

植物气孔发育的分子调控机制

陈青云, 李有志, 樊宪伟

广西大学生命科学与技术学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 南宁 530004

摘要: 气孔是陆生植物表皮上可以调节的小孔, 也是植物进行气体交换的主要通道。气孔不仅对植物的光合作用起着非常关键的作用, 而且对全球的碳循环和水循环具有重要的影响。气孔分布和形态结构在单、双子叶植物间也有较大的差异, 这些差异因植物种类不同影响着气孔发育的精细调控。本文综述了调控气孔前体细胞命运的分子网络、细胞极性分裂和表观遗传机制, 归纳了外界环境信号通过与内源信号通路互作介导气孔发育的过程, 提出了气孔发育基于多水平控制的气孔发育模型。

关键词: 气孔发育; 信号转导; 表观遗传; 细胞不对称分裂; 环境因子

Molecule mechanism for regulating stomatal development in plants

Qingyun Chen, Youzhi Li, Xianwei Fan

State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, College of Life Sciences and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China

Abstract: Stomata are small adjustable pores on the surface (epidermis) of land plants that act as a main conduit for gas exchange. They not only play an essential role in photosynthesis of green plants but also exert an important influence on the global carbon and water cycle. There are great differences between monocots and dicots in distribution and morphological structure of the stomata, affecting the species-specific regulation of stomatal development. In this review, we summarize the molecular regulation networks associated with stomatal precursor cell fate determination and the epigenetic mechanisms on regulation of polar cell division. We also outline the stomatal development processes mediated by crosstalk between exogenous and intrinsic signals, and propose a model of multilevel regulation of stomatal development.

Keywords: stomatal development; signal transduction; epigenetics; cell division and polarity; environment factor

据化石资料记载, 在 4 亿年前, 植物从水生向 个特殊气体交换装置——气孔^[1,2], 它由植物叶片表皮上两个相邻的保卫细胞(guard cells, GCs)及中间

收稿日期: 2016-09-05; 修回日期: 2017-01-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31160287)和广西自然科学基金项目(编号: 2011GXNSFB018052)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31160287) and the Natural Science Foundation of Guangxi Province (No. 2011GXNSFB018052)]

作者简介: 陈青云, 硕士, 专业方向: 植物气孔发育。E-mail: chenqingyun01@163.com

通讯作者: 樊宪伟, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 植物气孔发育和逆境生理分子机制。E-mail: fanxw@gxu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.16-306

网络出版时间: 2017/2/23 18:00:48

URI: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170223.1800.002.html>

的孔隙构成,是植物进行气体交换的主要通道。气孔不仅对植物光合作用起着非常关键的作用,而且对全球的碳循环和水循环具有重要的影响。在长期进化过程中,植物气孔为了能达到既与邻近细胞进行离子交换,又能提高气孔效率(CO_2 吸收与光合作用能力之间的最佳比率),降低不必要的蒸腾作用,形成了植物特有的气孔空间分布模式:严格遵循“一个细胞间距(one-cell spacing rule)”的原则,即两气孔间至少间隔有一个表皮细胞^[3]。这一规则与拟分生组织母细胞的极性分裂密切相关,因为极性分裂能够确保新形成的气孔前体在远离已有气孔或气孔前体的一端形成,这是维持气孔空间分布模式的重要机制^[4]。植物在发育早期通过调节气孔指数/密度以及后期调节气孔开度来维持植物光合作用和水分散失的平衡^[3],其调控过程受植物固有的遗传途径和环境信号的共同影响。由于气孔发育过程涉及细胞命运的获得、细胞极性分裂、细胞间通讯以及对内源信号和环境因子变化的响应,因而气孔已成为研究植物诸多发育过程的理想模型之一。

在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,已证实5种bHLH(basic helix-loop-helix)转录因子参与调控气孔前体细胞命运的转换(图1)。其中SPEECHLESS(SPCH)、MUTE和FAMA3种转录因子分别参与气孔拟分生母细胞(meristemoid mother cells, MMCs)和拟分生细胞(meristemoid, M)的起始与扩增、保卫母细胞(guard mother cells, GMCs)和GCs的分化^[5-8];另两种转录因子SCREAM(SCRM)和SCRM2通过与SPCH、MUTE和FAMA转录因子直接相互作用调控气孔的发育^[9]。而RNA聚合酶II的第三大亚基NRPB3又通过与转录因子FAMA和SCRM的互作,将气孔发育信号通路中细胞中关键的转录装置RNA聚合酶II连接起来调控气孔的分化^[10]。植物气孔发育过程受植物固有的遗传通路和细胞间通讯调控。研究证明,这些信号通路中以分泌型的多肽表皮模式因子家族(epidermal patterning factor-like family, EPFL家族)作为信号转导过程中的配体^[11, 12],而以类受体膜蛋白TMM(too many mouths)和ER家族(ERECTA family, ERf)类受体激酶为受体接受胞外信号^[13, 14],再通过MAPK(mitogen-activated protein kinase)级联信号转导途径,调节SPCH的活性,从

而调控气孔发育的起始和扩增分裂^[15, 16]。在这些信号分子中,大多数对气孔发育起负调控作用,而STOMAGEN却在气孔发育过程中发挥正调控作用(图1)。FAMA不仅在GMCs分化过程中发挥重要作用,而且它可以通过与RBR(retinoblastoma-related)结合形成FAMA-RBR复合体,进而招募PRC2(polycomb repressive complex 2)通过甲基化修饰其他气孔前体基因的启动子,抑制其表达,最终维系GCs长久的终末分化状态,这一发现为研究植物发育提供了新的思路^[17, 18]。此外,环境因子和激素将其信号整合到气孔发育遗传途径中来精密调控气孔发育,揭示其分子机制有助于人们理解植物适应环境变化和抗逆的机制。

禾本科植物气孔在空间分布及形态结构上均与拟南芥存在差异。在结构上,禾本科植物的气孔由1对哑铃状的GCs、与GCs相伴随的一对副卫细胞(subsidiary cell, SC)及中间的孔隙组成,其分布则按照平行于叶脉的方向排列。禾本科植物气孔的发育分成5个阶段(图2)^[19, 20]。在分裂的第一阶段,决定能够形成气孔的细胞系(stomatal cell files),存在于叶基部蓝色部分;第二阶段,这些细胞系中的细胞再经历不对称性分裂产生GMCs,通常是较小的细胞;第三阶段,邻近新特化的GMCs的细胞——1对副卫母细胞(subsidiary mother cell, SMCs),分别进行1次不对称性分裂,产生1对SCs;第四阶段, GMC对称性分裂形成两个盒子型(box-shaped)的GCs;第五阶段,GCs经过延伸生长和形态变化最终形成1对哑铃型(dumbbell-shaped)细胞,且在它们之间形成了1个中心小孔。由此可见,单、双子叶植物间气孔图式发育过程、构成和分布上的差异暗示其发育机制可能存在不同。揭示禾本科作物的气孔发育机制,是对植物气孔发育模式的补充,也能进一步从进化的角度深入理解植物与环境的互作对气孔发育的影响,最终为通过调控气孔性状培育高光效的作物奠定理论基础。

1 植物内源信号调控气孔发育的分子机制

1.1 气孔发育的起始

真叶是由组织层次已经建立的茎尖分生组织发育而成,其中L1层发育为叶表皮,而L2和L3分别

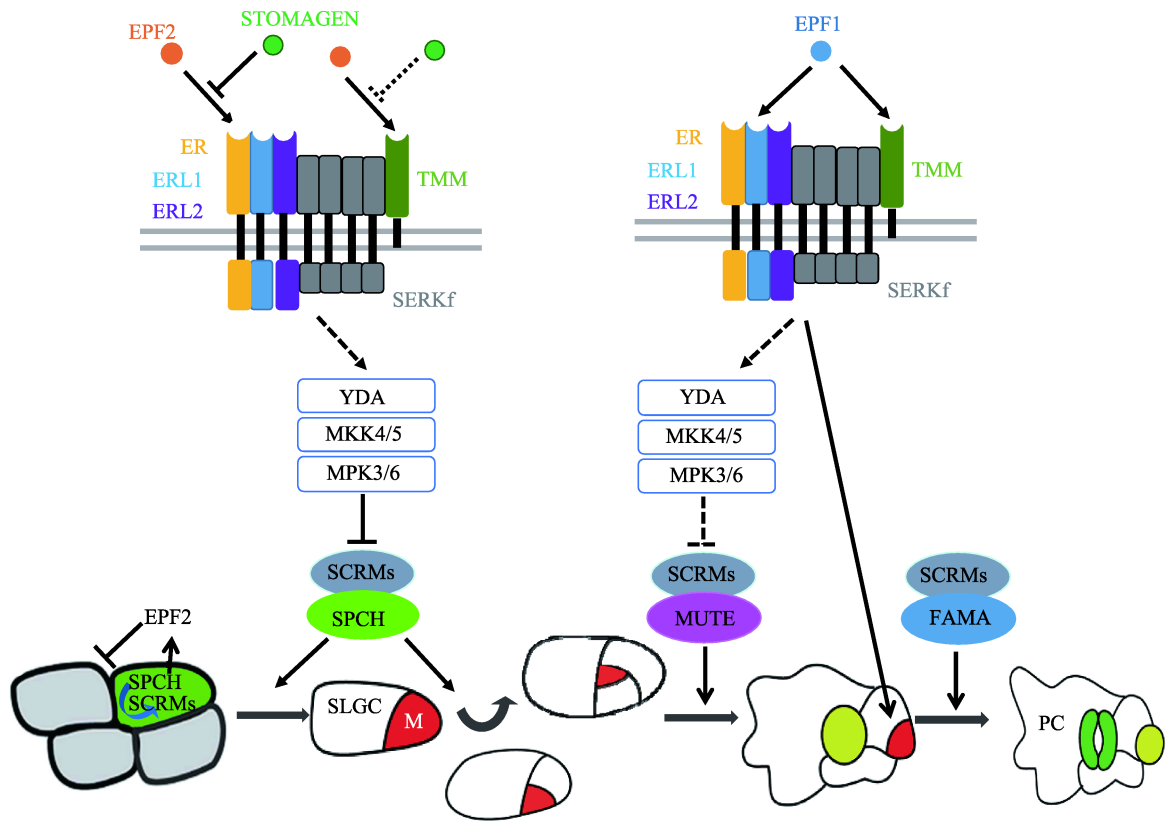


图 1 植物内源信号调控气孔发育的分子机制^[3, 24, 46]

Fig. 1 Molecule mechanism of regulating stomatal development by endogenous signal

叶片发育早期, SPCH 和 SCRM 组成的正反馈调节过程, 使一部分原表皮细胞进入气孔发育途径, 分化为 MMC (绿色), 随后 MMC 进行一次不对称分裂, 形成一个小三角形的拟分生细胞 (M, 红色) 和一个大的姊妹细胞 (SLGC), M 在进一步的分化之前可以进行 1~3 次扩增分裂。MMC 及 M 中高水平的 SPCH-SCRM 促进分泌型信号肽 EPF2 的表达, 临近细胞膜上的 ER 及 TMM 受体感知 EPF2, 通过 MAPK 级联信号途径磷酸化 SPCH 及 SCRM 蛋白, 导致其降解, 进而阻止细胞进入气孔发育命运。STOMAGEN 作为 EPF2 的竞争抑制剂, 解除 EPF2 对气孔发育的抑制作用。MUTE-SCRM 复合体负责调节 M 到保卫母细胞 (GMCs, 黄色) 的分化, EPF1 可能通过 ERL1、TMM 受体和 MAPK 级联信号途径调节这一分化过程, 同时 EPF1 也参与不对称分裂方向的调控。最后在 FAMA-SCRM 复合体的调控下, GMC 发生对称分裂形成一对保卫细胞 (GCs)。图中箭头表示促进作用, ⊥ 符号表示抑制作用, 实线表示已被实验证实的遗传关系, 虚线表示可能存在的遗传关系。

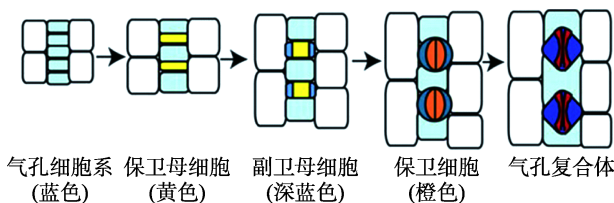


图 2 禾本科植物气孔发育^[20]

Fig. 2 Stomatal development in grasses

图中的 5 个示意图分别对应禾本科植物气孔发育的 5 个阶段。第一阶段: 决定能够形成气孔的细胞系 (stomatal cell row); 第二阶段: 这些细胞系中的细胞经历不对称性分裂产生 GMCs; 第三阶段: 邻近 GMCs 的 1 对 SCs, 分别进行 1 次不对称性分裂, 产生 1 对副卫细胞 (SCs); 第四阶段: GMC 对称性分裂形成两个 GCs; 第五阶段: 形成气孔复合体。

发育为叶肉组织和微管组织。叶表皮的发育开始于胚中, 发育过程需要几种 HD-ZIP IV (homeodomain leucine zipper class IV) 蛋白的参与, 如 *AtML1* (meristem layer 1) 和 *PDF2* (protodermal factor 2) 等^[21, 22], 若 *AtML1* 和 *PDF2* 功能缺失, 会导致植物缺乏表皮。而 *HDG2* (homeodomain glabrous 2) 是 HD-ZIP IV 蛋白家族的第 3 个新成员, 能在拟分生细胞中高度表达, 也是一个促使气孔起始和分化的关键组分。*AtML1* 或 *HDG2* 的异位超表达, 在叶肉组织中均能诱导气孔的形成^[23], 而 *MUTE* 基因的异位超表达, 却不能诱导 GCs 在该组织中形成, 这说明叶表皮身份的建立是气孔发育细胞命运获得的先决条件^[18]。

此外,在叶表皮发育过程中,部分原表皮细胞会进入气孔发育途径,分化为 MMC,并开始一次不对称性分裂(图 1)。而对 *SPCH* 启动子活性检测发现,所有的原表皮细胞 *SPCH* 启动子均有表达活性,也就是具有进一步发育成气孔的潜力^[5,24,25],表明调节 *SPCH* 蛋白含量可能是气孔发育事件的关键节点。同时,*SPCH* 也能够促进 MMCs 的不对称分裂和拟分生细胞的扩增分裂(通常为 1~3 次不对称分裂),这一过程将决定气孔的空间分布和密度^[18]。因此,内源性和外源性的气孔发育信号通过一系列的级联反应,最终聚集一点调节叶表皮上各原表皮细胞中的 *SPCH* 水平,进而调控气孔发育。

最新研究表明,一个由 *SPCH* 和 *SCRM*s 组成的复合体,在形成气孔干细胞命运过程中发挥了关键作用^[9]。在拟南芥中,*scrm scrm2* 突变体与 *spch* 突变体的表型一致,均无气孔产生,且二者的 *SCRM*s 启动子也没有活性,这主要是由 *SCRM*s 启动子上存在 *SPCH* 的靶位点造成的。正是 *SPCH*·*SCRM*s 是以异聚体的形式促进了 *SCRM*s 的表达,反过来 *SCRM*s 的表达又进一步促进 *SPCH*·*SCRM*s 复合体的积累,在这一正反馈调节模式下,使表皮原细胞积累足够量的 *SPCH*·*SCRM*s 复合体,从而获得了 MMC 命运。而在 MMCs 细胞中,高水平的 *SPCH*·*SCRM*s 又能促进 *EPF2* 和 *TMM* 的表达,且 *EPF2* 作为分泌型信号肽,又能被周围其他细胞所感知,并通过 MAPK 磷酸化介导的蛋白质降解途径降解 *SPCH*·*SCRM*s 复合体,从而调控 MMCs 周围的表皮原细胞,并限制其分化为 MMC^[24]。这样就实现了“两个气孔间至少有一个细胞间隔”的排列规律。

植物还可以通过表观遗传调控气孔发育的起始。*ROS1* (repressor of silencing 1) 是一种 DNA 糖基化酶/裂解酶,能够去除 DNA 上的 5-甲基胞嘧啶核苷酸而引发 DNA 的去甲基化过程。拟南芥 *ros1* 突变体与 *epf2* 突变体气孔表型相似,均过度产生气孔世系细胞,这主要是由 *ros1* 突变体中 *EPF2* 基因的启动子区域高度甲基化引起的,且导致了 *EPF2* 基因表达水平的显著下降。但若通过 RNA 干扰 DNA 甲基化途径则能够恢复 *EPF2* 基因的表达水平及正常的气孔表型,这表明 DNA 主动去甲基化与 RNA 介导的 DNA 甲基化的协调作用可以共同调控气孔世系细

胞的起始^[26]。富亮氨酸重复区受体类激酶(somatic embryogenesis receptor kinase (SERK) family RLKs) 家族成员 BAK1、SERK1、SERK2 和 SERK4 也参与气孔发育起始的调控,遗传学实验揭示它们在 EPF 配体的下游、MAPK 级联反应的上游发挥功能,且 *EPF2* 和 *EPF1* 分别诱导 SERKs 与 ER 和 ERL1 异聚化,并通过转磷酸作用将信号传递下去。同时, SERKs 也能以非配体依赖的方式与 TMM 相互作用。这些研究表明 ER/ERL1、SERKs 和 TMM 形成多蛋白受体复合物感受 EPF 配体信号,并通过信号转导负调控气孔的发育^[27]。而 STOMAGEN 与 *EPF2* 同属于 EPFL 家族,结构相似,且受体均为 ER。但只有 *EPF2* 能够激活下游的 MAPK 信号途径, STOMAGEN 作为 *EPF2* 的竞争抑制剂,解除 *EPF2* 对气孔发育的抑制作用(图 1)。*STOMAGEN* 在叶肉细胞中表达,光合组织可能是通过其调节表皮气孔密度,优化 CO₂ 的吸收,提高光合效率^[28,29,30]。*STOMAGEN* 和 *EPF2* 的成熟肽均包括两个主要部分: 3 对二硫键组成的支架部分和一个环状结构,将 *STOMAGEN* 和 *EPF2* 成熟肽的这两个部分相交换,构成 *STOMAGEN* 支架-*EPF2* 环和 *EPF2* 支架-STOMAGEN 环两个融合蛋白,拥有 *STOMAGEN* 环的融合蛋白能促进气孔的发育,说明 EPFL 家族信号肽的功能由其环状结构赋予^[30]。

禾本科植物气孔发育同样是从一个集群的表皮原细胞进入 MMC 命运开始,转录因子在这个过程中发挥着重要功能。研究发现,5 种 bHLH 转录因子的同源基因在二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)的气孔发育过程中发挥了关键作用。其中,*bdsph1 bdsph2* 和 *bdice1* 的突变体在气孔发育早期均不能形成小的气孔前体细胞,导致气孔密度显著降低,这表明 *BdSPCHs* 和 *BdICE1* 的功能与拟南芥中的气孔调控相似,且都是在气孔发育早期发挥功能。而 *bdscrm2* 突变体可以形成 4-细胞复合物,却不能继续分化为成熟的 GCs,说明 *BdSCRM* 参与了 GCs 的分化,这与拟南芥中 *SCRM*s 分别与 *SPCH*、*MUE* 和 *FAMA* 形成复合体参与调控气孔的发育不同^[32]。Liu 等^[20]通过遗传及表达分析证实,*FAMA* 的功能在禾草类植物中相对比较保守,而 *MUTE* 和 *SPCH* 的功能却出现了分化。也有报道指出水稻

(*Oryza sativa* L.)中 *YDA* 基因的功能是保守的^[33]。本实验室前期研究表明,气孔蛋白的同源物在单子叶作物和双子叶植物中均能促进气孔发育,但在结构和启动子响应元件上存在差异,因此两者调控气孔发育的机制可能不同^[34,35],更多的禾本科作物气孔发育起始的信息尚待揭示。

1.2 气孔发育过程中的不对称分裂

不对称性分裂(asymmetric cell division, ACD)是植物发育过程中存在的主要分裂形式之一。在表皮细胞转化为 MMCs 后,会进行第一次不对称性分裂,形成一个小的倒三角形 M 和一个较大的姊妹细胞(stomatal lineage ground cell, SLGC)。其中 M 可以进一步分化为 GMC,也可以继续进行 1~3 次不对称性扩增分裂^[18,36]。这种不对称性分裂与在细胞一端积累不对称性分裂中止蛋白 BASL(breaking of asymmetry in the stomatal lineage)有关,随着 BASL 的积累,细胞核会偏离 BASL 积累端,这种偏离过程还受到 ROP GTPases^[37]和 POLAR 蛋白^[39]的调控,最终导致细胞的不对称性分裂,因而在远离 BASL 的一端新形成了一个小的、呈三角形的 M。此外, BASL 与 MAPK 级联反应途径之间构成的正反馈环(positive feedback loop)决定气孔产生的命运,因为由 MPK3/6 介导的 BASL 磷酸化使它充当脚手架蛋白的功能,从而招募 YODA 和 MPK3/6 使其在细胞的皮层处(cell cortex)的信号加强,从而使得 MPK3/6 更易被 YODA 磷酸化,而 MPK3/6 的磷酸化进一步激活了 BASL 蛋白,形成一个细胞不对称性分裂的正反馈调控环。同样,激活的 MPK3/6 也可以使 SPCH 磷酸化,起到抑制形成气孔命运的作用^[38]。而甾醇早期合成通路中的代谢产物对姊妹细胞命运的分化发挥着重要作用。*FK(FACKEL)*是一个在甾醇合成通路中编码 C-14 还原酶的基因,其突变并未改变气孔前体细胞不对称性分裂的命运,而是对分裂后细胞的进一步分化进行干扰,导致叶表皮上出现成簇的小细胞。在甾醇合成代谢通路中,早期 3 个合成酶突变体 *cpi1*、*cyp51A2* 和 *hyd1* 与 *fk* 突变体一样具有相似的气孔表型,表明甾醇早期合成通路中的代谢产物对于气孔发育是必需的^[40]。配体 *EPF1* 主要在 MMCs 中表达,与受体 *ERECTA-LIKE1* 结合

后,在气孔的扩增分裂过程中发挥着重要的作用。研究发现,在拟南芥中过表达 *EPF1*,拟分生细胞不能分化为保卫母细胞。而 *epf1* 突变体中的气孔成簇分布,违背了“一个细胞间距”的原则,这说明 *EPF1* 参与了不对称分裂方向的调控^[11,12]。

禾本科植物 SMC 的不对称分裂是产生 SC 的基础,这是由来自 GMC 产生的外源信号引起的细胞极性分裂决定的^[41]。PAN1 (pangloss 1)和 PAN2 是 SMC 和 GMC 之间的受体蛋白,它们的存在促进了 SMC 的极化作用,且在气孔发育过程中,二者具有较好的协同作用^[41]。而 I 型的 ROP GTPases 可以和 PAN1 发生相互作用,但在 *pan1* 突变体中 ROP 蛋白的极化定位效应减弱,表明 ROP 是 PAN1 下游的信号分子^[42]。但 ROP 与 PAN1 和 PAN2 一样,定位于 SMC 和 GMC 相连部位的细胞膜上。最新研究表明,在 SMC 发育早期,SCAR/WAVE 复合体感受到 GMC 发出的信号后,就在 SMC 和 GMC 的接触处定位和积累,随后 PAN2 与假定配体结合诱导 PAN1 向 GMC 的方向极化,而 PAN1 与 ROP 的相互作用进一步导致了 ROP 的极化和激活,激活的 ROP 和 SCAR 复合体发生相互作用,又导致了 ARP2/3 被激活,最终 ARP2/3 活性在 SMC 和 GMC 之间诱导形成了一层浓密的激动蛋白补丁(actin patch),它牵引 SMC 细胞核朝向 GMC 方向移动,引起细胞的不对称性分裂^[43]。但在此调控通路中,胞外诱导细胞极性的信号分子 PAN1 和 PAN2 的配体以及 SCAR/WAVE 复合体的定位信号依然未知,对此类定位信号的认知将会更好地理解细胞的极性建立及单子叶植物气孔发育调控的分子机制。

1.3 保卫细胞终末分化状态的获得与维持

MUTE 是 MMCs 命运转换的关键分子开关^[5,25],其突变(*mute*)将导致 MMCs 的过度不对称性分裂,但不能继续分化形成 GMCs。一旦气孔前体细胞获得 GMC 命运,也就失去了气孔干细胞的能力。随后 GMC 会在 *FAMA* 基因的调控下,经过一次对称性分裂,最终分化为 1 对 GCs,这种终末分化状态的获得和维持是气孔执行生理功能的基础。而在 *fama* 突变体中,不能形成完整的气孔,且 GMCs 会持续对称性分裂,这表明 *FAMA* 在气孔的发育过程

中扮演两个截然不同的角色:(1)*FAMA* 是激活 GCs 分化的必需基因;(2)在 GMCs 细胞命运结束时,保证 GMC 只对称性分裂一次,即终止典型的分裂^[6]。*FAMA* 与 *SPCH* 和 *MUTE* 在结构上不同,它拥有一个典型的 Rb 结合位点——LxCxE 结构域。因此,*FAMA* 能够与拟南芥的 Rb 蛋白 RBR 发生相互作用。如果突变 *FAMA* 的 Rb 结合位点或者在其 C'端融合 YFP 以掩蔽 C'端结构,主动打破 *FAMA*-RBR 之间的相互作用,将会在已有的 GC 里出现新的 GCs,被称为 SIS (stoma-in-stoma)表型(图 3)。而通过 RNAi 下调 RBR 的表达,也会出现 SIS 表型^[17]。在 SIS 保卫细胞中没有检测到 GCs 特异性标记 *KAT1* 基因的表达,但却检测到 *SPCH*、*TMM*、*MUTE*、*EPFs* 等与气孔前体细胞发育相关基因的表达,这表明成熟的 GCs 具有进一步分化的潜能。进一步研究发现,与野生型相比,SIS 保卫细胞 *SPCH* 和 *MUTE* 基因启动子上组蛋白 H3 第 27 位氨基酸的三甲基化修饰(H3K27me3)水平明显较低,而 H3K27me3 的甲基转移酶 PRC2 复合体 *CLF* (*CURLY LEAF*)的异位过表达则能够恢复高水平的 H3K27me3,抑制 SIS 表型^[17]。*FLP* (*FOUR LIPS*)编码另外一个转录因子 R2R3 Myb,它与 *FAMA* 在功能上有一定程度的冗余,都能够与 RBR 结合,功能缺失也会导致 SIS 表型^[44,45]。这些证据表明:*FAMA*、*FLP*/*MYB88* 可以通过与 RBR

蛋白相互作用,招募 PRC2 复合体,进而甲基化修饰气孔前体发育相关基因的启动子,抑制基因表达,实现 GCs 终末分化状态的维持(图 3)^[18,36]。

2 气孔发育过程中外源环境信号与内源发育信号的整合

气孔密度和分布对气体交换发挥着重要作用,改善气孔密度有利于植物的营养生长和提高作物产量。气孔发育过程不仅受内源激素的调控,而且还受环境信号、生物胁迫与非生物胁迫等因素的影响(图 4)。如何将多个信号通路整合到核心的气孔发育分化程序及相关的信号转导通路中成为目前气孔发育研究的热点^[46]。

2.1 激素对气孔发育的调节

目前已发现多种植物激素(油菜素内酯 BR、脱落酸 ABA 及生长素)参与气孔发育的调节^[47~49]。虽然它们调控气孔发育的分子机制不尽相同,但基本模式均是通过各种激素的代谢途径与气孔发育基本遗传调控信号通路的交互作用来实现的(图 3)。例如,在 BR 合成缺陷的突变体中,气孔密度增加且成簇,而用 BR 处理发育中的叶片,气孔密度降低,表明 BR 起抑制气孔发育的作用。体内、外磷酸化实验分析表明:BR 通过 BIN2 (BR-insensitive 2)激酶激活

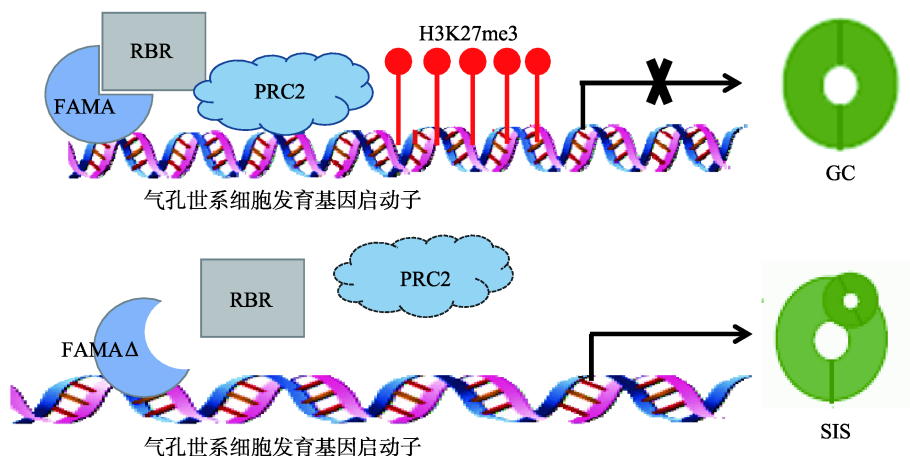


图 3 维持保卫细胞终末分化状态的表现遗传学模型^[17,46]

Fig. 3 A model for guard cell maintenance by epigenetic mechanisms

保卫细胞(GCs)中,*FAMA* 结合气孔前体细胞发育相关基因的启动子,并招募 RBR 蛋白,形成的 *FAMA*-RBR 复合体与 PRC2 复合体相互作用,导致基因启动子区域被 H3K27me3 修饰,基因表达被抑制,GCs 终末分化状态得以维持。当 *FAMA* 的 Rb 结合位点突变后(*FAMA*^Δ),不再招募 PRC2 蛋白,气孔前体细胞发育相关基因的启动子不再被 H3K27me3 修饰,能够持续表达,因此 GCs 重启气孔发育程序,导致 SIS(stoma-in-stoma)表型。

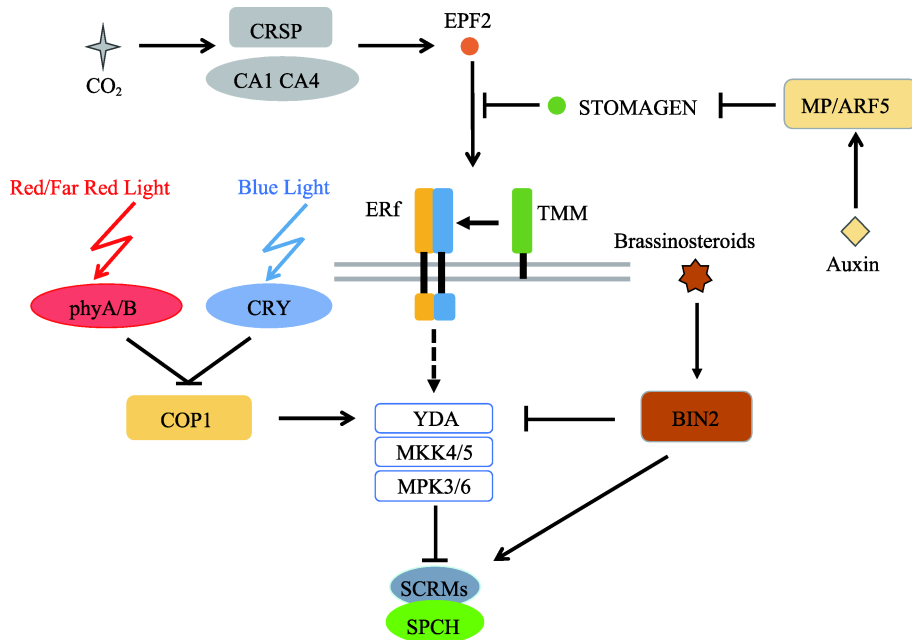


图 4 环境因子和激素信号参与气孔发育调控

Fig. 4 Environmental and hormonal signaling involved in stomatal development

环境因子和激素通过整合其信号到气孔发育遗传途径中来精密调控气孔的发育。图中箭头表示促进作用，⊥符号表示抑制作用，实线表示已被实验证实的遗传关系，虚线表示可能存在的遗传关系。

YODA 的活性以及磷酸化修饰 SPCH，促进其降解来抑制气孔的发育^[47]。之前的研究也证实，植物激素 BR 首先结合到膜受体激酶 BRI1 (brassinosteroid-insensitive 1) 的胞外结构域上，将胞外信号转化为胞内信号，然后再通过包括 BIN2 在内的一系列激酶调节 BZR1 (brassinazole resistant 1) 家族转录因子的活性，最后实现植物激素对植物生长发育的调节^[50,51]。在植物中，生长素与 TIR1/AFBs 结合，释放与 AUX/IAAs (AUXIN/indole-3-acetic acid) 复合体结合的生长素响应因子 (auxin response factors, ARFs)，游离的 ARFs 能够与生长素响应基因的启动子结合调控基因的表达^[52]。而对气孔发育的调控也是如此，生长素与受体结合后，从复合体上释放出生长素响应因子 ARF5/MONOPTEROS，它能够直接与 *STOMAGEN* 启动子上存在的生长素响应元件结合，通过抑制 *STOMAGEN* 的表达调控气孔的发育^[49,53]。ABA 可以诱导气孔的关闭，参与气孔运动的调节^[54,55]；在拟南芥中，它还具有限制气孔发育的起始，抑制气孔数目增加的作用^[48]。由此可见，激素对气孔运动和发育的影响是多方面的。随着研究的深入，必将推动人们全面理解激素对气孔发育调节的作用，

拓宽人们对于激素在植物生理调节中的认识。

2.2 环境因子调控气孔发育的分子机制

植物叶表皮中的气孔密度和分布不仅受植物内在发育程序的调节，而且外界环境因子对气孔发育具有重要的影响。植物因所处环境的不同将会形成与之相适应的气孔密度和分布模式，以维持 CO_2 的吸收与水分散失之间的平衡，使植物处于最佳生长状态。现已证实环境中的 CO_2 浓度、水分胁迫、光质、光周期及光照强度均能够通过调控气孔的发育影响气孔的密度及分布。

从长期气候变化来看，大气中 CO_2 浓度的降低导致被子植物的气孔密度提高，从而有利于较好的气孔导度，维持较高的光合速率。短期内 CO_2 浓度的提高，气孔密度在不同植物之间表现出一系列的反应，包括降低、升高和无变化^[56]。大多数植物叶片上的气孔密度及气孔指数随大气中 CO_2 浓度的升高而降低^[57]。但在拟南芥中，编码 3-酮酰基辅酶 A 合成酶基因 *HIC* (high carbon dioxide) 的功能缺失突变体 *hic*，在高 CO_2 浓度环境中气孔指数不仅没有降低，反而提高了 42%，这表明 *HIC* 是一个受 CO_2 浓

度变化介导气孔发育的负调控因子^[57]。β-碳酸酐酶也参与了 CO₂ 浓度对气孔发育的调控, 其双突变体 *calca4* 出现了与 *hic* 缺失突变体相似的表型。有趣的是, *epf2* 突变体在不同 CO₂ 浓度下的表型与 *cal ca4* 突变体的气孔表型一致。转录组数据分析发现, 在野生型拟南芥中, *EPF2* 表达水平随环境中二氧化碳浓度的升高而增强, 而在 *cal ca4* 突变体中 *EPF2* 表达水平降低; 蛋白质组学分析也证实存在一个新的受 CO₂ 诱导的胞外蛋白酶 CRSP (CO₂ response secreted protease), 能够切割 EPF2 前体, 使之成为具有活性的成熟肽, 抑制气孔的发育^[58]。这些证据表明, CO₂ 浓度调控气孔发育的机制主要包括可转运信号分子在植物成熟组织与发育中的组织之间的信号转导和在发育组织中转录水平与转录后水平的调控, 暗示 CO₂ 浓度对气孔发育的调控是一个多途径、多层次的精确调控模式。

气孔发育与植物生长一样, 受到光照强度、光波长及光周期的调控。在拟南芥中, PIF4 (phytochrome-interacting factor 4) 作为转录因子与红/远红光受体光敏色素 B (phytochrome B, phyB) 结合介导光信号转导。在高光照条件下培养的 *phyB*、*PIF4* 和 *PIF4 phyB* 拟南芥突变体, 叶片气孔指数均变小。同时发现, *PIF4* 突变体的气孔指数高于 *phyB* 突变体和 *PIF4 phyB* 双突变体, 表明 phyB 可能通过 PIF4 依赖和 PIF4 非依赖两种途径调控气孔发育^[59,60]。PIF4 非依赖途径可能是叶片中 phyB 通过诱导转录因子 *FAMA* 的上调表达, 且抑制气孔发育的受体 *TMM* 的表达来调控气孔的发育^[59]; 而 PIF4 依赖途径可能是 phyB 通过影响 PIF4 转录因子与 SPCH、MUTE、*FAMA* 三个转录因子的互作来调节气孔的发育。另外, 隐花色素 (cryptochrome, CRY) 是一个感受环境中蓝光的受体, 过表达 *CRY1* 基因的植株在蓝光照射下表现出叶表皮气孔成簇出现的现象。而 *cry1 cry2* 双突变体在蓝光照射下气孔的发育被抑制, 表明蓝光受体 CRY 是促进气孔的发育因子。在这一过程中, 组成型光形态建成因子 COP1 (constitutively photomorphogenic 1) 发挥重要的枢纽作用, *COP1* 突变体和 *YODA* 突变体气孔表型相似, 光照和黑暗条件下均表现出气孔密度增加, 气孔成簇的现象。这表明在气孔发育调控途径中 *COP1* 基因位

于 *CRY*、*phyA*、*phyB* 的下游, 与 *TMM* 基因共同调控 *YODA* 及其下游 bHLH 家族转录因子 (SPCH、MUTE、*FAMA*)。由此可知, 隐花色素-光敏色素-COP1 信号系统是和 MAPK 信号级联途径相互作用调控气孔发育^[61]。光照强度与气孔发育关系的研究表明, 随着光照强度的增强, 气孔密度和指数增加; 光照强度是通过诱导 *STOMAGEN* 的表达调控气孔发育的^[34,62]。但在单子叶植物中, 气孔发育的调控模式与拟南芥中存在一定差异性, 研究发现, 水稻 *phyB* 突变体的叶片气孔密度减少, 而 *phyA* 的突变体气孔发育却无缺陷^[63]。

3 展 望

气孔是植物适应复杂多变的陆生环境的过程中进化而来的, 是直接连接植物光合系统和大气环境之间的孔隙, 它的密度、在表皮上的空间分布、以及孔径瞬时对外界环境变化的响应都与植物的光和效率紧密相关。气孔在发育过程中还涉及信号转导、细胞命运转化、细胞不对称分裂等重要的发育调控事件。因此, 植物气孔发育的研究始终是发育生物学研究的前沿领域, 并且作为研究植物细胞不对称性发育的重要模型已取得了很多重要进展, 仍然有很多疑问亟待阐明:

(1) 在哺乳动物骨骼肌的发育过程中, 转录因子 MyoD 能够促进其 DNA 结合位点上组蛋白的乙酰化, 进而影响染色体的结构状态, 达到调控骨骼肌细胞发育的目的。而在植物中 SPCH 是调控气孔发育起始的关键转录因子, 它能与拟南芥基因组中 1/3 以上的基因互作, 其中大部分的相互作用尚不清楚^[64]。因此, 在植物中是否存在与上述骨骼肌细胞发育相类似互作机制, 仍需进一步的证据。本文中还提供气孔发育受到表观遗传的调控, 但更多的调控机制仍待阐明。

(2) 单双子叶植物气孔前体细胞极性分裂机制存在差异, 鉴定新的单双子叶植物细胞极性分子以及比较他们执行细胞极性机制的异同, 有助于人们进一步理解气孔图式发育在单、双子叶植物中存在的空间分布及形态结构上的差异。

(3) 环境因子对气孔发育的影响较为复杂, 研究条件难以精确控制。但对光强、CO₂ 浓度等对气孔

发育的调控已有了初步的认识,更为详细的调控机制有待揭示。此外,干旱影响气孔的开闭已为人们熟知,且干旱有助于气孔指数的提高也已被证实,但调控机制有待进一步的揭示。最后感受环境刺激的部位(成熟叶片)如何将感知的信号传递到幼叶,是否对幼叶的气孔发育有影响,这些问题亟待明确。

参考文献(References):

- [1] Hetherington AM, Woodward FI. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, 2003, 424(6951): 901–908. [DOI]
- [2] Edwards D, Kerp H, Hass H. Stomata in early land plants: an anatomical and ecophysiological approach. *J Exp Bot*, 1998, 49(Suppl. 1): 255–278. [DOI]
- [3] Pillitteri LJ, Dong J. Stomatal development in *Arabidopsis*. *Arabidopsis Book*, 2013, 11: e0162. [DOI]
- [4] Dong J, Bergmann DC. Stomatal patterning and development. *Curr Top Dev Biol*, 2010, 91: 267–297. [DOI]
- [5] MacAlister CA, Ohashi-Ito K, Bergmann DC. Transcription factor control of asymmetric cell divisions that establish the stomatal lineage. *Nature*, 2007, 445(7127): 537–540. [DOI]
- [6] Ohashi-Ito K, Bergmann DC. *Arabidopsis* FAMA controls the final proliferation/differentiation switch during stomatal development. *Plant Cell*, 2006, 18(10): 2493–2505. [DOI]
- [7] Pillitteri LJ, Bogenschutz NL, Torii KU. The bHLH protein, MUTE, controls differentiation of stomata and the hydathode pore in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49(6): 934–943. [DOI]
- [8] Lampard GR, Bergmann DC. A shout-out to stomatal development: How the bHLH proteins SPEECHLESS, MUTE and FAMA regulate cell division and cell fate. *Plant Signal Behav*, 2007, 2(4): 290–292. [DOI]
- [9] Kanaoka MM, Pillitteri LJ, Fujii H, Yoshida Y, Bogenschutz NL, Takabayashi J, Zhu JK, Torii KU. SCREAM/ICE1 and SCREAM2 specify three cell-state transitional steps leading to *Arabidopsis* stomatal differentiation. *Plant Cell*, 2008, 20(7): 1775–1785. [DOI]
- [10] Chen L, Guan LP, Qian PP, Xu F, Wu ZL, Wu YJ, He K, Gou XP, Li J, Hou SW. NRFB3, the third largest subunit of RNA polymerase II, is essential for stomatal patterning and differentiation in *Arabidopsis*. *Development*, 2016, 143(9): 1600–1611. [DOI]
- [11] Hara K, Kajita R, Torii KU, Bergmann DC, Kakimoto T. The secretory peptide gene *EPFL* enforces the stomatal one-cell-spacing rule. *Genes Dev*, 2007, 21(14): 1720–1725. [DOI]
- [12] Hara K, Yokoo T, Kajita R, Onishi T, Yahata S, Peterson KM, Torii KU, Kakimoto T. Epidermal cell density is autoregulated via a secretory peptide, EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 2 in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50(6): 1019–1031. [DOI]
- [13] Nadeau JA, Sack FD. Control of stomatal distribution on the *Arabidopsis* leaf surface. *Science*, 2002, 296(5573): 1697–1700. [DOI]
- [14] Shpak ED, McAbee JM, Pillitteri LJ, Torii KU. Stomatal patterning and differentiation by synergistic interactions of receptor kinases. *Science*, 2005, 309(5732): 290–293. [DOI]
- [15] Bergmann DC, Lukowitz W, Somerville CR. Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase. *Science*, 2004, 304(5676): 1494–1497. [DOI]
- [16] Wang HC, Ngwenyama N, Liu YD, Walker JC, Zhang SQ. Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(1): 63–73. [DOI]
- [17] Matos JL, Lau OS, Hachez C, Cruz-Ramírez A, Scheres B, Bergmann DC. Irreversible fate commitment in the *Arabidopsis* stomatal lineage requires a FAMA and RETINOBLASTOMA-RELATED module. *eLife*, 2014, 3: e03271. [DOI]
- [18] Simmons AR, Bergmann DC. Transcriptional control of cell fate in the stomatal lineage. *Curr Opin Plant Biol*, 2016, 29: 1–8. [DOI]
- [19] Serna L. Stomatal development in *Arabidopsis* and grasses: differences and commonalities. *Int J Dev Biol*, 2011, 55(1): 5–10. [DOI]
- [20] Liu T, Ohashi-Ito K, Bergmann DC. Orthologs of *Arabidopsis thaliana* stomatal bHLH genes and regulation of stomatal development in grasses. *Development*, 2009, 136(13): 2265–2276. [DOI]
- [21] Nakamura M, Katsumata H, Abe M, Yabe N, Komeda Y, Yamamoto KT, Takahashi T. Characterization of the class IV homeodomain-Leucine Zipper gene family in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2006, 141(4): 1363–1375. [DOI]
- [22] Abe M, Katsumata H, Komeda Y, Takahashi T. Regulation of shoot epidermal cell differentiation by a pair of homeodomain proteins in *Arabidopsis*. *Development*, 2003, 130(4): 635–643. [DOI]
- [23] Peterson KM, Shyu C, Burr CA, Horst RJ, Kanaoka MM,

- Omae M, Sato Y, Torii KU. *Arabidopsis* homeodomain-leucine zipper IV proteins promote stomatal development and ectopically induce stomata beyond the epidermis. *Development*, 2013, 140(9): 1924–1935. [DOI]
- [24] Horst RJ, Fujita H, Lee JS, Rychel AL, Garrick JM, Kawaguchi M, Peterson KM, Torii KU. Molecular framework of a regulatory circuit initiating two-dimensional spatial patterning of stomatal lineage. *PLoS Genet*, 2015, 11(7): e1005374. [DOI]
- [25] Pillitteri LJ, Sloan DB, Bogenschutz NL, Torii KU. Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata. *Nature*, 2007, 445(7127): 501–505. [DOI]
- [26] Yamamuro C, Miki D, Zheng ZM, Ma J, Wang J, Yang ZB, Dong J, Zhu JK. Overproduction of stomatal lineage cells in *Arabidopsis* mutants defective in active DNA demethylation. *Nat Commun*, 2014, 5: 4062. [DOI]
- [27] Meng XZ, Chen X, Mang H, Liu CL, Yu X, Gao XQ, Torii KU, He P, Shan LB. Differential function of *Arabidopsis* SERK family receptor-like kinases in stomatal patterning. *Curr Biol*, 2015, 25(18): 2361–2372. [DOI]
- [28] Sugano SS, Shimada T, Imai Y, Okawa K, Tamai A, Mori M, Hara-Nishimura I. Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*. *Nature*, 2010, 463(7278): 241–244. [DOI]
- [29] Kondo T, Kajita R, Miyazaki A, Hokoyama M, Nakamura-Miura T, Mizuno S, Masuda Y, Irie K, Tanaka Y, Takada S, Kakimoto T, Sakagami Y. Stomatal density is controlled by a mesophyll-derived signaling molecule. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51(1): 1–8. [DOI]
- [30] Lee JS, Hnilova M, Maes M, Lin YC, Putarjunan A, Han SK, Avila J, Torii KU. Competitive binding of antagonistic peptides fine-tunes stomatal patterning. *Nature*, 2015, 522(7557): 439–443. [DOI]
- [31] Ohki S, Takeuchi M, Mori M. The NMR structure of stomagen reveals the basis of stomatal density regulation by plant peptide hormones. *Nat Commun*, 2011, 2: 512. [DOI]
- [32] Raissig MT, Abrash E, Bettadapur A, Vogel JP, Bergmann DC. Grasses use an alternatively wired bHLH transcription factor network to establish stomatal identity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(29): 8326–8331. [DOI]
- [33] Zheng GD, Yang HQ. Characterization of rice *OsYDA* gene in regulating stomatal development. *Plant Physiol J*, 2011, 47(5): 468–474.
郑国栋, 杨洪全. 水稻 *OsYDA* 基因调控气孔发育的功能分析. *植物生理学报*, 2011, 47(5): 468–474. [DOI]
- [34] Wei W. Cloning and analysis of expression characteristics of *ZmSTOMAGEN* gene in maize[D]. Nanjing: Guangxi University, 2013.
韦葳. 玉米 *ZmSTOMAGEN* 基因的克隆及表达特性分析[学位论文]. 南宁: 广西大学, 2013. [DOI]
- [35] Fan XW, Wei W, Liao QN, Li YZ. Bioinformatics analysis of stomagen orthologs between monocotyledons and dicotyledons. *Genomics Appl Biol*, 2013, 32(6): 752–760.
樊宪伟, 韦葳, 廖权能, 李有志. 气孔蛋白同源物在单、双子叶植物中的生物信息学分析. *基因组学与应用生物学*, 2013, 32(6): 752–760. [DOI]
- [36] Torii KU. Stomatal differentiation: the beginning and the end. *Curr Opin Plant Biol*, 2015, 28: 16–22. [DOI]
- [37] Dong J, Macalister CA, Bergmann DC. BASL controls asymmetric cell division in *Arabidopsis*. *Cell*, 2009, 137(7): 1320–1330. [DOI]
- [38] Zhang Y, Wang PC, Shao WC, Zhu JK, Dong J. The BASL polarity protein controls a MAPK signaling feedback loop in asymmetric cell division. *Dev Cell*, 2015, 33(2): 136–149. [DOI]
- [39] Pillitteri LJ, Peterson KM, Horst RJ, Torii KU. Molecular profiling of stomatal meristemoids reveals new component of asymmetric cell division and commonalities among stem cell populations in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2011, 23(9): 3260–3275. [DOI]
- [40] Qian PP, Han B, Forestier E, Hu ZH, Gao N, Lu WW, Schaller H, Li J, Hou SW. Sterols are required for cell-fate commitment and maintenance of the stomatal lineage in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2013, 74(6): 1029–1044. [DOI]
- [41] Cartwright HN, Humphries JA, Smith LG. PAN1: a receptor-like protein that promotes polarization of an asymmetric cell division in maize. *Science*, 2009, 323(5914): 649–651. [DOI]
- [42] Humphries JA, Vejlupekova Z, Luo AD, Meeley RB, Sylvester AW, Fowler JE, Smith LG. ROP GTPases act with the receptor-like protein PAN1 to polarize asymmetric cell division in maize. *Plant Cell*, 2011, 23(6): 2273–2284. [DOI]
- [43] Facette MR, Park Y, Sutimantanapi D, Luo AD, Cartwright HN, Yang B, Bennett EJ, Sylvester AW, Smith LG. The SCAR/WAVE complex polarizes PAN receptors and promotes division asymmetry in maize. *Nat Plants*, 2015, 1: 14024. [DOI]
- [44] Lee E, Lucas JR, Goodrich J, Sack FD. *Arabidopsis* guard cell integrity involves the epigenetic stabilization of the *FLP* and *FAMA* transcription factor genes. *Plant J*, 2014, 78(4): 566–577. [DOI]
- [45] Lee E, Lucas JR, Sack FD. Deep functional redundancy between *FAMA* and *FOUR LIPS* in stomatal development.

- Plant J*, 2014, 78(4): 555–565. [DOI]
- [46] Han SK, Torii KU. Lineage-specific stem cells, signals and asymmetries during stomatal development. *Development*, 2016, 143(8): 1259–1270. [DOI]
- [47] Kim TW, Michniewicz M, Bergmann DC, Wang ZY. Brassinosteroid regulates stomatal development by GSK3-mediated inhibition of a MAPK pathway. *Nature*, 2012, 482(7385): 419–422. [DOI]
- [48] Tanaka Y, Nose T, Jikumaru Y, Kamiya Y. ABA inhibits entry into stomatal-lineage development in *Arabidopsis* leaves. *Plant J*, 2013, 74(3): 448–457. [DOI]
- [49] Le J, Liu XG, Yang KZ, Chen XL, Zou JJ, Wang HZ, Wang M, Vanneste S, Morita M, Tasaka M, Ding ZJ, Friml J, Beeckman T, Sack F. Auxin transport and activity regulate stomatal patterning and development. *Nat Commun*, 2014, 5: 3090. [DOI]
- [50] Kim TW, Guan SH, Sun Y, Deng ZP, Tang WQ, Shang JX, Sun Y, Burlingame AL, Wang ZY. Brassinosteroid signal transduction from cell-surface receptor kinases to nuclear transcription factors. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(10): 1254–1260. [DOI]
- [51] He JX, Gendron JM, Yang YL, Li JM, Wang ZY. The GSK3-like kinase BIN2 phosphorylates and destabilizes BZR1, a positive regulator of the brassinosteroid signaling pathway in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(15): 10185–10190. [DOI]
- [52] Calderón VLA, Lee S, De Oliveira C, Ivetac A, Brandt W, Armitage L, Sheard LB, Tan X, Parry G, Mao HB, Zheng N, Napier R, Kepinski S, Estelle M. A combinatorial TIR1/AFB-Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin. *Nat Chem Biol*, 2012, 8(5): 477–485. [DOI]
- [53] Zhang JY, He SB, Li L, Yang HQ. Auxin inhibits stomatal development through MONOPTEROS repression of a mobile peptide gene *STOMAGEN* in mesophyll. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(29): E3015–E3023. [DOI]
- [54] Cutler SR, Rodriguez PL, Finkelstein RR, Abrams SR. Abscissic acid: emergence of a core signaling network. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61(1): 651–679. [DOI]
- [55] Kim TH, Böhmer M, Hu HH, Nishimura N, Schroeder JJ. Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61(1): 561–591. [DOI]
- [56] Caldera HIU, De Costa WAJM, Woodward FI, Lake JA, Ranwala SMW. Effects of elevated carbon dioxide on stomatal characteristics and carbon isotope ratio of *Arabidopsis thaliana* ecotypes originating from an altitudinal gradient. *Physiol Plant*, 2017, 159(1): 74–92. [DOI]
- [57] Gray JE, Holroyd GH, van der Lee FM, Bahrami AR, Sijmons PC, Woodward FI, Schuch W, Hetherington AM. The *HIC* signalling pathway links CO₂ perception to stomatal development. *Nature*, 2000, 408(6813): 713–716. [DOI]
- [58] Engineer CB, Ghassemian M, Anderson JC, Peck SC, Hu HH, Schroeder JJ. Carbonic anhydrases, *EPF2* and a novel protease mediate CO₂ control of stomatal development. *Nature*, 2014, 513(7517): 246–250. [DOI]
- [59] Boccalandro HE, Rugnone ML, Moreno JE, Ploschuk EL, Serna L, Yanovsky MJ, Casal JJ. Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water-use efficiency in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2009, 150(2): 1083–1092. [DOI]
- [60] Casson SA, Franklin KA, Gray JE, Grierson CS, Whitelam GC, Hetherington AM. Phytochrome B and *PIF4* regulate stomatal development in response to light quantity. *Curr Biol*, 2009, 19(3): 229–234. [DOI]
- [61] Kang CY, Lian HL, Wang FF, Huang JR, Yang HQ. Cryptochromes, phytochromes, and COP1 regulate light-controlled stomatal development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21(9): 2624–2641. [DOI]
- [62] Hronková M, Wiesnerová D, Šimková M, Skůpa P, Dettwiler W, Vráblová M, Zažímalová E, Šantrůček J. Light-induced STOMAGEN-mediated stomatal development in *Arabidopsis* leaves. *J Exp Bot*, 2015, 66(15): 4621–4630. [DOI]
- [63] Liang WH, Zhang F, Li MM. Effects of rice phytochrome A and B mutations on stomatal development and expression of OsAQP gene. *Biotechnol Bull*, 2012, (7): 77–82. 梁卫红, 张帆, 李咪咪. 水稻光敏色素 A 和 B 的突变对气孔发育和 OsAQP 基因表达的影响. 生物技术通报, 2012, (7): 77–82. [DOI]
- [64] Lau OS, Davies KA, Chang J, Adrian J, Rowe MH, Bal-lenger CE, Bergmann DC. Direct roles of *SPEECHLESS* in the specification of stomatal self-renewing cells. *Science*, 2014, 345(6204): 1605–1609. [DOI]

(责任编辑: 张根发)