

· 特邀综述 ·

植物气孔发育机制研究进展

王宏亮, 郭思义, 王棚涛, 宋纯鹏*

河南大学生命科学学院, 河南省植物逆境生物学重点实验室, 棉花生物学国家重点实验室, 开封 475004

摘要 气孔是分布在植物表面的微孔, 是植物水分散失和与外界环境进行气体交换的门户。经过多年的研究, 气孔发育过程中重要调节因子陆续被发现。气孔复合体结构、发育起始模式以及在双子叶植物和单子叶植物中的分布都有较大差异。该文综述了双子叶植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)气孔发育过程中调控因子、细胞极性分裂以及环境因子和植物激素调控气孔发育的机制; 还阐述了单子叶植物玉米(*Zea mays*)、二穗短柄草(*Brachypodium distachyum*)和水稻(*Oryza sativa*)气孔发育方面的研究进展, 并展望了气孔发育的研究方向。

关键词 气孔发育, 细胞极性, 环境因子, 植物激素

王宏亮, 郭思义, 王棚涛, 宋纯鹏 (2018). 植物气孔发育机制研究进展. 植物学报 53, 164–174.

大约4亿年前, 植物逐渐由水生过渡到陆生(Chen et al., 2017)。通过对植物化石的研究, 人们发现这些占领陆地的先驱者其外表皮上都有一个特化的结构——气孔。陆地上生长的植物地上部水势低, 无法满足代谢需要, 为适应光合作用气体交换以及提高地上部水势的需要, 植物表皮组织中逐渐进化出通气孔, 进而形成气孔(Rudall et al., 2013)。气孔复合体由1对保卫细胞(guard cell, GC)和中间的微孔组成, 其功能主要是调控植物与外界环境之间的气体交换和水分散失。在很短的时间内, 气孔通过开放和关闭, 可使水分和CO₂在植物体内与外界环境之间达到平衡(Vatén and Bergmann, 2012)。苔藓植物是最早适应陆地生活的植物。但苔类(Liverworts)植物并没有出现真正的气孔, 气体和水分的交换是通过表皮上的通气孔实现, 其结构和形态与气孔不同。气孔最早出现在角苔类(Hornworts)植物中, 其保卫细胞发育和调控机制均与高等植物类似(Rudall et al., 2013)。在植物进化过程中, 不同植物所处的环境条件差异很大, 气孔的形态和分布也随之改变。例如, 为了促进保卫细胞更有效地开放和关闭, 有些物种在保卫细胞的外侧进化出了副卫细胞(subsidiary cell, SC); 有的物种中气孔前体细胞不对称分裂次数改变, 形成了个数不等的保卫细胞, 从而通过不同的机制调控气孔的

开放和关闭(Vatén and Bergmann, 2012)。在气孔演化过程中也形成了一些基本的规则: 基本结构都是由1对保卫细胞和中间的微孔组成; 每2个保卫细胞之间至少被1个非气孔细胞分隔开, 这种分布有利于气孔的开放和关闭; 气孔在植株上主要分布在可与外界环境接触的器官中, 比如茎、叶、花、果实和种子, 且幼年器官气孔数比成年器官少; 气孔的分布和结构因物种不同而异, 并受到环境因素的影响(Vatén and Bergmann, 2012)。

1 气孔复合体发育过程

双子叶植物气孔复合体由2个保卫细胞和中间的微孔组成; 单子叶植物气孔复合体除了2个保卫细胞和中间的微孔, 还包括2个副卫细胞。双子叶植物与单子叶植物的气孔复合体组成及形态分布都有很大差异, 对两者气孔发育机制的研究都取得了较大进展。

1.1 双子叶植物拟南芥气孔发育

近年来, 人们对于双子叶植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)气孔发育过程已经有了清晰的认识。拟南芥气孔发育从表皮原细胞(proto-dermal cell, PDC)开始, 随着植株叶片的生长发育, 逐渐向四周延伸(Vatén

收稿日期: 2017-02-28; 接受日期: 2017-05-08

基金项目: 国家自然科学基金(No.31430061)、国家转基因生物新品种培育科技重大专项(No.2014ZX0800919B)和河南省高等学校青年骨干教师基金(No.2013GGJS-032)

* 通讯作者。E-mail: songcp@henu.edu.cn

and Bergmann, 2012)。几个bHLH (basic Helix-Loop-Helix)类转录因子共同参与调控气孔系细胞命运转换和形态变化(Jones, 2004)。表皮原细胞通过1次不对称分裂形成拟分生组织母细胞(meristemoid mother cell, MMC)的过程由SPCH (*speechless*)调控(MacAlister et al., 2007); 拟分生组织母细胞通过不对称分裂形成拟分生组织细胞(meristemoid cell, MC)和气孔世系基础细胞(stomatal lineage ground cell), 紧接着在MUTE的调控下拟分生组织细胞通过1-3次不对称分裂形成保卫细胞母细胞(guard mother cell, GMC) (Pillitteri et al., 2007); 保卫细胞母细胞经过1次对称分裂形成2个成熟的保卫细胞, FAMA可终止前体细胞继续增殖并促使保卫细胞母细胞对称分裂形成保卫细胞(图1) (Ohashi-Ito and Bergmann, 2006)。SCRM和SCRM2是2个部分功能冗余的旁系同源bHLH蛋白。*ice1-2 (scrm)*中保卫细胞母细胞持续分裂, 类似*fama*的表型; *ice1-2 scrm2/+*拟分生组织分裂多次, 不能形成保卫细胞母细胞, 类似*mute*的表型; *ice1-2/scrm2*双突变体只形成表皮细胞, 没有气孔形成, 与*spch*表型一致。酵母双杂交(yeast two hybrid)技术和双分子荧光互补(bimolecular fluorescence complementation, BiFC)实验证明, SCRM和SCRM2与SPCH、MUTE和FAMA均有互作。SCRM/SCRM2与SPCH、MUTE和FAMA形成二聚体, 调控气孔细胞系细胞在这3个阶段的细胞形态转换(Kanaoka et al., 2008)。FLP (*four lips*)和MYB88是2个功能冗余的MYB家族转录因子, 包含基本的R2R3重复区域, 负调控保卫细胞母细胞分裂, 延迟其分裂形成保卫细胞(Lai et al., 2005)。保卫细胞功能成熟的过程需要SCAP1 (*stomatal car penter 1*)的参与。SCAP1属于Dof类转录因子, 只在成熟的保卫细胞中表达, 在保卫细胞母细胞及其它发育阶段均不表达。SCAP1调控很多气孔功能和形态相关基因, 如K⁺通道蛋白、MYB60转录因子和果胶甲酯酶基因等, 具体调控气孔运动和保卫细胞细胞壁结构组成的功能(Negi et al., 2013)。

拟南芥气孔发育过程也受到固有的遗传通路和细胞-细胞间信号转导调控。“one cell spacing rule”是指在气孔发育过程中, 气孔前体细胞总是向着远离已形成保卫细胞的方向分裂, 使2个气孔复合体之间至少间隔1个表皮细胞(Geisler et al., 2000)。EPF1

(epidermal patterning factor 1)和EPF2是分泌多肽, 也是气孔信号转导过程中的配体。*epf1*和*epf2*植株中“one cell spacing rule”被打破, 气孔成簇分布(Hara et al., 2007; Hunt and Gray, 2009)。EPFL6/CHALLAH (*chal*)也属于EPFs家族, 是TMM (too many mouths)的抑制子, *chal*回补了*tmm*下胚轴和茎上气孔缺失的表型(Nadeau and Sack, 2002)。CHAL仅在下胚轴和茎内部组织中表达而不在表皮中表达, 也进一步说明其在气孔形态建成过程中内部细胞与表皮间联系方面发挥重要作用(Abrash and Bergmann, 2010)。EPF9/STOMAGEN也属于多肽类配体, 是气孔发育的正调节因子。EPF9/STOMAGEN主要在幼嫩的叶肉细胞中表达而不在表皮细胞中表达, 这类配体可能是在叶肉细胞中产生并被分泌到邻近的表皮层中促使气孔分化。这个发现加深了人们对于气孔发育的理解, 且表明内部叶肉光合组织细胞间的交流对于气孔发育非常重要(Sugano et al., 2010)。

EPFs携带的气孔发育信号由类受体膜蛋白TMM (Nadeau and Sack, 2002)和ER家族受体接受并传递到胞内。ER受体家族是富亮氨酸重复类受体蛋白激酶(leucine-rich repeat receptor-like kinase, LRR-RLKs), 包括ER (*erecta*)、ERL1 (*erecta-like1*)和ERL2 (*erecta-like2*) 3个蛋白。EPF1/2所携带的气孔发育信号与ER受体家族的结合需要VST1 (*vap-related suppressors of TMM*)的辅助。VST1是膜蛋白, 能与ERL2互作, 促进ER家族蛋白将信号传递到YDA (YODA)。而且VST1介导的ER-细胞膜的信号传递方式是植物中特异存在的通路(Ho et al., 2016)。TMM作为受体调节因子参与气孔发育过程(Shpak et al., 2005)。SDD1 (*stomatal density and distribution1*)编码1个类枯草杆菌丝氨酸蛋白酶, 为气孔发育的负调节因子(Berger and Altmann, 2000)。亚细胞定位显示, SDD1定位在细胞膜中, 其过表达植株的气孔密度是*sdd1*的1/3-1/2, 其行使功能依赖于TMM的活性(Von Groll et al., 2002)。

气孔发育的负调节因子EPF1和EPF2及正调控因子EPF9/STOMAGEN都能特异结合ER、ERL1、ERL2及TMM。TMM作为调节因子结合到EPF2-ER上参与信号转导。但受体ER和TMM是如何选择不同的配体来调节气孔发育呢?最近, Lee等(2015)证实了EPF2和EPF9都能与ER及TMM结合, 但EPF9竞争

性代替EPF2与ER结合。EPF2先和ER结合, 激活下游MAPK活性, EPF9和EPF2竞争性结合阻断这一信号途径, 进而控制表皮原细胞进入气孔细胞系的数量, 保持气孔均匀分布和“one cell spacing rule”, 这对于气孔发育有重要意义。

EPFs携带的气孔发育信号由TMM和ER家族受体蛋白接受。通过一条包含MAPKKK (mitogen-activated protein kinases)、MAPKKs和MAPKs的MAPK级联通路传递到细胞核, 调控气孔的发育进程。目前认为, 至少有7种激酶参与植物气孔发育, 即YDA (MAPKKK) (Bergmann et al., 2004)、MAPKK4/5/7/9 (MAPKKs) (Wang et al., 2007; Lampard et al., 2009)和MAPK3/6 (MAPKs) (Lampard et al., 2009)。这些激酶过度的活化形式使得表皮仅由表皮细胞组成; 相反, 这些激酶功能缺失会产生高密度气孔。气孔发育的内源信号逐步传递到细胞核中, 通过SPCH、MUTE和FAMA等转录因子调节气孔系细胞从表皮原细胞到保卫细胞的分化。

1.2 单子叶植物气孔发育

单子叶植物气孔发育从叶片基部开始, 是一种从基部到叶片顶部的梯度发育模式。二穗短柄草(*Brachypodium distachyum*)属于单子叶植物, 气孔复合体由1对保卫细胞和其相邻的2个副卫细胞以及中间的微孔组成。单子叶植物气孔排布是纵向沿叶脉分布, 每2个气孔间隔1个表皮细胞; 横向每2排气孔之间至少间隔1排表皮细胞。其发育过程可分为5个时期: (1) 叶片发育早期, 先形成表皮原细胞, 并进行极性分裂; (2) 表皮原细胞进行1次不对称分裂, 形成保卫细胞母细胞; (3) 保卫细胞母细胞继续生长, 到一定程度后, 将某种信号传递给邻近的细胞, 使相邻的2个细胞先后进行1次不对称分裂形成副卫细胞母细胞 (subsidiary mother cell, SMC); (4) 2个副卫细胞母细胞早于保卫细胞母细胞分别进行1次不对称分裂形成2个副卫细胞, 随后, 保卫细胞母细胞进行1次对称分裂形成2个保卫细胞; (5) 保卫细胞和副卫细胞分化形成成熟的气孔复合体(Raissig et al., 2016)。

通过甲基磺酸乙酯 (ethyl methanesulfonate, EMS) 化学诱变和Cas9 ((CRISPR)-CRISPR-associated protein 9) 基因编辑分别获得二穗短柄草突变体*bdice1*和*bdscrm2*。*bdice1*气孔密度降低; *bdscrm2*

在原来气孔复合体位置却形成4细胞形态的气孔复合体, 不具有气孔功能, 且是致死的。*AtSPCH*在二穗短柄草中有2个同源基因*BdSPCH1*和*BdSPCH2*。*BdSPCH1-pro:BdSPCH1-YFP*在保卫细胞母细胞中表达量最高, 而在气孔早期表达量较低; *BdSPCH2pro:BdSPCH2-YFP*在气孔发育早期到保卫细胞母细胞中都有很强的表达。利用CRISPR-Cas9创制了*bdspch1*和*bdspch2*, 二者的气孔密度降低, 但*bdspch2*中气孔密度下降更明显。*BdSPCH1*和*BdSPCH2*功能冗余, 均能起始气孔发育, 但*BdSPCH2*发挥主要作用。拟南芥和二穗短柄草中SPCH、SCRM和SCRM2功能类似, 均能起始气孔发育(Raissig et al., 2016)。最新研究发现, 二穗短柄草中的*BdMUTE*是拟南芥*MUTE*的同源基因, 调控保卫细胞母细胞的发育。但与*MUTE*的功能不同, *BdMUTE*先在保卫细胞母细胞中表达, 通过细胞-细胞的穿梭运动, *BdMUTE*从保卫细胞母细胞进入到两边副卫细胞母细胞中并调控2个副卫细胞的形成(图2) (Raissig et al., 2017)。

玉米(*Zea mays*)也属于单子叶植物, 气孔突变体*pan1* (*pangloss1*)和*pan2*中约40%气孔的副卫细胞发育异常。玉米*PAN1/2*编码富亮氨酸重复类受体蛋白, 与F-actin一起在保卫细胞母细胞和副卫细胞母细胞接触的地方富集, 并诱导副卫细胞母细胞发生偏向保卫细胞母细胞的极化, 进而不对称分裂, 形成副卫细胞。但是*pan1/2*中大部分副卫细胞是正常的, 说明*PAN1/2*并不是调控保卫细胞母细胞极化的唯一受体, 可能还有其它并行或协同信号通路共同促进副卫细胞母细胞的极化和不对称分裂(Cartwright et al., 2009)。

*brk*和*pan1*中副卫细胞缺陷表型类似, 与*brk1/pan1*双突变体表型类似, 揭示PANs和BRK协同促进副卫细胞母细胞的不对称分裂(Facette et al., 2015)。Humphries等(2011)发现, ROP2/9 (Rho family GTPases, ROPs)能与PAN1互作, 诱导副卫细胞母细胞的极化。ROPs在植物细胞极性分裂和细胞生长过程中发挥作用, 且ROPs蛋白在类受体蛋白的空间定位中也发挥作用。研究表明, 虽然PAN2和PAN1都在保卫细胞母细胞与副卫细胞母细胞接触的地方富集。但PAN2在PAN1极化之前发生极化, PAN2是PAN1发生极化的必需因子, 处于PAN1的下游, 但其自身的极化又不依赖于PAN1。因此, PAN2

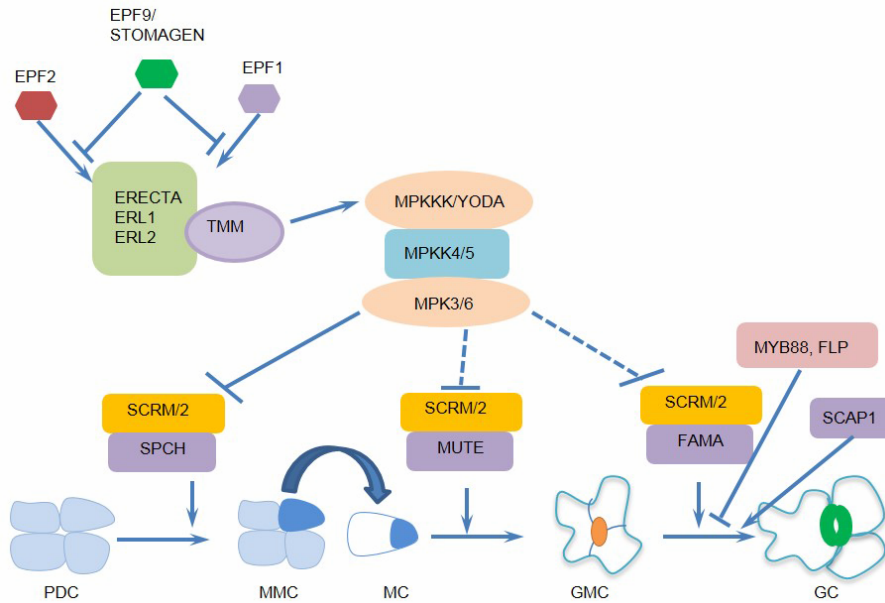


图1 双子叶植物拟南芥气孔发育过程(改编自Pillitteri and Torii, 2012)

气孔发育早期, 表皮原细胞(PDC)在SPCH和SCR2/2的调控下, 经过1次不对称分裂形成拟分生组织母细胞(MMC) (蓝色), 拟分生组织母细胞通过自我更新和分化形成拟分生组织细胞(MC); MUTE和SCR2/2调控拟分生组织细胞形成保卫细胞母细胞(GMC) (橙色); 最后, 保卫细胞母细胞经对称分裂形成成熟的保卫细胞(GC) (绿色)。图中箭头表示信号传递路径或促进作用, ⊥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。

Figure 1 Diagram of stomatal development process in dicotyledonous plant *Arabidopsis* (modified from Pillitteri and Torii, 2012) At early stage of stomata development, regulated by SPCH and SCR2/2, the protodermal cells (PDC) undergoes a transition to become a meristemoid mother cell (MMC) (blue), MMC can self-renewal and differentiate to meristemoid cell (MC). With MUTE and SCR2/2, MC differentiates to guard mother cell (GMC) (orange). At the end, GMC undergoes one symmetric division to form guard cell (GC) (green). Arrows indicate signal pathway or positive, ⊥ indicates negative; full lines represent confirmed genetic relationship, imaginary lines represent the genetic relationship need to be confirmed.

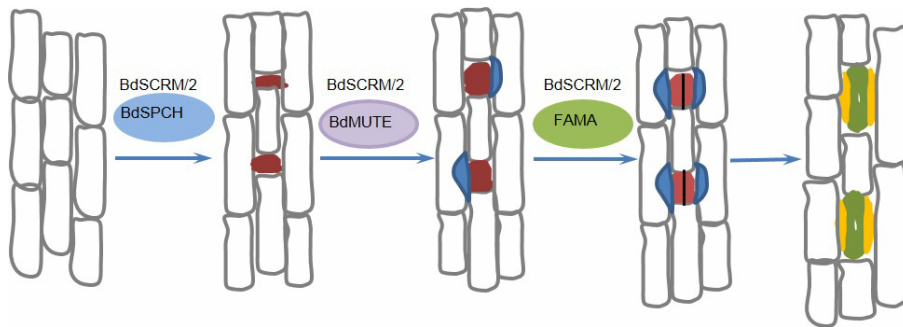


图2 单子叶植物二穗短柄草气孔发育过程(Liu et al., 2009; Raissig et al., 2016, 2017)

气孔发育早期, 表皮原细胞在BdSPCH和BdSCR2/2的调控下, 经过不对称分裂形成保卫细胞母细胞(红色); BdMUTE和BdSCR2/2调控副卫细胞母细胞的形成和不对称分裂形成副卫细胞(蓝色); 在FAMA和BdSCR2/2的调控下, 保卫细胞母细胞(红色)对称分裂形成2个保卫细胞(绿色), 最后形成功能成熟的气孔复合体, 包括2个保卫细胞(绿色)和2个副卫细胞(黄色)。

Figure 2 Diagram of stomatal development process in monocotyledons (*Brachypodium distachyum*) (Liu et al., 2009; Raissig et al., 2016, 2017)

At early stage of stomata development, regulated by BdSPCH and BdSCR2/2, the protodermal cells undergoes a asymmetric division to become guard mother cells (red); With BdMUTE and BdSCR2/2, subsidiary mother cell formed and differentiates to subsidiary cell (blue). At the end, guard mother cell (red) undergoes one symmetric division to form guard cell (green) regulated by FAMA and BdSCR2/2. Mature stomata complex includes two guard cells (green) and two subsidiary cells (yellow).

是副卫细胞母细胞极性过程中最早发生极性的因子,可能参与感知和放大来自保卫细胞母细胞的极性信号(Zhang et al., 2012)。虽然PAN1和PAN2可以调控副卫细胞母细胞的极化,但保卫细胞母细胞和副卫细胞母细胞的发育机制还不完全清楚。

经过全基因组比对分析,发现玉米和水稻(*Oryza sativa*)中也存在与拟南芥中SPCH、MUTE和FAMA同源的基因。玉米和水稻中与拟南芥中MUTE和FAMA同源的基因均仅有1个,而与SPCH同源的基因都是2个。OsFAMA (Os05g50900)与拟南芥FAMA相似性最高,调控水稻保卫细胞母细胞对称分裂形成保卫细胞。OsFAMA-1与fama表型类似,35S::OsFAMA同样使拟南芥叶片表面布满气孔且呈不成对分布。水稻中与SPCH同源的基因有2个,即OsSPCH1和OsSPCH2 (Liu et al., 2009)。在拟南芥中过量表达SPCH导致表皮细胞分裂增加(MacAlister et al., 2007),但在拟南芥中过量表达OsSPCH1却没有表型差异。过量表达OsSPCH2能促使细胞分裂次数增加,对应的水稻spch2气孔形成正常,只是密度有所降低。OsSPCH在水稻气孔发育早期有一定作用,但与拟南芥SPCH功能差异较大(Liu et al., 2009)。OsMUTE和ZmMUTE都能回补拟南芥mute的表型,且在拟南芥中过量表达OsMUTE和ZmMUTE与过量表达拟南芥MUTE的表型一致:诱导更多表皮细胞发育成气孔,使叶表皮布满气孔。拟南芥中SPCH和MUTE可起始具有干细胞活性的拟分生组织的发生,且能终止拟分生组织的干细胞活性,发育成保卫细胞。而在水稻和玉米中缺乏拟分生组织细胞,OsMUTE和ZmMUTE可能是拟南芥SPCH和MUTE二者功能的混合体(Liu et al., 2009)。虽然通过与拟南芥气孔发育信号通路进行对比,我们对单子叶植物气孔发育过程已有一定了解,但具体的信号通路仍不清楚。经过比对发现单子叶植物与拟南芥中气孔发育同源的基因,再利用CRISPR-Cas9技术创制出更多的气孔相关突变体,将有助于气孔发育研究。

2 气孔形成过程中的不对称分裂

细胞极性(cell polarity)指细胞、组织或个体所表现出的某些胞质成分沿着一个方向,按一定空间顺序不均等分布,从而形成各种细胞内容物的浓度梯度,相对

两端具有某些不同的形态或者生理特征的现象。在细胞发育过程中多伴随细胞不对称分裂,是一种基本的细胞特性,与个体发育紧密相连。极性形成来自极性信号,该信号调控信号分子的极性分布,引导极性建成,并且通过细胞骨架和囊泡运输来维持极化。在植物中,细胞极性是植物生长发育和叶片在各个时期形态建成的基础(Abrash and Bergmann, 2009)。

气孔发育过程与细胞的不对称分裂(asymmetric cell division, ACD)密不可分。拟分生组织母细胞不对称分裂之后会形成1个小的拟分生组织细胞和1个大的气孔世系基础细胞。终止不对称分裂蛋白BASL (breaking of asymmetry in the stomatal lineage)的定位决定细胞的命运。BASL定位在拟分生组织细胞的细胞核中,该细胞随后会发育成保卫细胞母细胞;如果BASL定位在细胞核和细胞周边,这个细胞会通过增殖分裂形成其它拟分生组织母细胞或拟分生组织细胞(Dong et al., 2009)。另外一个极性定位蛋白POLAR (polar localization during asymmetric division and redistribution)也参与拟分生组织母细胞的不对称分裂过程,但POLAR的功能需要BASL的参与(Pillitteri et al., 2011)。最新研究证明, BASL的皮层定位需要MAPK3/6的磷酸化,磷酸化的BASL作为支点招募MAPKKK YDA和MAPK3/6在皮层空间中富集信息,磷酸化的BASL加强正反馈。BASL增强了YDA MAPKKK的活性,导致MAPK3/6活性增加,使MAPK3/6抑制SPCH活性甚至降解SPCH,进一步使气孔世系基础细胞终止气孔命运,发育成表皮细胞。相反,如果气孔细胞系细胞没有BASL定位,则YDA-MAPK3/6活性低,不能抑制和降解SPCH,而高活性的SPCH可促使气孔前体细胞继续分化发育,最终形成气孔(Zhang et al., 2015)。

玉米中, PAN1和PAN2定位在副卫细胞母细胞中,并且在保卫细胞母细胞和副卫细胞母细胞接触的地方富集,诱导副卫细胞母细胞发生偏向保卫细胞母细胞的极化,从而导致副卫细胞母细胞不对称分裂,形成副卫细胞(Cartwright et al., 2009)。不仅PAN1和PAN2参与调控副卫细胞母细胞的极化, BRK1/3和ROP2/9也参与调控副卫细胞母细胞的极化。BRK3编码的蛋白是SCAR/WAVE调控复合体(WRC)的一个成员,与PANs协同作用促进副卫细胞母细胞的不对称分裂(Facette et al., 2015)。ROP2/9

(Rho family GTPases, ROPs)定位在与保卫细胞母细胞接触的副卫细胞母细胞中,其定位需要PAN1,但PAN1的定位不需要ROP2/9的极性定位。因此,在副卫细胞母细胞的极性化过程中,ROP2/9依赖BRKs和PANs调控副卫细胞母细胞的极性化(Humphries et al., 2011)。副卫细胞母细胞的极性化过程不是由某一个蛋白单独行使功能的结果,而是众多蛋白组成复合体共同调控的结果。

极性化是植物细胞分化的基础。气孔从表皮原细胞开始,双子叶植物中拟分生组织母细胞和保卫细胞母细胞的形成,以及单子叶植物中副卫细胞的形成都离不开细胞的极性化。气孔形态特征明显,易于与表皮细胞区分,且大小适中,形态变化显著,已经成为研究极性化的一个完美系统。

3 环境因素和植物激素调控气孔发育

气孔的密度和分布维持着植物体与外界环境之间水分和气体的动态平衡,因此气孔的密度和分布也受到环境因素的调控。植物由于所处环境的不同其气孔密度和分布也有较大的差异。研究表明,光、CO₂浓度、温度和湿度等都会影响气孔的密度与分布。

3.1 环境因素对气孔发育的影响

光在气孔发育过程中发挥重要作用。暗生长的植物与光下生长的植物相比,气孔明显减少;光密度较高条件下生长的植物气孔密度(气孔细胞占全部表皮细胞的比例)明显较大(Lake et al., 2001; Casson et al., 2009)。气孔的开放和关闭不仅受到K⁺积累的控制,也受到光、光敏色素和隐花色素的调节(Kinoshita et al., 2001; Mao et al., 2005)。蓝光受体(cryptochrome, CRY)双突变体 $cry1/cry2$ 气孔张开,对蓝光的敏感性降低,而CRY1-OVX则对蓝光敏感,CRY参与蓝光介导的气孔开放(Mao et al., 2005)。蓝光下, $cry1/cry2$ 双突变体气孔密度降低,而CRY1和CRY2过表达植株子叶上产生比野生型更多的气孔且气孔成簇分布,在红光和远红光条件下则没有区别,说明了CRY作为蓝光受体参与调控气孔的发育(Kang et al., 2009)。Casson等(2009)发现光敏色素(phytochrome)家族5个成员(phyA-phyE)中,只有phyB的突变体 $phyB$ 在高强度光照下气孔减少。通过观察,发

现 $phyB$ 翻译后发生从细胞质到细胞核的移动。PIF4(phytochrome-interacting factor 4)定位在细胞核中,是bHLH转录因子,与 $phyB$ 结合介导光信号对气孔发育的调控。在高光照条件下, $phyB/pif4$ 双突变体与 $phyB$ 气孔指数没有差异,且都低于 $pif4$ 和野生型。这些结果表明, $phyB$ 可能通过PIF4依赖途径调控气孔发育:PIF4能与SPCH、MUTE和FAMA结合,而 $phyB$ 与PIF4结合维持这个复合体的稳定性(Casson et al., 2009)。Boccalandro等(2009)证明 $phyB$ 可直接诱导FAMA的表达量增高,而非依赖PIF4,通过抑制TMM的表达来控制气孔的发育。

COP1 (constitutive photomorphogenesis 1)是包含RING结构域的E3泛素连接酶。 $cop1$ 在光下和暗中都表现出气孔成簇的表型,与 yda 气孔表型类似,是气孔发育的负调节因子(Kang et al., 2009)。通过分析TMM和YDA的遗传关系,发现气孔发育通路中光信号模型:CRY、 $phyA$ 和 $phyB$ 负调控COP1,而COP1负调控YDA。YDA-MAPK信号通路负调控SPCH,导致在不同光照条件下气孔的发育发生变化。因此,光调控气孔发育的机制是通过CRY-PHY-COP1信号系统和MAPKKK激酶磷酸途径实现(Kang et al., 2009)。

CO₂浓度在调控植物气孔张开和发育过程中都起重要作用。Lake等(2001)证明高浓度CO₂能降低气孔密度,成熟叶片能够感受高浓度CO₂,并将信号传递到幼小的叶片中,降低新叶片中的气孔密度,这也是植物体中长距离发育信号传递的例证。HIC (high carbon dioxide)是首个被报道的植物受外界大气组分变化影响发育的基因,编码3-酮基脂酰辅酶A(3-ketoacyl coenzyme A (CoA))。在正常浓度的CO₂下, hic 叶片上气孔密度和系数低于野生型;但在较高浓度的CO₂下, hic 发育形成的气孔密度和气孔系数明显多于野生型。在 hic 中,可能由于潜在的KCS组分受到损伤影响保卫细胞表面的细胞外基质组成,当外界CO₂浓度变化时,应对这种变化的信号转导途径发生紊乱,导致气孔发育出现异常(Gray et al., 2000)。

β -碳酸酐酶(β -CA)能与CO₂结合催化由CO₂到HCO₃⁻和H⁺的转变,并且调控气孔的运动和发育。 β CA2和 β CA4在保卫细胞中表达可能对于调控气孔密度具有重要作用。保卫细胞中产生特异碳酸盐,在植物对CO₂作出反应时,在改变气孔密度的长距离信号转导中起着关键作用(Hu et al., 2010)。RNA-Seq

分析表明,气孔发育负调控因子EPF2在野生型中的表达量高于*ca1/ca4*双突变体。利用细胞壁转录组学和CO₂依赖的转录组学分析发现了1个新的CO₂诱导的细胞外蛋白酶CRSP (CO₂ response secreted protease)。CRSP通过裂解EPF2而激活EPF2,从而传递抑制气孔发育的信号,进而抑制气孔发育(Enginier et al., 2014)。

温度和湿度也会对气孔发育产生影响,但具体机制还不完全清楚(Casson and Gray, 2008; Lake and Woodward, 2008)。ICE1是冷胁迫诱导和冻害抗性中重要的调节因子。冷胁迫诱导的转录后修饰主要是通过ICE1/SCRM激活*CBF3/DREB1A*的转录活性实现。冷胁迫下,ICE1的稳定性通过泛素化蛋白HOS1和SIZ1翻译后修饰来维持(Dong et al., 2006; Miura et al., 2007)。*ice1-D*功能获得性突变体对冷敏感(Chinnusamy et al., 2003),这也说明ICE1/SCRM的核心元件KRAAM的分子损伤可促使分子分化和冷适应。上调ICE1/SCRM的表达量可促进植物的发育和提高对冷环境的适应性。

在低湿度(RH45%)条件下,拟南芥野生型在CO₂浓度加倍环境中,其气孔密度降低13%;而在高湿度(RH65%)环境中,气孔密度对CO₂富集响应更加明显,降低32%。植株的蒸腾速率及叶片中ABA含量在湿度和CO₂浓度都会改变的环境中都会对气孔密度产生影响。但是气孔密度与其它负调控因子(如环境敏感的MAPKs以及其它中介物质)之间的互作仍不清楚,可能与ABA或者ABA-GE (abscisic acid glucose ester)有关(Lake and Woodward, 2008)。

3.2 植物激素对气孔发育的影响

激素是植物生长发育不可或缺的调节因子,在植物体内有完善且复杂的信号调控网络,参与植物生长。气孔的发育也受到各类激素的调控。Kim等(2012)发现油菜素内酯(brassinosteroid, BR)缺陷突变体中气孔均成簇分布,密度增加,而外源施加BR则导致气孔密度降低。因此,BR负调控气孔的发育。Gudesblat等(2012)发现,BR促进拟南芥下胚轴中气孔的发育。*cpd* (constitutive photomorphogenesis and dwarfism)、*bri1-116* (brassinosteroid insensitive 1)、*bin2-1* (brassinosteroid insensitive 2)中和BRZ (BR

biosynthesis inhibitor brassinazole)处理均导致下胚轴气孔密度降低;相反,过表达*BRI1*和向野生型外源施加BR活性物质BL (brassinolide)都使得下胚轴气孔密度增加。*BIN2*可磷酸化SPCH,并调节SPCH的活性。*BIN2*也能与YDA互作并磷酸化YDA。当BR含量低时,*BIN2*活性增高,抑制YDA活性,导致下游MAPK活性降低,SPCH活性增强,形成更多气孔。而BR通过*BRI1*、*BSK1*和*BSU1*抑制GSK类激酶活性,使下游MAPK活性增高,进而抑制气孔发育(Kim et al., 2012)。

脱落酸(abscisic acid, ABA)缺陷突变体*aba2-2*子叶变小,能持续形成拟分生组织细胞和保卫细胞母细胞,气孔数目增加,表皮细胞扩增变小。在ABA过度积累的*cyp707a1/cyp707a3*双突变体或者外源施加ABA使气孔细胞数目变少,并且导致表皮细胞扩增加大。这表明ABA作为激素不仅诱导气孔的关闭而且抑制气孔的发育(Tanaka et al., 2013)。除了BR和ABA被发现参与调控气孔发育,Le等(2014)发现生长素也调控气孔发育。他们用荧光蛋白标记DII-VENUS和DR5:VENUS并跟踪监测气孔发育过程中的生长素水平,结果表明,随着气孔系细胞从拟分生组织细胞不对称分裂形成保卫细胞母细胞到最后对称分裂形成成熟保卫细胞,细胞中生长素水平逐渐降低。相关突变体和生长素抑制剂处理证明,破坏生长素的运输路径会导致植株气孔成簇分布。在植物生长发育过程中,生长素能与F-box蛋白TIR1结合降解Aux/IAA (AUXIN/indole-3-acetic acid)的转录抑制因子,调控植物发育(Calderón et al., 2012)。而在叶肉细胞中,生长素与TIR1/AFB结合,释放出MONOPTEROS/ARF5 (auxin response factors, ARFs)。MONOPTEROS/ARF5直接与STOMAGEN启动子特异位点结合抑制其表达,进而抑制气孔发育(Zhang et al., 2014)。商业绯等(2017)的论述表明,生长素通过载体蛋白TIR1/AFB及受体AUXIN/IAA-ARFs信号通路来调控STOMAGEN的表达,再经STOMAGEN-类LRR受体蛋白激酶ERF-MAPKs级联反应激活SPCH转录因子的信号通路,启动气孔发育的进程。由此可见,植物激素对气孔发育的调控是通过激素的代谢途径与气孔发育调控信号网络相互交叉来实现。随着对激素研究的深入,人们对激素调控气孔发育过程将有更

深刻的理解。

4 研究展望

气孔是在植物从水生进化到陆生的过程中产生的, 是陆生植物与外界环境之间水分和气体交换的门户。植物的生长环境对气孔发育产生巨大的影响, 如气孔的结构形态、密度和分布等都受到环境因素的影响。气孔发育过程涉及信号转导、细胞极性、不对称分裂以及植物激素等重要调控过程, 因此气孔发育调控机制一直是植物发育生物学的研究热点。近些年, 气孔发育研究取得了重要进展, 但仍然有很多未解之谜需要阐明。

拟南芥气孔发育过程中bHLH类转录因子调控气孔前体细胞的命运转换。SPCH起始气孔前体细胞的发生, 其调控的下游基因有8 000多个, 占拟南芥全部基因的1/3, 包括气孔调节基因MUTE、BASL、TMM、ERL2和EPF2等, 也包括BR信号通路基因BIN2、BZR1、BEHs和BIM2等(Lau et al., 2014)。SPCH调控的基因包括起始气孔系细胞、控制前体细胞发育方向及与环境因子互作控制气孔数目的基因等, 但具体作用机制需要进一步研究(Simmons and Bergmann, 2016)。另外2个bHLH类转录因子MUTE和FAMA分别调控保卫细胞母细胞的形成及对称分裂, 其调控机制和下游基因仍待阐明。

单子叶植物和双子叶植物在气孔复合体组成与发育机制方面都有很大差别, 但通过同源基因比对发现, 玉米、水稻和二穗短柄草也存在SPCH、MUTE和FAMA的同源基因, 除了FAMA功能保守外, 其余2个基因功能差异较大, 但其具体功能还不清楚。利用CRISPR-Cas9基因编辑将单子叶植物中同源基因进行编辑, 创制相关突变体, 将为我们提供研究单子叶植物气孔发育的新思路。

气孔是植物适应陆地环境过程中产生的特化器官, 其发育过程受到各种环境因素的影响, 但环境条件难以控制, 因此给研究带来很大困难。而有关光和CO₂对气孔发育的调控已经有所突破, 更详细的调控机制有望完全揭开。其它环境因子, 如干旱和温度等对气孔发育的调控机制仍不清楚。激素是植物内在的调节因子, 其也是通过参与气孔发育信号通路来行使调节功能。

参考文献

- 商业绯, 李明, 丁博, 牛浩, 杨振宁, 陈小强, 曹高毅, 谢晓东 (2017). 生长素调控植物气孔发育的研究进展. 植物学报 52, 235–240.
- Abrash EB, Bergmann DC (2009). Asymmetric cell divisions: a view from plant development. *Dev Cell* 16, 783–796.
- Abrash EB, Bergmann DC (2010). Regional specification of stomatal production by the putative ligand CHALLAH. *Development* 137, 447–455.
- Berger D, Altmann T (2000). A subtilisin-like serine protease involved in the regulation of stomatal density and distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev* 14, 1119–1131.
- Bergmann DC, Lukowitz W, Somerville CR (2004). Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase. *Science* 304, 1494–1497.
- Boccalandro HE, Rognone ML, Moreno JE, Ploschuk EL, Serna L, Yanovsky MJ, Casal JJ (2009). Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water-use efficiency in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 150, 1083–1092.
- Calderón Villalobos LI, 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 (2012). A combinatorial TIR1/AFB-Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin. *Nat Chem Biol* 8, 477–485.
- Cartwright HN, Humphries JA, Smith LG (2009). PAN1: a receptor-like protein that promotes polarization of an asymmetric cell division in maize. *Science* 323, 649–651.
- Casson S, Gray JE (2008). Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytol* 178, 9–23.
- Casson SA, Franklin KA, Gray JE, Grierson CS, Whitelam GC, Hetherington AM (2009). Phytochrome B and PIF4 regulate stomatal development in response to light quantity. *Curr Biol* 19, 229–234.
- Chen ZH, Chen G, Dai F, Wang YZ, Hills A, Ruan YL, Zhang GP, Franks PJ, Nevo E, Blatt MR (2017). Molecular evolution of grass stomata. *Trends Plant Sci* 22, 124–139.
- Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, Lee BH, Hong XH, Agarwal M, Zhu JK (2003). ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Genes Dev* 17, 1043–1354.
- Dong CH, Agarwal M, Zhang YY, Xie Q, Zhu JK (2006). The negative regulator of plant cold responses, HOS1, is a RING E3 ligase that mediates the ubiquitination and degradation of ICE1. *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 8281–

- 8286.
- Dong J, MacAlister CA, Bergmann DC** (2009). BASL controls asymmetric cell division in Arabidopsis. *Cell* **137**, 1320–1330.
- Engineer CB, Ghassemian M, Anderson JC, Peck SC, Hu HH, Schroeder JI** (2014). Carbonic anhydrases, EPF2 and a novel protease mediate CO₂ control of stomatal development. *Nature* **513**, 246–250.
- Facette MR, Park Y, Sutimantanapi D, Luo AD, Cartwright HN, Yang B, Bennett EJ, Sylvester AW, Smith LG** (2015). The SCAR/WAVE complex polarizes PAN receptors and promotes division asymmetry in maize. *Nat Plants* **1**, 14024.
- 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**, 2075–2086.
- Gray JE, Holroyd GH, van der Lee FM, Bahrami AR, Sijmons PC, Woodward FI, Schuch W, Hetherington AM** (2000). The HIC signaling pathway links CO₂ perception to stomatal development. *Nature* **408**, 713–716.
- Gudesblat GE, Schneider-Pizoń J, Betti C, Mayerhofer J, Vanhoutte I, van Dongen W, Boeren S, Zhiponova M, de Vries S, Jonak C, Russinova E** (2012). SPEECHLESS integrates brassinosteroid and stomata signaling pathways. *Nat Cell Biol* **14**, 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. *Genes Dev* **21**, 1720–1725.
- Ho CMK, Paciorek T, Abrash E, Bergmann DC** (2016). Modulators of stomatal lineage signal transduction alter membrane contact sites and reveal specialization among ERECTA kinases. *Dev Cell* **38**, 345–357.
- Hu HH, Boisson-Dernier A, Israelsson-Nordström M, Böhmer M, Xue SW, Ries A, Godoski J, Kuhn JM, Schroeder JI** (2010). Carbonic anhydrases are upstream regulators of CO₂-controlled stomatal movements in guard cells. *Nat Cell Biol* **12**, 87–93.
- Humphries JA, Vejlupkova Z, Luo AD, Meeley RB, Sylvester AW, Fowler JE, Smith LG** (2011). ROP GTPases act with the receptor-like protein PAN1 to polarize asymmetric cell division in maize. *Plant Cell* **23**, 2273–2284.
- Hunt L, Gray JE** (2009). The signaling peptide EPF2 controls asymmetric cell divisions during stomatal development. *Curr Biol* **19**, 864–869.
- Jones S** (2004). An overview of the basic helix-loop-helix proteins. *Genome Biol* **5**, 226.
- Kanaoka MM, Pillitteri LJ, Fujii H, Yoshida Y, Bogenschutz NL, Takabayashi J, Zhu JK, Torii KU** (2008). SCREAM1 and SCREAM2 specify three cell-state transitional steps leading to Arabidopsis stomatal differentiation. *Plant Cell* **20**, 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**, 2624–2641.
- Kim TW, Michniewicz M, Bergmann DC, Wang ZY** (2012). Brassinosteroid regulates stomatal development by GSK3-mediated inhibition of a MAPK pathway. *Nature* **482**, 419–422.
- Kinoshita T, Doi M, Suetsugu N, Kagawa T, Wada M, Shimazaki KI** (2001). Phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening. *Nature* **414**, 656–660.
- Lai LB, Nadeau JA, Lucas J, Lee EK, Nakagawa T, Zhao LM, Geisler M, Sack FD** (2005). The Arabidopsis R2R3 MYB proteins FOUR LIPS and MYB88 restrict divisions late in the stomatal cell lineage. *Plant Cell* **17**, 2754–2767.
- Lake JA, Quick WP, Beerling DJ, Woodward FI** (2001). Plant development: signals from mature to new leaves. *Nature* **411**, 154.
- Lake JA, Woodward FI** (2008). Response of stomatal numbers to CO₂ and humidity: control by transpiration rate and abscisic acid. *New Phytol* **179**, 397–404.
- Lampard GR, MacAlister CA, Bergmann DC** (2008). Arabidopsis stomatal initiation is controlled by MAPK-mediated regulation of the bHLH SPEECHLESS. *Science* **322**, 1113–1116.
- 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** (2014). Auxin transport and activity regulate stomatal patterning and development. *Nat Commun* **5**, 3090.
- 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**, 439–443.
- Liu T, Ohashi-Ito K, Bergmann DC** (2009). Orthologs of *Arabidopsis thaliana* stomatal bHLH genes and regulation of stomatal development in grasses. *Development* **136**, 2265–2276.
- MacAlister CA, Ohashi-Ito K, Bergmann DC** (2007). Transcription factor control of asymmetric cell divisions that establish the stomatal lineage. *Nature* **445**, 537–540.

- Mao J, Zhang YC, Sang Y, Li QH, Yang HQ** (2005). A role for Arabidopsis cryptochromes and COP1 in the regulation of stomatal opening. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**, 12270–12275.
- Miura K, Jin JB, Lee J, Yoo CY, Stirm V, Miura T, Ashworth EN, Bressan RA, Yun DJ, Hasegawa PM** (2007). SIZ1-mediated sumoylation of ICE1 controls *CBF3/DRE-B1A* expression and freezing tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* **19**, 1403–1414.
- Nadeau JA, Sack FD** (2002). Control of stomatal distribution on the Arabidopsis leaf surface. *Science* **296**, 1697–1700.
- Negi J, Moriwaki K, Konishi M, Yokoyama R, Nakano T, Kusumi K, Hashimoto-Sugimoto M, Schroeder JI, Nishitani K, Yanagisawa S, Iba K** (2013). A Dof transcription factor, SCAP1, is essential for the development of functional stomata in Arabidopsis. *Curr Biol* **23**, 479–484.
- Ohashi-Ito K, Bergmann DC** (2006). Arabidopsis FAMA controls the final proliferation/differentiation switch during stomatal development. *Plant Cell* **18**, 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**, 3260–3275.
- Pillitteri LJ, Sloan DB, Bogenschutz NL, Torii KU** (2007). Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata. *Nature* **445**, 501–505.
- Pillitteri LJ, Torii KU** (2012). Mechanisms of stomatal development. *Annu Rev Plant Biol* **63**, 591–614.
- Raissig MT, Abrash E, Bettadapur A, Vogel JP, Bergmann DC** (2016). Grasses use an alternatively wired bHLH transcription factor network to establish stomatal identity. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**, 8326–8331.
- Raissig MT, Matos JL, Gil MXA, Kornfeld A, Bettadapur A, Abrash E, Allison HR, Badgley G, Vogel JP, Berry JA, Bergmann DC** (2017). Mobile MUTE specifies subsidiary cells to build physiologically improved grass stomata. *Science* **355**, 1215–1218.
- Rudall PJ, Hilton J, Bateman RM** (2013). Several developmental and morphogenetic factors govern the evolution of stomatal patterning in land plants. *New Phytol* **200**, 598–614.
- Shpak ED, McAbee JM, Pillitteri LJ, Torii KU** (2005). Stomatal patterning and differentiation by synergistic interactions of receptor kinases. *Science* **309**, 290–293.
- Simmons AR, Bergmann DC** (2016). Transcriptional control of cell fate in the stomatal lineage. *Curr Opin Plant Biol* **29**, 1–8.
- 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**, 241–244.
- Tanaka Y, Nose T, Jikumaru Y, Kamiya Y** (2013). ABA inhibits entry into stomatal-lineage development in Arabidopsis leaves. *Plant J* **74**, 448–457.
- Vatén A, Bergmann DC** (2012). Mechanisms of stomatal development: an evolutionary view. *Evo Devo* **3**, 11.
- von Groll U, Berger D, Altmann T** (2002). The subtilisin-like serine protease SDD1 mediates cell-to-cell signaling during Arabidopsis stomatal development. *Plant Cell* **14**, 1527–1539.
- Wang HC, Ngwenyama N, Liu YD, Walker JC, Zhang SQ** (2007). Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in Arabidopsis. *Plant Cell* **19**, 63–73.
- 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**, E3015–E3023.
- Zhang XG, Facette M, Humphries JA, Shen ZX, Park Y, Sutimantanapi D, Sylvester AW, Briggs SP, Smith LG** (2012). Identification of PAN2 by quantitative proteomics as a leucine-rich repeat-receptor-like kinase acting upstream of PAN1 to polarize cell division in maize. *Plant Cell* **24**, 4577–4589.
- 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**, 136–149.

Research Progress in Stomatal Development Mechanism

Hongliang Wang, Siyi Guo, Pengtao Wang, Chunpeng Song*

State Key Laboratory of Cotton Biology, Key Laboratory of Plant Stress Biology, School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475004, China

Abstract The stomata is a micropore distributed in the epidermis of plants and used for gas exchange and water loss between plants and the atmosphere. After decades of research on stomatal development, many important regulators for stomatal development have been discovered. Monocot and dicot plants differ greatly in stomatal complex structure, origination and distribution. In this review, we summarize the molecular regulators, cell polarity, environment factors and plant hormones related with stomatal development; the research progress in stomatal development in *Zea mays*, *Brachypodium distachyum* and *Oryza sativa*; and outlooks for the future research.

Key words stomatal development, cell polarity, environmental factors, plant hormones

Wang HL, Guo SY, Wang PT, Song CP (2018). Research progress in stomatal development mechanism. *Chin Bull Bot* **53**, 164–174.

* Author for correspondence. E-mail: songcp@henu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)