现了水稻中拟南芥 *EPFL9* 的同源基因 *OsEPFL9a*, 当 *OsEPFL9a* 基因被敲除后,水稻叶片气孔密度显著降低<sup>[99]</sup>。

## 6 结论与展望

气孔是植物与外界进行水分和气体交换的门户,植物通过短期调节气孔运动和长期调节气孔发育来适应环境的不断变化,环境又对气孔发育机制的变迁起到了驱动作用。大量研究已经证实各类环境因子对气孔运动的调控作用,而植物可以通过一系列的信号级联反应,包括 G 蛋白的激活、保卫细胞激酶 OST1 的活化、ROS 和 NO 的合成、胞内 pH 值的变化、钙离子浓度的提高和钙离子振荡、蛋白质的磷酸化和去磷酸化、MAPK 的激活和细胞骨架的重组等,短期调控气孔的行为,响应环境的变化<sup>[12]</sup>。植物短期调控气孔的运动对植物适应环境非常重要,植物气孔发育响应环境变化的机制同样值得关注。尽管气孔发育信号通路的分子机理不断被阐述,但其影响机制如 MAPK 的特异性调控尚未完全厘清。此外,目前关于气孔发育机制的研究多集中在双子叶植物,单子叶植物气孔发育机制与双子叶植物多有区别,也应该引起相应重视。

环境因子以及植物激素也是影响气孔发育的重要因素,二者独立或协同作用调控气孔发育。目前发现 phyB、PIF4、HIC、BIN2、ARF5 和 MYC 等蛋

白参与光、CO<sub>2</sub>和植物激素对气孔的发育调控,但这些成分在信号通路中如何发挥作用尚不完全清晰,未来仍需要大量交叉研究的验证。厘清气孔发育的分子机制以及环境因子和植物激素调控气孔运动和气孔发育的分子机理,对于在微观层面揭示植物对环境变化的适应机制及预测全球气候变化具有重要意义。

### [参 考 文 献]

- [1] 郑玉龙,姜春玲,冯玉龙.植物的气孔发生.植物生理学通讯,2005,41:847-50
- [2] Belin C, Thomine S, Schroeder JI. Water balance and the regulation of stomatal movements [M]//Pareek A, Sopory SK, Bohnert HJ, et al. Abiotic stress adaptations in plants: physiological, molecular and genomic foundation. Dordrecht: Springer, 2010: 283-305
- [3] Hetherington AM, Woodward FI. The role of stomata in sensing and driving environmental change. Nature, 2003, 424: 901-8
- [4] Qu X, Peterson KM, Torii KU. Stomatal development in time: the past and the future. Curr Opin Genet Dev, 2017, 45: 1-9
- [5] 陈亮,侯岁稳.植物气孔发育的分子遗传调控.中国科学:生命科学,2017,47:798-807
- [6] Martin C, Glover BJ. Functional aspects of cell patterning in aerial epidermis. Curr Opin Plant Biol, 2007, 10: 70-82
- [7] Casson SA, Hetherington AM. Environmental regulation of stomatal development. Curr Opin Plant Biol, 2010, 13: 90-5
- [8] Casson SA, Gray JE. Influence of environmental factors on stomatal development. New Phytol, 2008, 178: 9-23
- [9] 崔国新,韩宝达,赵潇男,等.气孔发育及其调控.植物生理学报,2012,48:829-36
- [10] 马书荣,阎秀峰,陈伯林,等.遮光条件下裂叶沙参和泡沙参气孔行为的对比研究.植物研究,2000,20:63-8
- [11] Melotto M, Underwood W, Koczan J, et al. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. Cell, 2006, 126: 969-80
- [12] Acharya BR, Assmann SM. Hormone interactions in stomatal function. Plant Mol Biol, 2009, 69: 451-62
- [13] Li Y, Xu SS, Gao J, et al. *Bacillus subtilis*-regulation of stomatal movement and instantaneous water use efficiency in *Vicia faba*. Plant Growth Regul, 2016, 78: 43-55
- [14] Li Y, Xu SS, Gao J, et al. Glucose- and mannose-induced stomatal closure is mediated by ROS production, Ca<sup>2+</sup> and water channel in *Vicia faba*. Physiol Plant, 2016, 156: 252-61
- [15] Li Y, Xu SS, Gao J, et al. Chlorella induces stomatal closure via NADPH oxidase-dependent ROS production and its effects on instantaneous water use efficiency in *Vicia faba*. PLoS One, 2014, 9: e93290
- [16] Gao J, Wang N, Wang GX. *Saccharomyces cerevisiae*-induced stomatal closure mainly mediated by salicylhydroxamic acid-sensitive peroxidases in *Vicia faba*. Plant Physiol Biochem, 2013, 65: 27-31
- [17] Khokon MA, Hossain MA, Munemasa S, et al. Yeast elicitor-induced stomatal closure and peroxidase-mediated ROS production in *Arabidopsis*. Plant Cell Physiol, 2010, 51: 1915-21
- [18] Koers S, Guzel-Deger A, Marten I, et al. Barley mildew and its elicitor chitosan promote closed stomata by stimulating guard-cell S-type anion channels. Plant J, 2011, 68: 670-80
- [19] Wang XQ, Ullah H, Jones AM, et al. G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in *Arabidopsis* guard cells. Science, 2001, 292: 2070-2
- [20] Mustilli AC, Giraudat J. *Arabidopsis* OST1 protein kinase mediates the regulation of stomatal aperture by abscisic acid and acts upstream of reactive oxygen species production. Plant Cell, 2002, 14: 3089-99
- [21] Assmann SM. OPEN STOMATA1 opens the door to ABA signaling in *Arabidopsis* guard cells. Trends Plant Sci, 2003, 8: 151-3
- [22] Köhler B, Hills A, Blatt MR. Control of guard cell ion channels by hydrogen peroxide and abscisic acid indicates their action through alternate signaling pathways. Plant Physiol, 2003, 131: 385-8
- [23] Mishra G, Zhang W, Deng F, et al. A bifurcating pathway directs abscisic acid effects on stomatal closure and opening in *Arabidopsis*. Science, 2006, 312: 264-6
- [24] García-Mata C, Lamattina L. Hydrogen sulphide, a novel gasotransmitter involved in guard cell signalling. New Phytol, 2010, 188: 977-84
- [25] Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, et al. Guard cell signal transduction. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 2001, 52: 627-58
- [26] Fan LM, Zhao Z, Assmann SM. Guard cells: a dynamic signaling model. Curr Opin Plant Biol, 2004, 7: 537-46
- [27] Royer DL. Stomatal density and stomatal index as indicators of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration. Rev Palaeobot Palynol, 2001, 114: 1-28
- [28] Kim TW, Michniewicz M, Bergmann DC, et al. Brassinosteroid regulates stomatal development by GSK3-mediated inhibition of a MAPK pathway. Nature, 2012, 482: 419-22
- [29] Le J, Liu XG, Yang KZ, et al. Auxin transport and activity regulate stomatal patterning and development. Nat Commun, 2014, 5: 3090
- [30] 韩笑.茉莉酸信号途径调控拟南芥子叶下表皮气孔发育的研究[D].昆明:云南大学,2015
- [31] Pillitteri LJ, Torii KU. Mechanisms of stomatal development. Annu Rev Plant Biol, 2012, 63: 591-614
- [32] Geisler M, Nadeau J, Sack FD. Oriented asymmetric divisions that generate the stomatal spacing pattern in *Arabidopsis* are disrupted by the too many mouths mutation. Plant Cell, 2000, 12: 2075-86
- [33] Heim MA, Jakoby M, Werber M, et al. The basic helix-loop-helix transcription factor family in plants: a genome-wide study of protein structure and functional diversity. Mol Biol Evol, 2003, 20: 735-47
- [34] Liu T, Ohashi-Ito K, Bergmann DC. Orthologs of

- Arabidopsis thaliana* stomatal bHLH genes and regulation of stomatal development in grasses. *Development*, 2009, 136: 2265-76
- [35] Macalister CA, Ohashiito K, Bergmann DC. Transcription factor control of asymmetric cell divisions that establish the stomatal lineage. *Nature*, 2007, 445: 537-40
- [36] Dong J, Macalister CA, Bergmann DC. BASL controls asymmetric cell division in *Arabidopsis*. *Cell*, 2009, 137: 1320-30
- [37] Nadeau JA, Sack FD. Stomatal development: cross talk puts mouths in place. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 294-9
- [38] Pillitteri LJ, Al E. Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata. *Nature*, 2007, 445: 501-5
- [39] Serna L, Fenoll C. Stomatal development in *Arabidopsis*: how to make a functional pattern. *Trends Plant Sci*, 2000, 5: 458-60
- [40] Takazoe M, Tanaka T, Kondo K, et al. *Arabidopsis* FAMA controls the final proliferation/differentiation switch during stomatal development. *Plant Cell*, 2006, 18: 2493-505
- [41] Lai LB, Nadeau JA, Lucas J, et al. The *Arabidopsis* R2R3 MYB proteins FOUR LIPS and MYB88 restrict divisions late in the stomatal cell lineage. *Plant Cell*, 2005, 17: 2754-67
- [42] Kanaoka MM, Pillitteri LJ, Fujii H, et al. SCREAM/ICE1 and SCREAM2 specify three cell-state transitional steps leading to *Arabidopsis* stomatal differentiation. *Plant Cell*, 2008, 20: 1775-85
- [43] Vanneste S, Coppens F, Lee EK, et al. Developmental regulation of CYCA2s contributes to tissue-specific proliferation in *Arabidopsis*. *EMBO J*, 2011, 30: 3430-41
- [44] Lin G, Zhang L, Han Z, et al. A receptor-like protein acts as a specificity switch for the regulation of stomatal development. *Gene Dev*, 2017, 31: 927-38
- [45] Shpak ED, Mcabee JM, Pillitteri LJ, et al. Stomatal patterning and differentiation by synergistic interactions of receptor kinases. *Science*, 2005, 309: 290-3
- [46] Hara K, Kajita R, Torii KU, et al. The secretory peptide gene EPF1 enforces the stomatal one-cell-spacing rule. *Gene Dev*, 2007, 21: 1720-5
- [47] Hara K, Yokoo T, Kajita R, et al. Epidermal cell density is autoregulated via a secretory peptide, EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 2 in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50: 1019-31
- [48] Abrash EB, Bergmann DC. Regional specification of stomatal production by the putative ligand CHALLAH. *Development*, 2010, 137: 447-55
- [49] Kondo T, Kajita R, Miyazaki A, et al. Stomatal density is controlled by a mesophyll-derived signaling molecule. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51: 1-8
- [50] Horst RJ, Fujita H, Jin SL, et al. Molecular framework of a regulatory circuit initiating two-dimensional spatial patterning of stomatal lineage. *PLoS Genetics*, 2015, 11: e1005374
- [51] Qi X, Han S, Dang JH, et al. Autocrine regulation of stomatal differentiation potential by EPF1 and ERECTA-LIKE1 ligand-receptor signaling. *Elife*, 2017, 6: e24102
- [52] Lee JS, Hnilova M, Maes M, et al. Competitive binding of antagonistic peptides fine-tunes stomatal patterning. *Nature*, 2015, 522: 439-43
- [53] Rychel AL, Peterson KM, Torii KU. Plant twitter: ligands under 140 amino acids enforcing stomatal patterning. *J Plant Res*, 2010, 123: 275-80
- [54] Von GU, Berger D, Altmann T. The subtilisin-like serine protease SDD1 mediates cell-to-cell signaling during *Arabidopsis* stomatal development. *Plant Cell*, 2002, 14: 1527-39
- [55] Berger D, Altmann T. A subtilisin-like serine protease involved in the regulation of stomatal density and distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Gene Dev*, 2000, 14: 1119-31
- [56] Bergmann DC, Lukowitz W, Somerville CR. Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase. *Science*, 2004, 304: 1494-7
- [57] Wang H, Ngwenyama N, Liu Y, et al. Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinase in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19: 63-73
- [58] Lampard GR, Lukowitz W, Ellis BE, et al. Novel and expanded roles for MAPK signaling in *Arabidopsis* stomatal cell fate revealed by cell type-specific manipulations. *Plant Cell*, 2009, 21: 3506-17
- [59] Asai T, Tena G, Plotnikova J, et al. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature*, 2002, 415: 977-83
- [60] Zhang Y, Wang P, Shao W, et al. The BASL polarity protein controls a MAPK signaling feedback loop in asymmetric cell division. *Dev Cell*, 2015, 33: 136-49
- [61] 徐坤, 邹琦, 赵燕. 土壤水分胁迫与遮荫对生姜生长特性的影响. *应用生态学报*, 2003, 14: 1645-8
- [62] Fraser LH, Greenall A, Carlyle C, et al. Adaptive phenotypic plasticity of *Pseudoroegneria spicata*: response of stomatal density, leaf area and biomass to changes in water supply and increased temperature. *Ann Bot*, 2009, 103: 769-75
- [63] Madsen E. Effect of CO<sub>2</sub>-concentration on the morphological, histological and cytological changes in tomato plants. *Acta Agr Scand*, 1973, 23: 241-6
- [64] Woodward FI. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO<sub>2</sub> from pre-industrial levels. *Nature*, 1987, 327: 617-8
- [65] Beerling DJ, Chaloner WG. The impact of atmospheric CO<sub>2</sub> and temperature change on stomatal density: observations from *Quercus robur* Lammas leaves. *Ann Bot*, 1993, 71: 231-5
- [66] Lin J, Hu Y. Structural response of soybean leaf to elevated CO<sub>2</sub> concentration. *Acta Bot Sin*, 1996, 38: 31-4
- [67] 杨惠敏, 王根轩. 干旱和CO<sub>2</sub>浓度升高对干旱区春小麦气孔密度及分布的影响. *植物生态学报*, 2001, 25: 312-6
- [68] Gray JE, Holroyd GH, Lee FMVD, et al. The HIC signalling pathway links CO<sub>2</sub> perception to stomatal development. *Nature*, 2000, 408: 713-6
- [69] Zeiger E. The biology of stomatal guard cells. *Plant Biol*, 1983, 34: 441-74
- [70] Kolla V, Vavasseur A, Raghavendra A. Hydrogen peroxide

- production is an early event during bicarbonate induced stomatal closure in abaxial epidermis of *Arabidopsis*. *Planta*, 2007, 225: 1421-9
- [71] Oberbauer SF, Strain BR. Effects of canopy position and irradiance on the leaf physiology and morphology of *Pentaclethra macroloba* (Mimosaceae). *Am J Bot*, 1986, 73: 409-16
- [72] 蔡志全, 齐欣, 曹坤芳. 七种热带雨林树苗叶片气孔特征及其可塑性对不同光照强度的响应. *应用生态学报*, 2004, 15: 201-4
- [73] 戴凌峰. 四种灌木树种的耐荫性研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2007
- [74] 何若天, 吕成群. 若干阔叶树树冠各层叶气孔密度及光照条件对气孔密度的影响. *基因组学与应用生物学*, 1995, 14: 311-6
- [75] 王秀玲, 赵明, 王启现, 等. 玉米不同基因型气孔特征和叶温差的研究. *华北农学报*, 2004, 19: 71-4
- [76] 张大鹏. 水稻叶片气孔的研究 II. 不同生态条件下的气孔动态. *福建农林大学学报(自然版)*, 1989, 18: 302-7
- [77] Schoch PG, Zinsou C, Sibi M. Dependence of stomatal index on environmental factors during stomatal differentiation in leaves of *Vigna sinensis* L.. *J Exp Bot*, 1980, 31: 1211-6
- [78] Casson SA, Franklin KA, Gray JE, et al. Phytochrome B and *PIF4* regulate stomatal development in response to light quantity. *Curr Biol*, 2009, 19: 229-34
- [79] Klermund C, Ranftl Q L, Diener J, et al. LLM-domain B-GATA transcription factors promote stomatal development downstream of light signaling pathways in *Arabidopsis thaliana* hypocotyls. *Plant Cell*, 2016, 28: 646-60
- [80] Serna L. Crosstalk among hormones and signaling networks during stomatal development in *Arabidopsis* hypocotyls. *AIMS Mol Sci*, 2016, 3: 550-9
- [81] Kang CY, Lian HL, Wang FF, et al. Cryptochromes, phytochromes, and COP1 regulate light-controlled stomatal development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21: 2624-41
- [82] Boetsch J, Chin J, Ling M, et al. Elevated carbon dioxide affects the patterning of subsidiary cells in *Tradescantia* stomatal complexes. *J Exp Bot*, 1996, 47: 925-31
- [83] Zhou YM, Jiang XJ, Schau M, et al. Ten-year exposure to elevated CO<sub>2</sub> increases stomatal number of *Pinus koraiensis* and *P. sylvestris* needles. *Eur J Forest Res*, 2013, 132: 899-908
- [84] Engineer CB, Ghassemian M, Anderson JC, et al. Carbonic anhydrases, EPF2 and a novel protease mediate CO<sub>2</sub> control of stomatal development. *Nature*, 2014, 513: 246-50
- [85] Kazama H, Ricci JE, Herndon J, et al. Induction of immunological tolerance by apoptotic cells requires caspase-dependent oxidation of high-mobility group box-1 protein. *Immunity*, 2008, 29: 21-32
- [86] Saibo NJ, Vriezen WH, Beemster GT, et al. Growth and stomata development of *Arabidopsis* hypocotyls are controlled by gibberellins and modulated by ethylene and auxins. *Plant J*, 2003, 33: 989-1000
- [87] Kim TH, Böhmer M, Hu H, et al. Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO<sub>2</sub>, and Ca<sup>2+</sup> signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 561-91
- [88] Balcerowicz M, Ranjan A, Rupprecht L, et al. Auxin represses stomatal development in dark-grown seedlings via Aux/IAA proteins. *Development*, 2014, 141: 3165-76
- [89] Gudesblat GE, Schneider-Pizoñ J, Betti C, et al. SPEECHLESS integrates brassinosteroid and stomata signaling pathways. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 548-54
- [90] Wang M, Yang K, Le J. Organ-specific effects of brassinosteroids on stomatal production coordinate with the action of *TOO MANY MOUTHS*. *J Integr Plant Biol*, 2015, 57: 247-55
- [91] González D, Fuentes S, Serna L. Interactions among gibberellins, brassinosteroids and genes regulate stomatal development in the *Arabidopsis* hypocotyl. *Int J Dev Biol*, 2017, 61: 383-7
- [92] de Macos A, Houbaert A, Triviño M, et al. A mutation in the bHLH domain of the SPCH transcription factor uncovers a BR-dependent mechanism for stomatal development. *Plant Physiol*, 2017, 174: 823-42
- [93] Zhang JY, He SB, Li L, et al. Auxin inhibits stomatal development through MONOPTEROS repression of a mobile peptide gene *STOMAGEN* in mesophyll II. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: E3015-23
- [94] Caine RS, Chater CC, Kamisugi Y, et al. An ancestral stomatal patterning module revealed in the non-vascular land plant *Physcomitrella patens*. *Development*, 2016, 143: 3306-14
- [95] Chater CC, Caine RS, Tomek M, et al. Origin and function of stomata in the moss *Physcomitrella patens*. *Nat Plants*, 2016, 2: 16179-85
- [96] Caspar CC, Chater CC, Robert S, et al. Origins and evolution of stomatal development. *Plant Physiol*, 2017, 174: 624-38
- [97] Raissig MT, Abrash E, Bettadapur A, et al. Grasses use an alternatively wired bHLH transcription factor network to establish stomatal identity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 8326-31
- [98] Hughes J, Hepworth C, Dutton C, et al. Reducing stomatal density in barley improves drought tolerance without impacting on yield. *Plant Physiol*, 2017, 174: 776-87
- [99] Yin X, Biswal AK, Dionora J, et al. CRISPR-Cas9 and CRISPR-Cpf1 mediated targeting of a stomatal developmental gene EPFL9 in rice. *Plant Cell Rep*, 2017, 36: 745-57